



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS
UAEM

Efecto ansiolítico y antidepresivo de cumarinas aisladas de *Tagetes lucida*

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

TADEO QUETZAL LEZAMA ZAVALA

CODIRECTORAS DE TESIS:

DRA. MONTERROSAS BRISSON NAYELI

DRA. HERRERA RUIZ MARIBEL LUCILA

ÍNDICE

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS	1
ÍNDICE DE CUADROS, IMÁGENES Y FIGURAS.	4
1.- INTRODUCCIÓN.....	5
2.- ANTECEDENTES.....	6
2.1.- Trastornos de depresión (TD)	6
2.1.1.- Síntomas.....	7
2.1.2.- Causas.....	8
2.1.3.- Diagnóstico.	8
2.1.4.- Fisiopatología.	9
2.1.5.- Tratamientos.	10
CUADRO 1. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de la depresión	12
2.2.- Trastornos de ansiedad (TA)	13
2.2.1.- Síntomas.....	13
2.2.2.- Causas.....	14
2.2.3.- Diagnóstico.....	14
2.2.4.- Fisiopatología.....	15
2.2.5.- Tratamiento	15
2.2.6.- Tratamiento farmacológico	16
2.2.4.- Plantas medicinales con potencial actividad ansiolítica	16
CUADRO 2. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de la ansiedad	17
2.3.- <i>Tagetes lucida Cav.</i>	18
2.3.1.- Clasificación Taxonomía.....	18
2.3.1 Descripción botánica y distribución	18
2.4.- Cumarinas	19
2.4.1.- Actividades biológicas de las cumarinas.....	20
2.4.2- Biosíntesis de las cumarinas.....	21
2.5- Modelos animales	22
2.5.1.- Campo abierto (CA).....	22
2.5.2.- Natación forzada (NF).	22
2.5.3.- Laberinto elevado en cruz	23
3.- JUSTIFICACIÓN.....	23
4.- HIPÓTESIS.....	24
5.- OBJETIVO GENERAL.....	24

5.1.- Objetivos particulares:	25
6.- MATERIALES Y MÉTODOS	25
6.1.- Obtención de las cumarinas.	25
6.2.- Ensayos farmacológicos:	25
6.2.1.- Animales de experimentación	26
6.2.2.- Diseño experimental para todos los ensayos.....	26
6.2.3.- Natación forzada (NF)	27
6.2.4.- Campo abierto (CA).....	27
6.2.5.- Laberinto elevado en cruz (LEC).....	28
6.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
7.- RESULTADOS	29
7.1 Depresión	29
7.1.1 Efecto de cumarinas aisladas de <i>T. lucida</i> sobre la prueba de Natación forzada.....	29
7.2.- Ansiedad	30
7.2.1.- Efecto de cumarinas aisladas de <i>T. lucida</i> sobre la prueba de LEC	30
7.2.2 Efecto de cumarinas aisladas de <i>T. lucida</i> sobre la prueba de CA.....	31
7.2.2 Efecto de cumarinas aisladas de <i>T. lucida</i> sobre la prueba de CA.....	32
8.-DISCUSIÓN	34
10.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	38

ÍNDICE DE CUADROS, IMÁGENES Y FIGURAS.

- CUADRO 1. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de la depresión.....12
- CUADRO 2. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de la ansiedad.....17
- IMAGEN 1. *Tagetes lucida* foto tomada por Tadeo Lezama.....19
- IMAGEN 2. Modelo conductual Laberinto elevado en cruz. foto tomada por Tadeo Lezama, CIBIS XOCHITEPEC.....28
- IMAGEN 3. Modelo conductual Campo abierto. foto tomada por Tadeo Lezama, CIBIS XOCHITEPEC.....29

NF

- FIGURA 1. Tiempo de inmovilidad.....30

LEC

- FIGURA 2.-Numerode cruces de BA.....31
- FIGURA 3.- Tiempo de BA.....32

CA

- FIGURA 4.- Elevaciones verticales.....33
- FIGURA 5.- Cruces totales.....34

1.- INTRODUCCIÓN

Los trastornos mentales son alteraciones neurofisiológicas que resultan de una combinación de modificaciones del pensamiento, emociones, percepción, conducta y relación social que pueden llevar a los pacientes a presentar altos índices de discapacidad, convirtiéndolos en un problema de salud pública. Dentro de estos trastornos, se encuentran aquellos de índole psiquiátrico, como la ansiedad (TA) y la depresión (TD) que son los de mayor prevalencia en el mundo. Los TA, se caracterizan por la presencia de miedo irracional ante eventos incluso inexistentes, el miedo junto con otros síntomas interfiere con las actividades diarias, como el desempeño en el trabajo, la escuela y las relaciones entre personas. Los TD, se caracterizan por sentimientos de tristeza, pérdida de la autoestima e irritabilidad, interfiriendo con la vida diaria e incluso lleva a los individuos a atentar contra su vida.

De esta manera el tratamiento para ambos trastornos incluye la psicoterapia y tratamientos farmacológicos basados en la inhibición no selectiva de la recaptación de la serotonina y noradrenalina (IRSN), los antidepresivos tricíclicos, que inhiben la recaptación de norepinefrina, serotonina y en menor medida, la dopamina al bloquear

receptores colinérgicos muscarínicos, receptores histamínicos H1 y receptores alfa 1 adrenérgicos. Las benzodiacepinas (BZD) son de amplia prescripción por sus efectos ansiolíticos, hipnóticos, anticonvulsivantes y miorelajantes

Si bien dichos fármacos son útiles en el tratamiento de los TA y TD, pueden producir efectos adversos como son la hepatotoxicidad, dependencia, adicción, náuseas, entre otros y eso deteriora la calidad de vida del paciente. En la actualidad, la constante búsqueda de mejores tratamientos farmacológicos para estas enfermedades se basa en buena medida en la investigación de plantas medicinales.

En México, la especie *Tagetes lucida* (Asteracea), conocida como “pericón” y distribuida ampliamente en el estado de Morelos, es utilizada para el tratamiento de trastornos nerviosos, dolor de cabeza, entre otros. Farmacológicamente se ha demostrado el efecto ansiolítico y antidepresivo de diferentes extractos y fracciones de esta especie, utilizando modelos etológicos. Esta especie produce altas concentraciones de cumarinas. En 2020 se publicó el aislamiento de cinco de estos compuestos con actividad antiinflamatoria (7-isopreniloxi-cumarina, herniarina, 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina y escoparona). Sin embargo, no hay estudios que indiquen el efecto ansiolítico o antidepresivo de cada una de ellas, por lo que en la presente propuesta de investigación se llevó a cabo la evaluación de cada una, en ratones macho de la cepa ICR y que posteriormente fueron expuestos a ensayos de conducta, como el laberinto elevado en forma de cruz (LEC), para medir ansiedad; y natación forzada (NF), para depresión; además de incluir campo abierto (CA) que mide la conducta motora y descartar falsos-positivos.

2.- ANTECEDENTES

2.1.- Trastornos de depresión (TD)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la depresión es un trastorno mental frecuente, que se caracteriza por la presencia de tristeza, pérdida de interés o placer, sentimientos de culpa o falta de autoestima, trastornos del sueño o del apetito, sensación de cansancio y falta de concentración. Esta puede llegar a hacerse crónica o recurrente

y dificultar sensiblemente el desempeño en el trabajo o la escuela y la capacidad para afrontar la vida diaria (Hasin *et al.*, 2018).

Se considera un problema de salud pública importante ya que, según la OMS, afecta actualmente a 300 millones de personas a nivel mundial, que representa al 4.4% de la población mundial, y para el año 2050, la depresión será el principal problema de salud (OMS, 2017).

Se puede presentar en individuos de todos los niveles sociales, económicos, etarios y étnicos, aunque hay algunos sectores de la población que tienen un mayor riesgo y donde se debe tener muy presente para evitarla o al menos detectarla precozmente. En algunos de estos grupos la manifestación de la depresión es grave y se asocia con frecuencia con el suicidio, sobre todo en las personas mayores y los adolescentes, y habitualmente más frecuente en mujeres que en hombres. Cabe destacar que el aumento de la depresión está ligado con el envejecimiento de la población, con la vida en soledad y presenta altos índices de comorbilidad con patologías (Calderón, 2018).

2.1.1- Síntomas

Los síntomas que se manifiestan en la depresión son variados, su frecuencia e intensidad son diferentes de una persona a otra, pero los que más se destacan son ánimo bajo, tristeza y sentimientos de desesperanza, pérdida de interés por las actividades con las que antes disfrutaba o reducción del placer al realizarlas (anhedonia). Otros posibles síntomas que se manifiestan con frecuencia son: irritabilidad, ansiedad, ganas de llorar sin un motivo aparente, pérdida de energía o cansancio, problemas del sueño, cambios en el apetito que en ocasiones pueden reflejarse en aumento o pérdida de peso, dificultad para concentrarse o problemas de memoria, sentimiento de inutilidad o culpa, pensamientos negativos, deseo de muerte o ideas de suicidio. Además, se pueden sentir síntomas físicos asociados como dolor en diferentes áreas del cuerpo; como por ejemplo dolor de cabeza, palpitaciones o presión en el pecho, molestias abdominales o problemas digestivos (Rahim y Rashid, 2017).

Los tipos frecuentes de depresión son:

Depresión mayor, que implica síntomas de depresión la mayoría del tiempo durante por lo menos dos semanas. Estos síntomas interfieren con la capacidad para trabajar, dormir, estudiar y comer. Trastorno **depresivo persistente** (distimia), que a menudo incluye

síntomas de depresión menos graves que duran mucho más tiempo, generalmente por lo menos durante 2 años.

Otras formas de depresión incluyen las siguientes:

Depresión perinatal, que ocurre cuando una mujer sufre de depresión mayor durante el embarazo o después del parto (depresión posparto).

Trastorno afectivo estacional, que aparece y desaparece con las estaciones del año, y por lo general empieza a finales del otoño o principios del invierno y desaparece en la primavera y el verano.

Depresión con síntomas de psicosis, que es una forma grave de depresión en la que una persona también muestra síntomas de psicosis, como tener creencias falsas fijas y perturbadoras (delirios) o escuchar o ver cosas que otros no pueden oír o ver (alucinaciones).

Las personas con un diagnóstico de trastorno bipolar (anteriormente llamado depresión maníaca o enfermedad maniaco-depresiva) también sufren de depresión (NIMH, 2021).

2.1.2.- Causas

No se conocen las causas exactas de la depresión, pero normalmente el trastorno se produce por un conjunto de factores sociales, psicológicos, genéticos y bioquímicos.

Algunas circunstancias que pueden aumentar el riesgo de depresión pueden ser haber sufrido depresión en el pasado, tener antecedentes en la familia de personas deprimidas, tener experiencias de pérdidas o estrés, incluyendo el fallecimiento de seres queridos, desempleo, soledad, cambios en el estilo de vida o problemas en las relaciones interpersonales, haber sufrido situaciones conflictivas como traumas físicos o psicológicos en el entorno familiar, laboral u otros contextos, haber sufrido enfermedades físicas o problemas crónicos de salud, estar bajo algunos tratamientos farmacológicos, también el abuso del alcohol o consumo de drogas y finalmente cambios hormonales o físicos asociados a embarazo o parto (Rakel, 1999).

2.1.3.- Diagnóstico.

Se realiza mediante la entrevista clínica teniendo en cuenta la información que aporta el paciente, familiares y allegados. A veces, como apoyo a la entrevista, se utilizan cuestionarios o test; normalmente para saber más acerca de los síntomas o del tipo de

depresión que puedas tener. Dicha evaluación incluirá cuestiones a cerca de (Salk *et al.*, 2017):

- a) Pensamientos, sentimientos y comportamientos.
- b) Duración de los síntomas y cómo afectan en el día a día.
- c) Nivel de actividad diaria.
- d) Relaciones interpersonales.
- e) Existencia de problemas que se puedan relacionar con la depresión.
- f) Enfermedades en el pasado.

De acuerdo con la clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas de salud relacionados (ICD-10) de la Organización Mundial de Salud (ONU) y el Manual de Diagnóstico y Estadística (DSM-V) de la Asociación Americana de Psiquiatría, existen variaciones múltiples de depresión. Dependiendo del número y severidad de los síntomas, un episodio depresivo puede ser catalogado como: depresión leve a moderada, depresión mayor a severa y desorden afectivo bipolar (Martins, 2018).

La ICD-10 y el DSM-V son los principales medios que a los que se recurre en el diagnóstico de la depresión. Sin embargo, también existen escalas clínicas-calificadas y paciente-calificadas que ayudan en el diagnóstico de la depresión, como por ejemplo la escala de calificación de Hamilton para la depresión (Bench, 2006).

2.1.4.- Fisiopatología.

El padecer depresión puede ser hereditaria y los genes implicados en la depresión son múltiples; las investigaciones apuntan a que existe ligamiento entre genes que se localizan en los cromosomas 2, 10, 11, 17, 18, , así como polimorfismos de genes como el del transportador de la serotonina que podría ser el origen de la depresión. También la fisiopatología se basa en diferencias en estructuras cerebrales como por ejemplo el tamaño de la amígdala, del hipocampo o de la corteza prefrontal. Asimismo, se han encontrado cambios en el tamaño neuronal, densidad de las glías y en el metabolismo (Rocío 2019). Los estudios farmacológicos encaminados en el tratamiento de la depresión se basan en la *teoría de las monoaminas*, que relaciona a la depresión con la disminución de los niveles de monoamina de la serotonina, norepinefrina y dopamina en

el cerebro (Schildkraut, 1965). La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es uno de los neurotransmisores más estudiados e involucrados en la fisiopatología de este trastorno. Sus receptores están localizados principalmente en el núcleo del rafe y en otras áreas como la corteza frontal, sistema límbico y estriado y afecta al hipotálamo y el hipocampo (Meneses, 1999). Este neurotransmisor controla los sentimientos de hambre, violencia, impulsividad, ansiedad, miedo, habilidad de pensar claramente y percepción. En cambio, la norepinefrina promueve la vigilancia al incrementar el estado de alerta y también ayuda en la formación y recuperación de la memoria, proceso que se ve afectado en la depresión. La Dopamina funciona principalmente en el control motor, la conducta motivada por recompensas y en la liberación de varias hormonas (Young y Leyton, 2002).

2.1.5.- Tratamientos.

Existen diferentes tratamientos de probada eficacia que se emplean en la depresión.

Los pacientes con depresión leve pueden mejorar por sí mismas, sin tratamiento, o con asesoramiento sobre cómo afrontar los problemas o cómo cambiar algunos aspectos del día a día que pueden ayudar a sentirse mejor. Los fármacos antidepresivos y las terapias psicológicas también son útiles en algunos casos.

Para aquellos pacientes diagnosticados con depresión moderada, las terapias psicológicas y los fármacos antidepresivos son las opciones de tratamiento.

Para la depresión grave, lo más recomendable son los fármacos combinados con terapia psicológica (Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud, 2006).

2.1.5.1.- Tratamiento farmacológico.

Los fármacos de mayor prescripción para el tratamiento de pacientes con depresión son los inhibidores no selectivos de la recaptura de serotonina y noradrenalina (IRSN), los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), antidepresivos tricíclicos, los inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (MAO) y los antidepresivos triples (Chen y Skolnick, 2007). Las diferentes clases y subclases de los receptores de 5-HT han sido un objetivo terapéutico en la farmacología. Los 5-HT 1_A y 1_B, 6 y 7 son los que se sabe que tienen un efecto antidepresivo, por lo tanto, los fármacos que actúan como agonistas y

antagonistas de estos receptores son empleados en el tratamiento de la depresión (Wesolowska *et al.*, 2006). La adrenalina y la noradrenalina actúan sobre receptores tipo alfa (α) y/o beta (β). Los receptores alfa tienen los subtipos α_{1A} , $1B$, $1D$, $2A$, $2B$ y $2C$, los beta son los subtipos $\beta_{1, 2}$ y 3 . Existen estudios en los que se ha reportado que los antagonistas de los receptores α_1 presentan actividad antidepresiva. También se sabe que la inclusión de antagonistas de los receptores adrenérgicos β_1 como el betaxolol, mejoran la memoria de trabajo en ratas. Se ha demostrado un efecto antidepresivo del fármaco alprazolam, el cual es un fármaco benzodiazepínico útil en el tratamiento de la ansiedad como resultado de la activación de los receptores β_2 (Al-Tubuly *et al.*, 2008). Por último, el fármaco amibegron se utiliza en el tratamiento de la depresión, ya que se sabe que actúa como agonista del receptor adrenérgico β_3 (Overstreet *et al.*, 2008). Otros receptores que se deben considerar en la depresión son los de la Dopamina, que comprenden dos familias, la D1 que comprende los subtipos de D1 y D5 y la familia D2, que incluye los receptores D2, D3 y D4. Hay estudios que reportan fármacos sintéticos como SKF-38393 que inducen actividad antidepresiva al actuar como agonistas selectivos del receptor D1 (Gross y Gass, 2008; Chourbaji *et al.*, 2018). Sin embargo, la mayoría de los fármacos mencionados solo proporcionan una remisión completa de los síntomas en un 50% de los pacientes y causan efectos secundarios como sedación y aumento de peso (Stahl *et al.*, 2005).

2.1.5.2.- Plantas medicinales y sus compuestos, como tratamiento de la depresión

Muchos fármacos modernos se derivan de plantas. El uso de la medicina tradicional juega un papel importante en las necesidades de salud básica. En la sociedad, los remedios herbales y productos naturales que puedan ser considerados como agentes terapéuticos en el tratamiento de la depresión y la ansiedad han ido en aumento (OMS, 2013).

Las plantas producen metabolitos secundarios como las saponinas, alcaloides, terpenos, aceites esenciales, ácidos grasos, y polifenoles como las cumarinas y los flavonoides, que poseen actividad antidepresiva y ansiolítica (Fajemiroye *et al.*, 2016).

En el siguiente (Cuadro 1), se presentan ejemplos de especies medicinales utilizados para tratar TD:

CUADRO 1. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de la depresión

Especie	Parte de la planta empleada	Tipo de extracto	Familia química de metabolitos de plantas, activos en depresión	Referencia
<i>Morinda officinalis</i> How (Morinda)	Raíces	Etanólico	Antraquinonas	Zhang <i>et al.</i> , 2010 Zhang <i>et al.</i> , 2018.
<i>Hypericum perforatum</i> (Hierba de San Juan)	Hojas y flores o partes aéreas.	Hidroalcohólico	Hiperforinas (acilfloroglucinoles) y flavonoides,	Galeotti, 2017; Zhang <i>et al.</i> , 2020.
<i>Allium cepa</i> (Cebolla)	Bulbos	Acuoso	Flavonoides (Glucósido de Quercetina)	Sakakibara <i>et al.</i> , 2008.
<i>Centella asiatica</i> (Gotu kola, centella asiática ó brahmi)	Hojas	Etanólico	Triterpenos	Selvi <i>et al.</i> , 2012.
<i>Curcuma longa</i> (Cúrcuma)	Raíces	Acuoso	Turmerona	Yu <i>et al.</i> , 2002.
<i>Galphimia glauca</i> (Árnica roja)	Partes aéreas	Metanólico	Galfiminas	Verónico-Sánchez <i>et al.</i> , 2020;
<i>Lavandula angustifolia</i> (Lavanda)	Flores	Acuoso	Linalool, linalil acetato	Araj-Khodaei <i>et al.</i> , 2020
<i>Valeriana officinalis</i> (Valeriana)	Raíces	Acuoso, hidrometanólico e hidroalcohólico.		166 Hosseini <i>et al.</i> , 2014.

2.2.- Trastornos de ansiedad (TA)

La ansiedad es una emoción básica normal y necesaria sin la cual la supervivencia individual sería imposible. La ansiedad patológicamente aumentada puede surgir no solo en los trastornos de ansiedad *per se*, sino también en la mayoría de los otros tipos de enfermedades mentales. Puede ser una señal de advertencia de daño potencial en enfermedades somáticas, como infarto de miocardio o hipoglucemia en un paciente diabético; naturalmente, requiere un enfoque terapéutico completamente diferente en tales situaciones. (López *et al.*, 2012)

Cualquier paciente que presente un aumento patológico de la ansiedad, se necesita una evaluación psiquiátrica y somática completa para que una enfermedad pulmonar, cardiovascular, neurológica o endocrina (p. Ej., de la glándula tiroides) subyacente pueda descartarse. Las reacciones de ansiedad son indicadores importantes de una posible amenaza para la homeostasis; este trastorno se considera una enfermedad que requiere tratamiento cuando surge en ausencia de una amenaza, o en una relación desproporcionada con una amenaza, y evita que el individuo afectado lleve una vida normal (Tawakol, *et al.*, 2017).

2.2.1.- Síntomas

El grupo de trastornos de ansiedad ubicados en la Clasificación Internacional de Enfermedades, abarcan desde el Trastorno de ansiedad generalizada (TAG) que generalmente implica una sensación persistente de ansiedad o temor, que puede interferir con la vida diaria. No es lo mismo que preocuparse ocasionalmente por las cosas o experimentar ansiedad prolongada debido a eventos estresantes de la vida. Las personas que viven con TAG experimentan ansiedad frecuente durante meses, sino hasta por años. Los síntomas del TAG incluyen, sentirse inquieto, nervioso, fatiga, dificultad para concentrarse, irritabilidad, dolores de cabeza, musculares, de estómago y finalmente con problemas para dormir para dormir, como dificultad para conciliar el sueño o permanecer dormido.

El Trastorno de ansiedad social, que es un miedo intenso y persistente a ser observado y juzgado por otros. Para las personas con trastorno de ansiedad social, el miedo a las situaciones sociales puede sentirse tan intenso que parece estar fuera de su control. Para algunas personas, este miedo puede interponerse en el camino de ir a trabajar, asistir a la escuela o hacer cosas cotidianas. Las personas con trastorno de ansiedad social pueden experimentar rubor, sudoración o temblor su corazón palpitante o acelerado malestar general en el estómago, una postura corporal rígida o hablar con una voz demasiado suave, dificultad para hacer contacto visual o estar cerca de personas que no conocen, sentimientos de timidez o miedo de que las personas los juzguen negativamente. (NIMH, 2022).

Una evaluación diagnóstica diferencial integral es esencial, porque la ansiedad también puede ser una manifestación principal de otros tipos de enfermedades mentales o somáticas. La psicoterapia y el tratamiento con psicofármacos son las estrategias terapéuticas de primera elección. En general, los trastornos de ansiedad ahora se pueden tratar de manera eficaz. Los pacientes deben ser informados de las opciones terapéuticas y deben participar en la planificación del tratamiento. Los esfuerzos de investigación actuales se centran en enfoques de tratamiento individualizados y, por lo tanto, se espera que incluso sean más efectivos que los disponibles en la actualidad (OMS, 2017).

2.2.2.- Causas

Las causas de la ansiedad no son del todo claras, pueden ser factores ambientales, genéticos y también traumas o miedos pasados presentándose en el presente. El tener una enfermedad en proceso también puede contribuir a la ansiedad como problemas en el hígado, en la tiroides o en corazón estas generan estrés y se convierten en ansiedad en los individuos debido al peligro potencial que presenta la persona.

2.2.3.- Diagnóstico

Este tipo de trastornos suelen comenzar en la infancia o la adolescencia. La mayoría de los niños atraviesan una fase transitoria de aversión no patológica a los extraños, que a menudo comienza a los ocho o nueve meses. En el 2-3% de los niños, la ansiedad por

separación marcada persiste en los años preescolares o escolares y afecta el desarrollo normal del niño, por ejemplo, al hacer imposible que tenga experiencias sociales importantes (Beesdo, *et al.*, 2010).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) informó en 2015, que los trastornos de ansiedad se ubicaron en el sexto lugar entre todas las enfermedades mentales y somáticas en todo el mundo como causa de los llamados años vividos con discapacidad y en el cuarto lugar en los países altamente desarrollados; por tanto, se encuentran entre las enfermedades crónicas con mayor impacto en la vida de los pacientes (OMS, 2017).

2.2.4.- Fisiopatología

Los trastornos de ansiedad se encuentran entre las llamadas enfermedades genéticas complejas caracterizadas por una interacción patogénica compleja de factores ambientales con múltiples variantes genéticas en diferentes loci cromosómicos. Se ha demostrado que los familiares de primer grado de pacientes con trastornos de pánico tienen un riesgo de tres a cinco veces mayor de desarrollar dicho trastorno ellos mismos, en comparación con la población general. La agrupación familiar también se observa en el trastorno de ansiedad generalizada y en las fobias específicas. El grado de participación de factores genéticos en el desarrollo de los TA, se encuentra en el rango de 30 a 67%, y el resto de la variación se explica por factores ambientales negativos individuales (Klauke, *et al.*, 2010; Gottschalk, *et al.*, 2016).

2.2.5.- Tratamiento

El tratamiento de los TA se basa en la gravedad, y se suele ofrecer psicoterapia y farmacoterapia y ambas se consideran de eficacia comparable. La preferencia del paciente informado, la latencia esperada y la durabilidad del efecto del tratamiento, los efectos secundarios esperados y la disponibilidad del tratamiento en cuestión (Leichsenring *et al.*, 2013).

Los desórdenes de depresión y la ansiedad son los trastornos más comunes dentro de aquellos considerados como de cuidado primario. Los pacientes que manifiestan

depresión, con frecuencia muestran patrones asociados a desórdenes de ansiedad y también aquellos que cursan con desórdenes de ansiedad, comúnmente también tienen depresión. Ambos trastornos pueden ocurrir juntos y es difícil discriminar entre ellos, pero es importante identificar y tratar ambos trastornos, ya que están asociados con una morbilidad y mortalidad significativa (Cole *et al.*, 1998).

2.2.6.- Tratamiento farmacológico

Los fármacos con mayor nivel de evidencia de apoyo son los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) y los IRSN, así como el modulador de los canales de calcio pregabalina para el trastorno de ansiedad generalizada.

Los fármacos más utilizados son los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) como la floxetina y los inhibidores selectivos de la ruptura de noradrenalina (IRSN) como la Venlafaxina. (Maneeton *et al.*, 2016).

También las benzodiacepinas son calmantes o sedantes elevando el nivel del neurotransmisor inhibitorio GABA en el cerebro. Entre las benzodiacepinas comunes se cuentan el diazepam (NIDA, 2023).

En la discusión sobre el consentimiento informado, el paciente no solo debe ser informado de los efectos secundarios específicos de la clase de medicamento que se prescribirá, sino que también se le debe informar que el efecto de estos medicamentos puede retrasarse por una latencia de aproximadamente dos semanas (rango: 1 a 6 semanas), y que estos fármacos pueden, de hecho, empeorar inicialmente el nerviosismo, la agitación y la ansiedad. Por lo tanto, deben administrarse a una dosis baja al principio, con titulación ascendente gradual (Maneeton *et al.*, 2016).

2.2.4.- Plantas medicinales con potencial actividad ansiolítica

Las plantas medicinales se presentan a menudo como un gran potencial para el origen de nuevos fármacos. Es innegable como fuente de nuevas sustancias bioactivas, como, por ejemplo, diversas sustancias antitumorales y galantamina, utilizadas en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (Cragg *et al.*, 1997; Shu, 1998).

Para el tratamiento de la ansiedad basada en plantas, actualmente se utilizan entre otras a *Piper methysticum* (kava-kava), *Passiflora incarnata*, *Valeriana officinalis*, *Ginkgo biloba*, *Galphimia glauca* y *Matricaria recutita* (manzanilla) (Volz HP *et al.*, 1997; Maisch U *et al.*, 2001; Gastpar M *et al.*, 2003; Lehri S 2004).

CUADRO 2. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de la ansiedad

Especie	Parte de la planta empleada	Tipo de extracto	Familia química de metabolitos de plantas, activos en ansiedad	Referencia
<i>Piper methysticum</i> (kava-kava)	Raíz	Acuoso	kavalactonas.	Laura Shane-McWhorter 2020.
<i>Passiflora incarnata</i>	Partes aéreas	Acuoso	Flavonoides	Lucía Mourenza González 2017.
<i>Valeriana officinalis</i>	Raíz	Acuoso	Sesquiterpenos e iridoides	Ángel M Villar Del Fresno 2001.
<i>Ginkgo biloba</i>	-	Acuoso	-	Singh <i>et al.</i> , 2017
<i>Galphimia glauca</i>	-	Acuoso	Galfimina-B	Romero-Cerecero <i>et al.</i> , 2018

<i>Matricaria recutita</i> (manzanilla)	Partes aéreas	Acuoso	-	Mao <i>et al</i> , 2016
--	---------------	--------	---	-------------------------

La especie *Tagetes lucida*, se emplea para el tratamiento de los “nervios” y se sabe que posee compuestos que actúan a nivel del sistema nervioso central entre los que se encuentran un grupo de metabolitos secundarios que han mostrado tener diversidad de actividades biológicas y que podrían ser una alternativa para tratar la depresión y la ansiedad conocidos como cumarinas (Monterrosas *et al.*, 2020)

2.3.- *Tagetes lucida* Cav.

2.3.1.- Clasificación Taxonomía

Reino: Plantae

Subreino: Traqueobionta (plantas vasculares)

Superdivisión: Spermatophyta (plantas con semillas)

División: Magnoliophyta (plantas con flor)

Clase: Magnoliopsida (dicotiledóneas)

Subclase: Asteridae;

Orden: Asterales.

Familia: Asteraceae

Género: *Tagetes*

Especie: *lucida*

Nombre

Científico:

Tageteslucida

(CONABIO, 2009).

2.3.1 Descripción botánica y distribución

Es una planta herbácea perenne, erecta que puede medir hasta 80 cm de alto. Generalmente tiene varios tallos partiendo de la base, más o menos ramificados, glabros. Sus hojas son simples, opuestas, indivisas, sésiles, lineares a oblongas, elípticas a oblanceoladas, de 2 a 10 cm de largo, de 0.5 a 2 cm de ancho, agudas a redondeadas en el ápice, márgenes aserrados. Su inflorescencia presenta cabezuelas dispuestas en

corimbos, sobre pedúnculos bracteados de hasta 1 cm de largo; involucro cilíndrico, de 4 a 12 mm de alto, de 5 a 7 brácteas, con los ápices subulados. Sus cabezuelas son liguladas conformadas por 3 o 4 de color amarillo con láminas flabeladas o suborbiculares de 3 a 6 mm de largo, teniendo de 5 a 8 flores en el disco, con corolas amarillas de 4 a 6 cm de anchos. Posee aquenios linear-claviformes de 5 a 8mm de largo color negruzcos con apariencia glabros o algo hispídulos con vilanos de 2 escamas aristiformes de 3 a 5 mm de largo y con 4 o 5 escamas romas de 1 a 2 mm de largo. Una de sus características particulares es liberar una esencia de anís al ser estrujado. (Rzedowski *et al.*, 2005).

Ampliamente distribuida en el valle, en zonas cerriles y montañosas, menos frecuente en la parte norte. Se puede encontrar entre los 2250- 2900 msnm en pastizales, bosques de Quercus y de coníferas, preferentemente en condiciones de disturbio.



IMAGEN 1. *Tagetes lucida* Cav. foto tomada por Tadeo Lezama, UAEM.

2.4.- Cumarinas

Las cumarinas son una clase de benzopironas, tanto de origen natural como sintético que exhiben diversas actividades. Se consideran una de las formas más simples dentro del grupo de compuestos fenólicos, construidas a partir de un anillo α -pirona fusionado con uno bencénico. Se aislaron por primera ocasión de las habas *tonka*, por Vogel en 1820 y han recibido mucha atención por parte de los científicos de las áreas médica, química y

de diseño de fármacos como consecuencia de la diversidad de actividades biológicas y farmacológicas que han mostrado como, por ejemplo: antiinflamatoria, antiviral, inhibición de ciclooxigenasas, antioxidante, antialzheimer, antibacterial, anticancerígeno, entre otras (Singh *et al.*, 2019; Monterrosas-Brisson *et al.*, 2020; Al-Warhi *et al.*, 2020).

En este sentido, se ha encontrado que las cumarinas pueden actuar como agentes intercalantes, agentes alquilantes, inhibidores de topoisomerasas, antagonistas de hormonas, angiogénesis inhibidoras, agentes antimitóticos, inductores de apoptosis e inhibidores de la anhidrasa carbónica. Además de que se ha observado que dichas actividades las ejercen sin causar toxicidad o efectos secundarios (Menezes y Diederich, 2019).

2.4.1.- Actividades biológicas de las cumarinas.

Dentro de los reportes bibliográficos de las actividades reportadas para cumarinas se pueden mencionar a bergapten y escopoletina aisladas de las raíces de *Angelica archangelica* fueron evaluadas en ratones con depresión inducida con reserpina y bergapten fue la cumarina que inhibió mejor a la enzima MAO, en el caso de escopoletina, no se observó tal efecto (Kaur *et al.*, 2020).

El decursinol, otra cumarina aislada de *Angelica gigas*, administrada vía oral fue capaz de inhibir la formación de las placas β -amiloide en ratones administrados intra-cerebro ventricular de βA_{1-42} (Ji-Jing *et al.*, 2004). Algunos informes sugieren que las cumarinas y sus análogos sintéticos poseen propiedades antidepresivas.

La escopoletina, aislada de *Polygala sabulosa* tiene una importante actividad antidepresiva *in vivo*. Además, la xantotoxina y la praeruptorina-A pertenecen a la nueva generación de IMAO que exhiben potentes propiedades antidepresivas el desarrollo de andamios basados en 3-fenilcumarina como posibles agentes antidepresivos, lo que redujo significativamente el tiempo de inmovilidad en comparación con el fármaco estándar fluoxetina los compuestos que contienen aminopirano mostraron una actividad antidepresiva prominente (Ji-Jing *et al.*, 2004).

Por otro lado, las cumarinas Herniarina y 7-isoprenyloxycoumarina aisladas de *Tagetes lucida* han mostrado tener efecto inmunomodulador significativo en la respuesta sistémica

y cerebral (Monterrosas-Brisson *et al.*, 2020). También se observó que pueden reducir la formación de los agregados β -amiloide en el cerebro (Bahena-Pérez, 2019).

Se ha reportado la actividad antioxidante de herniarina, ya que secuestra especies reactivas de oxígeno e inhibe la genotoxicidad inducida con peróxido de hidrógeno (Rezaee., *et al* 2014), protege contra los eventos asociados al estrés oxidante. Asimismo, (Salehcheh *et al.*, 2020) reportaron que a 200 o 400 mg/kg la herniarina protege contra la citotoxicidad y genotoxicidad inducida con cisplatina, compuesto empleado en la quimioterapia como agente que induce citotoxicidad.

La escoparona, es también una cumarina que se ha reportado que se utiliza para el tratamiento de trastornos hepáticos, como la cirrosis, cáncer de hígado, ictericia y colecistitis (Li *et al.*, 2017) y se menciona que su acción sobre el hígado puede deberse a su efecto sobre la regulación en la expresión de ciertas proteínas involucradas en la señalización antioxidante. Pero también existen reportes en los que se menciona que tiene propiedades vaso-relajantes (Yamahara *et al.*, 1989), anticancerígena, antioxidante e inflamatoria (Juvonen *et al.*, 2019).

2.4.2- Biosíntesis de las cumarinas

Estos compuestos se generan a partir del ácido cinámico, que se oxida en presencia de NADPH a ácido 2 y 4-cumárico. Posteriormente el ácido 2-cumárico sufre una isomerización de configuración E a Z, catalizada por la enzima ácido 2-cumárico isomerasa, pues dicha configuración es más estable. La formación de la cumarina se realiza gracias a una ciclación intramolecular, conocida como lactonización (Dewick, 2002), en donde los pares libres del oxígeno hidroxílico atacan al carbonilo deficiente en electrones del grupo ácido, ciclando la molécula y liberando agua.

Si la ruta es con el ácido 4-cumárico, el primer paso ya no es la isomerización, sino una hidroxilación en posición 2, para generar el ácido 2,4-dihidroxicinámico, que luego si sufre la isomerización de configuración E a Z, y la condensación intramolecular (lactonización) para generar la umbeliferona, que es hidroxilada nuevamente en posición 6 para formar la esculetina. La esculetina es eterificada en la posición 6 para dar escopoletina, y ésta por O-glicosidación originar la escopolina. Las cumarinas son compuestos que son utilizados como venenos, y aceleran la fermentación de la levadura (Valencia-Ortiz,

1995), además, en la naturaleza puede ser degradada en cientos de compuestos (Herbert, 1989).

2.5- Modelos animales

Las investigaciones con modelos animales permiten imitar los procesos psicológicos normales y anormales como síntomas o síndromes psicopatológicos humanos y analizar tratamientos para las enfermedades. Algunos modelos animales han proporcionado contribuciones significativas para el entendimiento y el avance de la medicina moderna, promoviendo el desarrollo de tratamientos y/o nuevos procedimientos quirúrgicos. Es por esta razón que los modelos animales han sido bastante manejados para investigar patologías, como aquellas relacionadas con el sistema nervioso como la ansiedad y la depresión. Dichos trastornos han sido estudiados extensamente en modelos animales y existen más de treinta utilizados. Algunos recurren a respuestas condicionadas y otros modelos utilizan respuestas más naturales de la especie por lo cual son considerados modelos etológicos o de respuestas no condicionadas (Robinson *et al.*, 2019).

2.5.1.- 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 y 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 y Belzung, 2003).

2.5.2.- Natación forzada (NF).

Fue descrita por 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 potenciales nuevos tratamientos (McArthur y Borsino, 2006), como extractos, fracciones y compuestos 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.

2.5.3.- Laberinto elevado en cruz

El Laberinto Elevado en Cruz (LEC), es una de las pruebas más utilizadas en investigaciones sobre ansiedad (Hogg, 1996; Rodgers & Dalvi 1997, Carobrez & Bertoglio 2005, Walf & Frye 2007) desde los modelos de respuesta incondicionada. Sus inicios, están en las investigaciones de Montgomery (1955, 1995, 1952), sobre conducta exploratorio en callejones abiertos y cerrados. En el estudio de Montgomery (1955), se buscó determinar si la estimulación novedosa evoca miedo y exploración. Las ratas Wistar, mostraron que, en callejones abiertos, la evocación de miedo es mayor. De igual forma, evidenciaron que los estímulos novedosos provocan comportamientos de evitación, aunque este disminuye con el tiempo. Posteriormente, Handley y Mithani (1984) hicieron un laberinto elevado X, con forma de X, el cual tenía dos brazos abiertos y dos brazos opuestos con paredes y cerrados al final que se mantenía elevado del piso, el cual actualmente se conoce como Laberinto elevado en cruz (Polanco *et al.*, 2011)

3.- JUSTIFICACIÓN.

La OMS establece que las enfermedades mentales causan un gran impacto en el desarrollo de los individuos y que la ansiedad y la depresión, son dos trastornos de alto impacto sobre la productividad. 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 y 7% con depresión.

La diversidad de fármacos empleados en el tratamiento de los TA y TD son eficaces, sin embargo, causan importantes efectos secundarios que ponen en riesgo la continuidad y por lo tanto, la efectividad de éstos, además de que afectan la calidad de vida de los pacientes. Por ello, es importante realizar estudios que permitan encontrar alternativas terapéuticas y las plantas medicinales en todo el mundo, resultan ser una fuente factible para ello. La especie *Tagetes lucida* ha sido usada en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades del SNC, como los “nervios”, para tranquilizar y tratar a los “dementes”. El estudio de su constitución química llevó al aislamiento de compuestos del grupo de las cumarinas, cuya evaluación farmacológica ha permitido describir sus efectos sobre modelos biológicos de enfermedades del SNC. Sin embargo, aquellas cumarinas aisladas de la planta y que fueron reportadas como antiinflamatorias: 7-isopreniloxi-cumarina (C1), herniarina (C2), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (C3), 6,7,8-trimetoxicumarina (C4) y escoparona (C5) aisladas de *T. lucida*, no cuentan con reportes de efecto ansiolítico y/o antidepresivo en ensayos con roedores. Por lo que en este trabajo se llevó a cabo la evaluación de cada una de ellas, a través de su administración a ratones que posteriormente fueron expuestos a ensayos conductuales de NF, LEC y CA.

4.- HIPÓTESIS

Debido a que extractos y fracciones derivadas de *T. lucida* y que algunas cumarinas aisladas de plantas medicinales poseen actividades sobre sistema nervioso central, entonces 7-isopreniloxi-cumarina (C1), herniarina (C2), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (C3), 6,7,8-trimetoxicumarina (C4) y escoparona (C5), aisladas de *Tagetes lucida* poseen efecto ansiolítico y/o antidepresivo en ratones.

5.- OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto ansiolítico, antidepresivo y sobre la conducta motora espontánea de 7-isopreniloxi-cumarina (C1), herniarina (C2), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (C3), 6,7,8-trimetoxicumarina (C4) y escoparona (C5), aisladas de *Tagetes lucida*.

5.1.- Objetivos particulares:

1. Medir el efecto ansiolítico de 7-isopreniloxi-cumarina (C1), herniarina (C2), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (C3), 6,7,8-trimetoxicumarina (C4) y escoparona (C5) aisladas de *T. lucida*, en ratones macho, en la prueba de laberinto elevado en forma de cruz.
2. Evaluar el efecto antidepresivo de 7-isopreniloxi-cumarina (C1), herniarina (C2), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (C3), 6,7,8-trimetoxicumarina (C4) y escoparona (C5) aisladas de *T. lucida*, en ratones macho, en la prueba de natación forzada.
3. Evaluar la conducta motora espontánea de los ratones que reciban vía oral a las cumarinas 7-isopreniloxi-cumarina (C1), herniarina (C2), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (C3), 6,7,8-trimetoxicumarina (C4) y escoparona (C5) aisladas de *T. lucida*, en la prueba de campo abierto.

6.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1.- Obtención de las cumarinas.

Cada una de las 5 cumarinas, 7-isopreniloxi-cumarina, herniarina, 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina y escoparona empleadas en el presente trabajo de investigación, fueron ya aisladas de la planta *Tagetes lucida*, mediante el procedimiento de cromatografía en columna y elucidadas a través de Resonancia Magnética Nuclear, así como análisis DEPT (Mejora de las Distorsiones por Transferencia de Polarización), COSY (Espectroscopia de Correlación Homonuclear), HSQC (Espectroscopía de Correlación Heteronuclear de un Único Cuanto) y HMBC (Coherencia de Enlaces Múltiples Heteronucleares), a partir de extracto hexánico de partes aéreas de dicha especie, en el Centro de Investigación Biomédica del Sur del IMSS, en Xochitepec-Morelos. Los 5 compuestos fueron donados para el presente trabajo de investigación (Monterrosas-Brisson *et al.*, 2019).

6.2.- Ensayos farmacológicos:

6.2.1.- Animales de experimentación

Se emplearon ratones macho adultos, de la cepa ICR, con un peso promedio de 30 gr, provenientes del bioterio de Centro Médico Siglo XXI del IMSS. Se dispusieron en cajas plásticas transparentes en el Bioterio del CIBIS-IMSS, al menos dos semanas antes de la experimentación, para su acondicionamiento, en un ambiente de 12 h de luz por 12 h de oscuridad, con acceso libre a al agua y alimento (Pellets, ratlab, S.A. de C.V.). Todos los ensayos se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana acerca del cuidado y Manejo de los Animales (NOM-062-ZOO-1999, México).

6.2.2.- Diseño experimental para todos los ensayos

Se formaron grupos de 5 ratones cada uno para realizar las pruebas de Natación forzada (NF), laberinto elevado en cruz (LEC) y campo abierto (CA) respectivamente. Los animales para la prueba de depresión (NF) fueron administrados en tres ocasiones con la dosis correspondiente, ya sea de tratamiento experimental o controles negativo y positivo, así que antes del ensayo final fueron administrados 24, 18 y 1 hr antes, con el tratamiento correspondiente a cada grupo.

Como existen sustancias que modifican la conducta motora de los animales, ya sea que la incrementen o bien la disminuyan, para controlar la presencia de algún efecto “falso-positivo”, los animales fueron sometidos a la prueba de (CA).

Los ratones asignados a la prueba de ansiedad (LEC), sólo recibieron su tratamiento una vez, y fue 1 hr antes del ensayo correspondiente. De la misma manera, los ratones también serán posteriormente sometidos a la prueba de CA.

Grupo 1: Vehículo (control negativo, VEH solución de Tween 20 al 1 %, 100µl/10 g peso, vía oral-vo-)

Grupo 2: Imipramina (control positivo, IMI, antidepresivo tricíclico, a 15 mg/kg, vía intraperitoneal -ip-) (NF)

Grupo 3: Diazepam (control positivo, Dzp, ansiolítico del grupo de las benzodiazepinas, (1.5 mg/kg, ip) (LEC)

Grupo 4: Tratamiento experimental con 7-isopreniloxi-cumarina (C1) (2 mg/kg, vo)

Grupo 5: Tratamiento experimental con Herniarina (C2) (2mg/kg, vo)

Grupo 6: Tratamiento experimental con 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (C3) (2 mg/kg, vo)

Grupo 7: Tratamiento experimental con 6,7,8-trimetoxicumarina (C4) (2 mg/kg, vo)

Grupo 8: Tratamiento experimental con Escoparona (C5) (2 mg/kg, vo)

Grupo 9: Tratamiento experimental con Extracto hexánico de *T.lucida* (TIHex) (2 mg/kg, vo)

6.2.3.- Natación forzada (NF)

Se emplearon cilindros de vidrio de 17 cm de alto y un diámetro de 14 cm en una superficie plana, cada uno de ellos se llenará con agua (30 °C) a una profundidad de 16 cm. Los cilindros serán separados por bloques de madera que tienen 6 divisiones, lo cual permitirá el registro del comportamiento de 6 animales a la vez. El experimento se realizará en tres fases: la primera será de entrenamiento, la cual consistirá en exponer a cada ratón al cilindro lleno de agua durante 15 minutos, una vez transcurrido este tiempo los animales serán colocados sobre un paño limpio. Una vez realizado el “entrenamiento” los ratones se colocarán en una caja con cama de viruta de madera limpia y expuestos a una lámpara de luz incandescente para su secado.

La segunda fase del experimento consistió en administrar el tratamiento correspondiente vía oral, después del entrenamiento, 24, 18 y 1 hr antes del ensayo. En la tercera fase o fase de prueba, los animales se colocarán nuevamente dentro del cilindro y se evaluará su comportamiento durante 5 min. El parámetro que se evaluará será el 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 serán colocados en su cama de viruta de madera para su secado. Los cilindros se limpiaron con una toalla de papel limpia y humedecida en etanol al 10% y vueltos a llenar con agua. Cada experimento será registrado con una cámara de video para su posterior análisis.

6.2.4.- Campo abierto (CA)

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

cuadrantes de la misma área; el dispositivo estuvo elevado del suelo 5 cm. La prueba consiste en colocar en el dispositivo al roedor y durante 5 minutos se registrará la conducta motora a través del conteo del número de cruces totales en la superficie del campo (CT) (suma del número de cruces al cuadrante del centro y a la periferia) y la conducta exploratoria mediante la cuantificación de los elevamientos verticales (EV).

6.2.5.- Laberinto elevado en cruz (LEC)

Este ensayo consiste en colocar a los ratones en el centro de un laberinto elevado en forma de cruz, con la cara mirando hacia alguno de los brazos abiertos. La prueba dura 5 minutos y los parámetros que se miden son los siguientes:

- a) Tiempo de permanencia en los brazos abiertos (T_a).
- b) Tiempo de permanencia en los brazos cerrados (T_c).
- c) Número de entradas dentro de los brazos abiertos (N_a). La definición estricta de “entrada” a los brazos, es que todas las patas del animal deben entrar al brazo. Número de entradas dentro de los brazos cerrados (N_c).



IMAGEN 2. Modelo conductual Laberinto elevado en cruz. Foto tomada por Tadeo Lezama, CIBIS XOCHITEPEC.



IMAGEN 3. Modelo conductual Campo abierto. Foto tomada por Tadeo Lezama, CIBIS XOCHITEPEC.

6.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

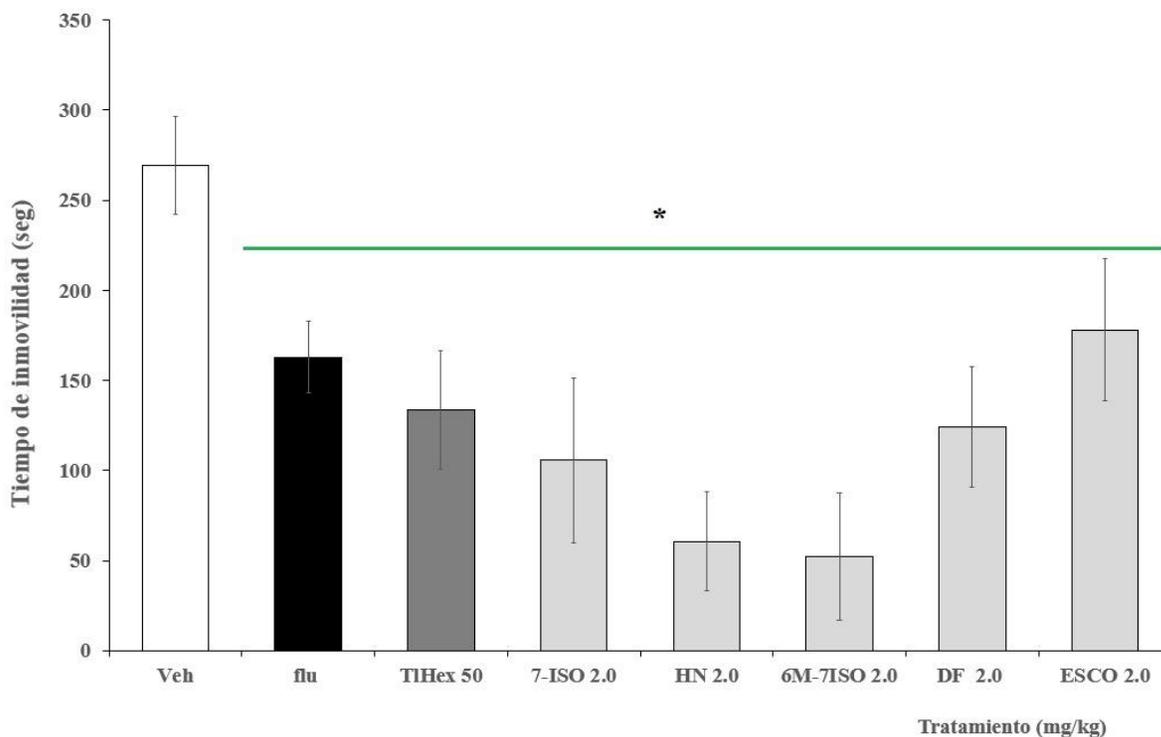
Los datos obtenidos en cada ensayo farmacológico fueron analizados con el programa de estadística SPSS versión 11.0, y se llevó a cabo una prueba de análisis de varianza (ANOVA) con una post-prueba de Bonferroni, los datos son señalados como el promedio \pm la desviación estándar (DE).

7.- RESULTADOS

7.1 Depresión

7.1.1 Efecto de cumarinas aisladas de *T. lucida* sobre la prueba de Natación forzada

En la prueba de natación forzada, los animales del grupo Veh presentan un tiempo de inmovilidad de 260 seg, mientras que el antidepresivo fluoxetina (flu) a 15 mg/kg disminuyó significativamente este valor (* $p < 0.05$). Todos los tratamientos derivados de *T. lucida*, TIHex, 7-ISO, HN, 6M-7ISO, DF y ESCO también fueron capaces de disminuir esta variable, significativamente respecto a Veh (* $p < 0.05$). Sin embargo, los dos compuestos con mayor actividad son HN y 6M7ISO (Gráfica 5).



Grafica.1

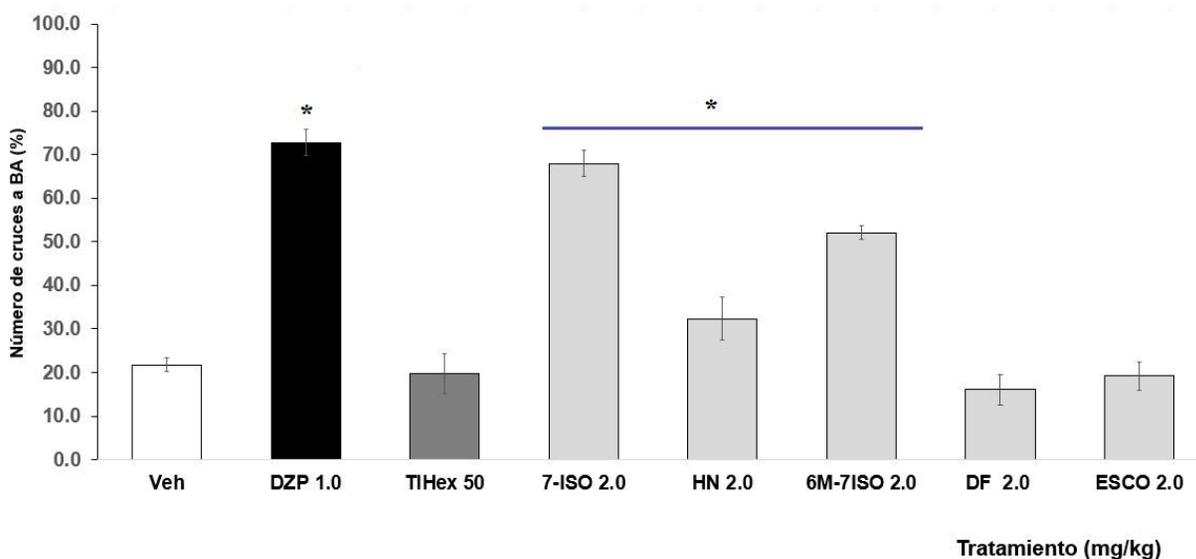
Efecto del extracto hexánico (TIHex) y de las cumarinas: 7-isoprenilxicumarina (7-ISO), herniarina (HN), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (6M-7ISO), 6,7,8-trimetoxicumarina (DF) y escoparona (ESCO), sobre los segundos de tiempo de inmovilidad (seg) de los ratones expuestos a natación forzada (NF), ANOVA, post-prueba Bonferroni (n=5, $\bar{x} \pm DE$)

7.2.- Ansiedad

7.2.1.- Efecto de cumarinas aisladas de *T. lucida* sobre la prueba de LEC

En la gráfica 1, se observa que el grupo de animales que recibió el Veh, tiene un porcentaje de cruces a brazos abiertos (%NA) de 25%, mientras que los ratones que recibieron el fármaco ansiolítico, diazepam (DZP), muestran un 72%, ambos grupos fueron estadísticamente diferentes entre sí (*p<0.05). El extracto TIHex tiene un comportamiento similar al grupo Veh (p>0.05). Mientras que los grupos experimentales que recibieron las diferentes cumarinas, inducen el siguiente comportamiento. Los compuestos 7-ISO, HN y 6M-7ISO fueron capaces de incrementar significativamente el

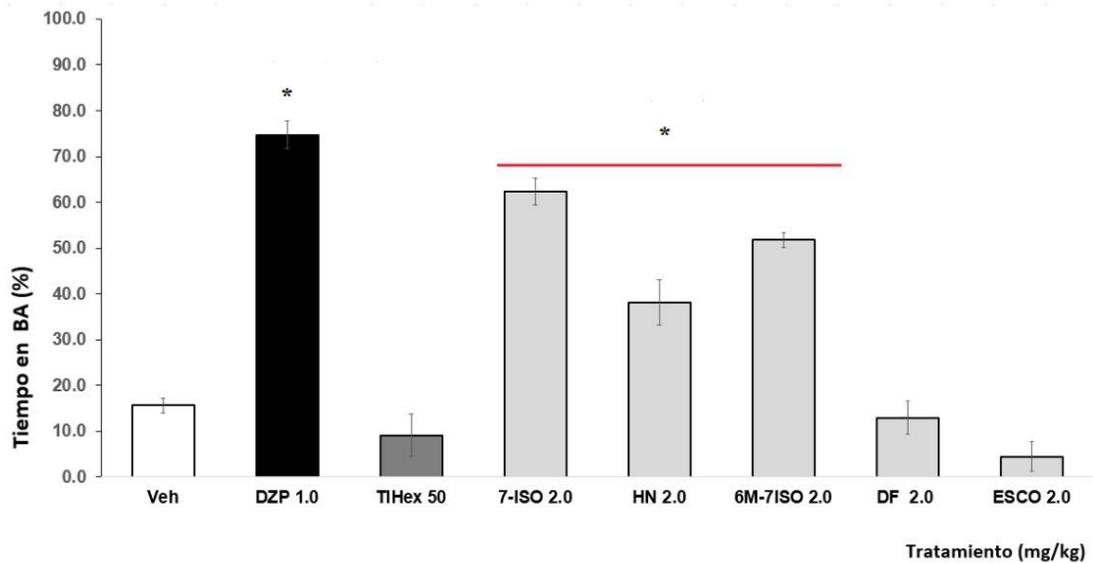
número de cruces a brazos abiertos (%), respecto al grupo Veh (* $p < 0.05$). Sin embargo, DF y ESCO, no producen cambios en esta variable respecto al Veh ($p > 0.05$).



Gráfica 2. Efecto del extracto hexánico (TIHex) y de las cumarinas: 7-isoprenilxicumarina (7-ISO), herniarina (HN), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (6M-7ISO), 6,7,8-trimetoxicumarina (DF) y escoparona (ESCO), sobre el porcentaje de cruces a brazos abiertos (%TA) de ratones expuestos al laberinto elevado en forma de cruz (LEC), ANOVA, post-prueba Bonferroni ($n=5$, $\bar{x} \pm DE$)

En la gráfica 2, se puede observar que la administración de DZP induce un incremento significativo sobre el parámetro de tiempo en brazos abiertos (%TA), respecto al grupo Veh (* $p < 0.05$) con un valor de 72% para el primero y de 13 % para el segundo. El extracto TIHex, DF y ESCO, mantienen un comportamiento similar al del Veh ($p > 0.05$). Mientras que 7-ISO, HN y 6M-7ISO fueron capaces de provocar un incremento significativo del %TA en los ratones, esto cuando se comparan con el Veh (* $p < 0.05$)

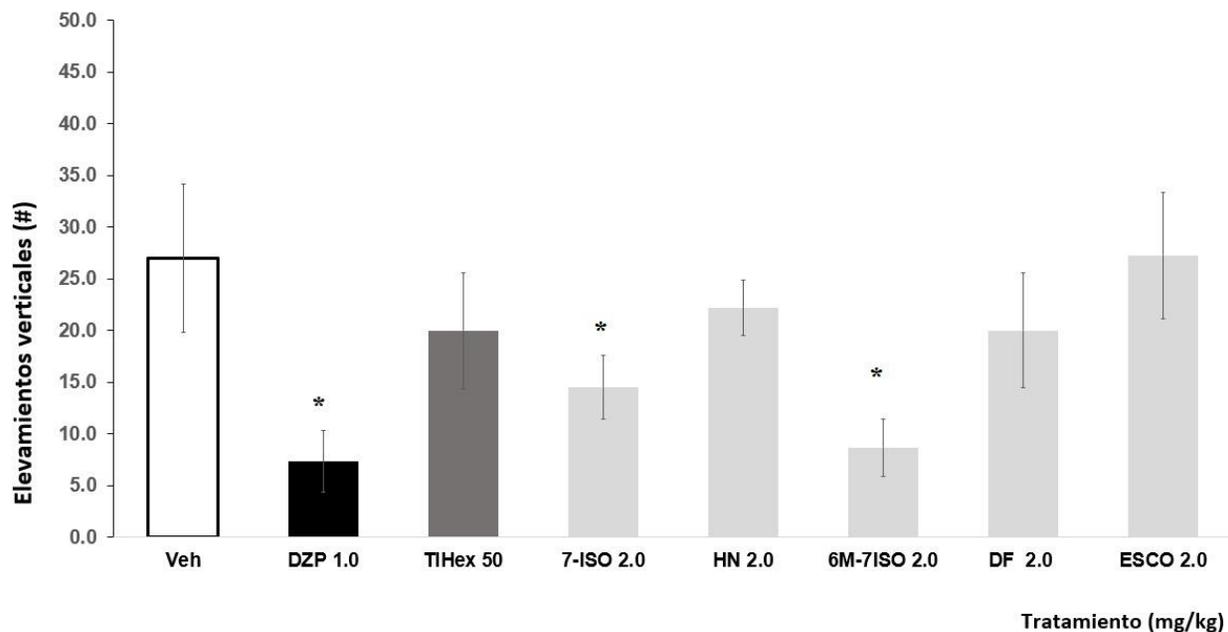
7.2.2 Efecto de cumarinas aisladas de *T. lucida* sobre la prueba de CA



Gráfica 3. Efecto del extracto hexánico (TIHex) y de las cumarinas: 7-isoprenilxicumarina (7-ISO), herniarina (HN), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (6M-7ISO), 6,7,8-trimetoxicumarina (DF) y escoparona (ESCO), sobre el porcentaje de tiempo en brazos abiertos (%TA) de ratones expuestos al laberinto elevado en forma de cruz (LEC), ANOVA, post-prueba Bonferroni (n=5, $\bar{x} \pm DE$)

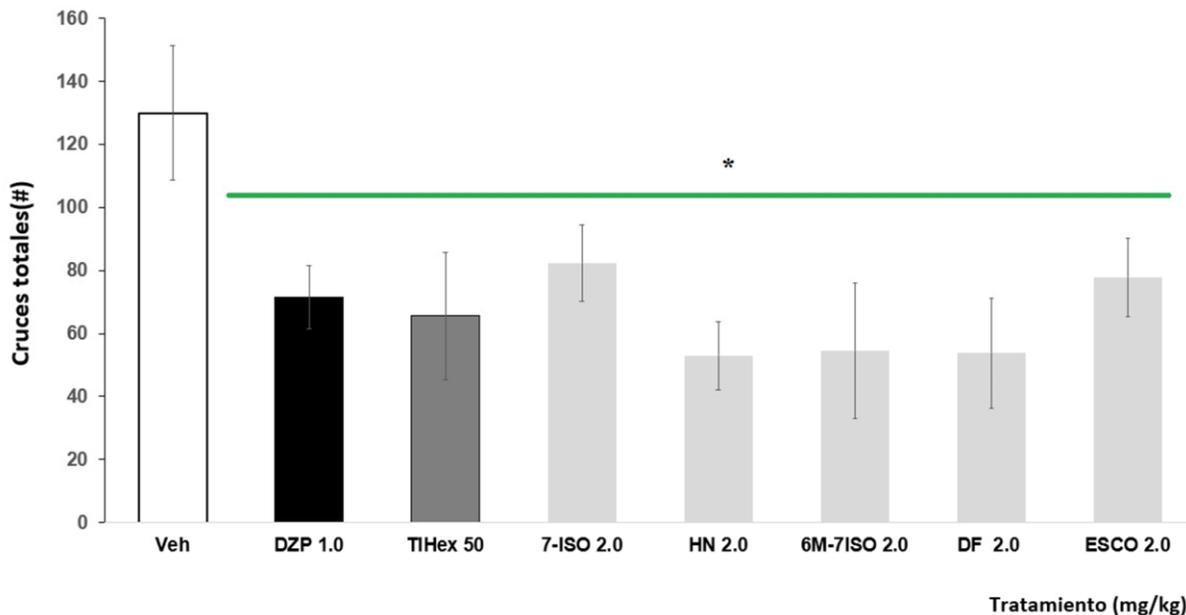
7.2.2 Efecto de cumarinas aisladas de *T. lucida* sobre la prueba de CA

Los animales fueron sometidos a la prueba de campo abierto (CA), en la que se midió la capacidad motora espontánea. El número de elevamientos verticales (R), en el grupo de animales que recibieron Veh tiene un valor de 33 eventos, mientras que el grupo que recibió DZP tienden a disminuir y llega hasta aproximadamente 5 eventos, lo cual fue estadísticamente diferente (* $p < 0.05$) La tendencia del extracto TIHex, HN, DF y ESCO, no modifican la conducta motora espontánea de los animales, cuando son comparados con el Veh ($p > 0.05$), sin embargo 7-ISO y 6M-7ISO son dos cumarinas que disminuyen, este parámetro de manera similar al DZP, y son estadísticamente diferentes al Veh (Gráfica 3, * $p < 0.05$)



Gráfica 4. Efecto del extracto hexánico (TIHex) y de las cumarinas: 7-isoprenilxicumarina (7-ISO), herniarina (HN), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (6M-7ISO), 6,7,8-trimetoxicumarina (DF) y escoparona (ESCO), sobre el número de elevamientos verticales (R) de los ratones expuestos al campo abierto (CA), ANOVA, post-prueba Bonferroni ($n=5$, $\bar{x} \pm DE$)

Los resultados del ensayo en CA, sobre el parámetro de cruces totales (CT) se señalan en la gráfica 4. El grupo de animales Veh, presentó un número de eventos de 99, mientras que el grupo con DZP disminuyó a un valor de 75, y el análisis estadístico indica diferencia entre ambos grupos (* $p < 0.05$). Los ratones que recibieron TIHex y sus cumarinas, muestran una tendencia similar al ansiolítico, es decir disminuyen los eventos respecto al Veh, todos estos grupos fueron diferentes al Veh (* $p < 0.05$).



Gráfica 5. Efecto del extracto hexánico (TIHex) y de las cumarinas: 7-isoprenilxicumarina (7-ISO), herniarina (HN), 6-metoxi-7-isopreniloxicumarina (6M-7ISO), 6,7,8-trimetoxicumarina (DF) y escoparona (ESCO), sobre el número de cruces totales (CT) de los ratones expuestos al campo abierto (CA), ANOVA, post-prueba Bonferroni ($n=5$, $\bar{x} \pm DE$)

8.-DISCUSIÓN.

Las cumarinas, unas benzo- α -pironas heterocíclicas y de estructura anular natural que poseen importantes propiedades farmacológicas, han atraído la atención de los investigadores y los químicos medicinales. Se han sintetizado muchos compuestos utilizando la estructura básica de la cumarina. Los diversos métodos sintéticos dieron lugar a la síntesis de importantes derivados de las cumarinas, que ofrecen una amplia gama de propiedades biológicas como antimicrobianas, anticancerígenas, antiinflamatorias, antioxidantes, antidiabéticas y antidepresivas que los convierten en potenciales candidatos a fármacos (Asghar *et al.*, 2021).

La especie *Tagetes lucida* es una planta medicinal mexicana que se utiliza para el tratamiento de los “nervios”, “susto” o estrés. Además, en el estado de Morelos, se utiliza para tratar desórdenes del sistema nervioso central. *Tagetes lucida* posee diversos compuestos, entre estos, podemos mencionar a las cumarinas, las cuales son responsables de varias de las actividades biológicas reportadas en esta especie (Pérez-Ortega *et al.*, 2016).

En 2011, Zhang y colaboradores informaron que los primeros minutos en la prueba de campo abierto implican un mayor componente de exploración de la novedad y el comportamiento de ansiedad inducido por el estrés en ratones. En el presente estudio, las cumarinas evaluadas en la prueba de campo abierto 7-ISO y 6M-7ISO, redujeron el comportamiento previamente descrito de exploración, de manera similar al fármaco depresor del SNC utilizado como control positivo diazepam, indicando una actividad sedante. Lo anterior se valida con aquellos resultados obtenidos de la prueba de laberinto elevado en forma de cruz, en donde se pudo observar que las cumarinas 7-ISO, 6M-7ISO y HN inducen un efecto ansiolítico al incrementar significativamente el parámetro de tiempo en los brazos abiertos a una dosis de 2 mg/kg, en comparación con el grupo Vehículo y a pesar de ser diferente al grupo de diazepam.

De acuerdo con los reportes químicos y farmacológicos de la especie *Tagetes lucida*, de los cuales se tiene evidencia de su acción como antiinflamatorio y antineuroinflamatorio; y que dichas acciones se pueden atribuir a su contenido de cumarinas, en el presente trabajo los efectos ansiolítico y sedativo encontrados, podrían estar estrechamente relacionados con las cumarinas (Monterrosas-Brisson *et al.*, 2019; Santibañez *et al.*, 2022) ya que se sabe que son capaces de actuar sobre el SNC e inducir tales actividades biológicas (Sinha S *et al.*, 2022). Por ejemplo, una hidroxycumarina simple (devenyol) y cuatro piranocumarinas (cis-quelactona, d-laserpitina, isolaserpitina y octanoilomatina) aisladas de *Seseli devenyense* Simonk, mostraron una actividad ansiolítica significativa en el modelo de larvas de pez cebra, en donde tal efecto fue definido como una disminución del tiempo de permanencia en los límites del espacio vital (también descrito como tigmotaxis invertida) (Widelski *et al.*, 2021). Así mismo, Randjelović y colaboradores (2020), evaluaron el efecto ansiolítico de tres derivados de la cumarina 4-(alkylamino)-3-nitrocumarina, que difieren en el sustituyente (sec-butilamino, hexadecilamino o

bencilamino) en la posición 4, en dosis de 25, 50 y 100 mg kg⁻¹. En este estudio emplearon modelos de sueño inducido por luz/oscuridad, campo abierto, alambre horizontal, utilizando ratones BALB/c macho. Sin embargo, a diferencia de los resultados que encontramos en el presente trabajo con *Tagetes lucida*, ellos encontraron que las tres cumarinas que evaluaron, mostraron un notable efecto de tipo ansiolítico. La 4-(sec-Butilamino)-3-nitro-2H-cromen-2-ona y la 4-(hexadecilamino)-3-nitro-2H-cromen-2-ona, pudieron reconocerse como verdaderos ansiolíticos en la dosis más baja aplicada, sobre la base de los tres ensayos, sin ejercer ningún efecto sedante (Randjelovic PJ *et al.*, 2020) y atribuyen tal efecto a que las tres cumarinas comparten el mismo núcleo 3-nitrocumarina. También González-Trujano y colaboradores (2019), demostraron el efecto antinociceptivo en compuestos bioactivos como la quercetagina-glucósido y la cumarina escoparona aislados de *Tagetes lucida* e indican que se relaciona a un efecto analgésico regulado a nivel de los receptores 5-HT(1A).

Se ha demostrado, recientemente que la 6,7,8-trimetoxicumarina (C-4) y la HN (C-2), son compuestos capaces de interactuar con el sistema de neurotransmisión dopaminérgico (y el glutamatérgico, en diferentes modelos etológicos que tienen como objetivo medir la conducta psicótica de los ratones (Porrás-Dávila *et al.*, 2021), por lo que es posible que la modulación de estos neurotransmisores (dopamina y glutamato), sea parte del mecanismo de acción de las dos cumarinas mencionadas y que también fueron evaluadas en el presente proyecto.

A pesar del gran número de tratamientos farmacológicos existentes para la depresión, la tasa de éxito de estos medicamentos no supera el 50-60%, lo que significa que al menos el 40% de los pacientes no responden al tratamiento inicial. Además, la mayoría de los fármacos para la depresión son mal tolerados debido a sus efectos secundarios adversos, que pueden incluir hipotensión, arritmias, insomnio, disfunciones sexuales y hepatotoxicidad. Por ello, existe un creciente interés en el estudio de los efectos antidepresivos de los extractos de hierbas y sus productos naturales (Wang *et al.*, 2019). En la actualidad, se sabe que las diferentes partes de las plantas de *Tagetes lucida* son empleadas como remedios para tratar diferentes problemas de salud entre estos, trastornos del sistema nervioso. Además, existen numerosos reportes farmacológicos que le atribuyen diversas actividades biológicas, en especial la ansiolítica y antidepresiva

(Salehi *et al.*, 2018). Por otro lado, se ha demostrado el efecto hepatoprotector en un modelo de daño indicado con tetracloruro de carbono (CCl₄) en ratas (El-Newary *et al.*, 2020), actividad que es importante resaltar, debido a que la hepatotoxicidad es uno de los efectos secundarios más recurrentes cuando se administran fármacos antidepresivos. En la prueba de natación forzada, se ha planteado la hipótesis de que el comportamiento de inmovilidad de los roedores cuando se les somete a un estrés inevitable e ineludible, refleja una desesperación conductual que, a su vez, puede guardar cierta relación con los trastornos depresivos en los seres humanos. Lo cual indica que existe una correlación significativa entre la potencia clínica y la eficacia de los antidepresivos en este modelo (Porsolt *et al.*, 1977).

El efecto antidepresivo del extracto acuoso (Guadarrama-Cruz *et al.*, 2008) hexánico, metanólico y de diclorometano (Guadarrama-Cruz *et al.*, 2012; Bonilla-Jaime *et al.*, 2015) de *Tagetes lucida* en ratas, así como en otro tipo de extractos y modelos animales (Pérez-Ortega *et al.*, 2016) fue reportado ya hace tiempo, en donde se empleó la prueba de natación forzada. En el presente trabajo de investigación, se evaluó el efecto antidepresivo del extracto hexánico y cinco cumarinas aisladas de la especie *Tagetes lucida*, empleando la prueba de natación forzada. Los resultados indican que el parámetro de tiempo de inmovilidad fue mayor en el grupo vehículo y que dicho parámetro reduce de manera significativa al administrar el fármaco antidepresivo fluoxetina y todos los tratamientos de *Tagetes lucida* ya mencionados. Sin embargo, es importante resaltar que las cumarinas 7-ISO y HN presentaron diferencias estadísticas significativas en comparación con este fármaco antidepresivo ya que el tiempo de inmovilidad reduce aún más.

La especie *Tagetes lucida* Cav. ha mostrado diversas actividades biológicas importantes que se relacionan con la presencia de algunos terpenos, flavonoides y cumarinas. En nuestro grupo de investigación, hemos reportado actividad antiinflamatoria (Monterrosas-Brisson *et al.*, 2019; Porras-Dávila *et al.*, 2022), neuroinflamatoria (Santibañez *et al.*, 2022) y el efecto sobre la catalepsia y conductas psicóticas como la esquizofrenia (Porras-Dávila *et al.*, 2022). Los resultados obtenidos en la presente investigación, serán un punto de partida importante para encaminar la investigación enfocada en realizar

estudios enfocados en el análisis los posibles mecanismos de acción que inducen especialmente las cumarinas 7-ISO y HN en la actividad antidepresiva y ansiolítica. Es necesario continuar con el estudio de los compuestos más activos, para tratar de elucidar el modo de acción que ejercen.

10.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Akhondzadeh, S. Naghavi, HR. Vazirian. M. Shayeganpour, A. Rashidi, H. Khani, M. 2001. Passionflower in the treatment of generalized anxiety: a pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam. *J Clin Pharmacol Ther.* 26(5):363-7.
2. Al-Majedy, YA. Al-Amiery, AA. Kadhum, AA. Mohamad, A. 2017. Antioxidant Activity of Coumarins, *Sys. Rev. Pharm.* 8:24–30.
3. Al-Majedy, YK. Al-Duhaidahawi, DL. Al-Azawi, KF. Al-Amiery, A.A. Kadhum, A.B. Mohamad, Coumarins as Potential Antioxidant Agents Complemented with Suggested Mechanisms and Approved by Molecular Modeling Studies, *Molecules* 21 (2016) 135.
4. Al-Tubuly, RA. Aburawi, SM. Alghzewi, EA. Gorash, ZM. Errwami, S. 2008. The effect of sympathetic antagonists on the antidepressant action of alprazolam. *Libyan J. Med.* 3:78–83.
5. Al-Warhi, T. Sabt, A. Elkaeed, EB. Eldehna, WM. 2020. Recent advancements of coumarin-based anticancer agents: An up-to-date review. *Bioorganic Chemistry*, 104163.
6. Amalraj, A. Pius, S. Gopi, S. 2016. Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives - A review, *J. Tradit. Complement. Med.* 7: 205–2
7. Amsterdam, JD. Li, Y. Soeller, I. Rockwell, K. Mao, JJ. Shults, J. 2009. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral *Matricaria recutita* (Chamomile) extract therapy for generalized anxiety disorder. *J Clin Psychopharmacol.* 29(4):378-82.
8. An, R. Hou, Z. Li, JT. Yu, HN. Mou, YH. Guo, C. 2018. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel 4-Substituted Coumarin Derivatives as Antitumor Agents. *Molecules.* 23:2281–2293.
9. Ando, T. Nagumo, M. Ninomiya, M. Tanaka, K. Linhardt, RJ. Koketsu, M. 2018. Synthesis of coumarin derivatives and their cytoprotective effects on t-BHP-induced oxidative damage in HepG2 cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 28:2422–2425.

10. Andreatini, R. Sartori, VA. Seabra, MLV. Leite, JR. 2002. Effect of valepotriates (valerian extract) in generalized anxiety disorder: a randomized placebo-controlled pilot study. *Phytother Res.* 16(7):650-4.
11. Araj-Khodaei, M. Noorbala, AA. Yarani, R. Emadi, F. Emaratkar, E. Faghihzadeh, S. Naseri, M. 2020. A double-blind, randomized pilot study for comparison of *Melissa officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Mill. with Fluoxetine for the treatment of depression. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1).
12. Asghar, H. Asghar, H. Asghar, T. 2021. A Review on Anti-urease Potential of Coumarins. *Curr Drug Targets.* 22(17):1926-1943.
13. Astin, JA. 1998. Why patients use alternative medicine: results of a national study. *JAMA.* 279(19):1548-53.
14. Bandelow, B. Werner, AM. Kopp, I. Rudolf, S. Wiltink, J. Beutel, ME. 2021. The german guidelines for the treatment of anxiety disorders: first revision. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience.* 272:571-582.
15. Bech, P. 2006. Rating scales in depression: limitations and pitfalls. *Dialogues Clin.Neurosci.* 8:207–215.
16. Beesdo, K. Pine, DS. Lieb, R. Wittchen, HU. 2010. Patrones de incidencia y riesgo de trastornos de ansiedad y depresión y categorización del trastorno de ansiedad generalizada. *Psiquiatría Arch Gen.* 67: 47–57.
17. Bellver-Abardía, R. 2019. Fisiopatología de la depresión: características principales. Lifereder. Recuperado de <https://www.lifereder.com/fisiopatologia-depresion/>.
18. Bhagat, K.Bhagat, J. Gupta, JMK. Singh, JV. Gulati, HK. Singh, A, Kaur, K. Kaur, G. Sharma, S. Rana, A. Singh, H. Sharma, S. Bedi, PMS. 2019. Design, Synthesis, Antimicrobial Evaluation, and Molecular Modeling Studies of Novel Indolinedione–Coumarin Molecular Hybrids. *ACS Omega.* 4:8720–8730.
19. Bisi, A. Cappadone, C. Rampa, A. Farruggia, G. Sargenti, A. Belluti, F. Di Martino, RMC. Malucelli, E. Meluzzi, A. Lotti S. Gobbi, S. 2017. Coumarin derivatives as potential antitumor agents: Growth inhibition, apoptosis induction and multidrug resistance reverting activity. *Eur. J. Med. Chem.* 127:577–585.
20. Bonilla-Jaime, H. Guadarrama-Cruz, G. Alarcon-Aguilar, FJ. Limón-Morales, O. Vazquez-Palacios, G. 2015. Antidepressant-like activity of *Tagetes lucida* Cav. is mediated by 5-HT(1A) and 5-HT(2A) receptors. *J Nat Med.* 69(4):463-70. 33.
21. Buol, M.Grassi, S. Serati, M.- Altamura, AC. 2017. Agomelatina para el tratamiento del trastorno de ansiedad generalizada Opinión del experto *Pharmacother.* (13): 1373-1379.

22. Calderón, M. 2018. Epidemiología de la depresión en el adulto mayor. *Rev. Med. Hered.*29: 182-191.
23. Chen, Z. y Skolnick, P. 2007. Triple uptake inhibitors: therapeutic potential in depression and beyond. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 16(9):1365–1377.
24. Chougala, BM. Samundeeswari, S. Holiyachi, M. Naik, NS. Shastri, LA. Dodamani, S. Jalalpure, S. Dixit, SR. Joshi, SD. Sunagar, VA. 2018. Green, unexpected synthesis of bis-coumarin derivatives as potent anti-bacterial and anti-inflammatory agents. *Eur. J. Med. Chem.* 143:1744–1756.
25. Cole, DA. Peeke, LG. Martin, JM., Truglio, R. y Seroczynski, AD. 1998. A longitudinal look at the relation between depression and anxiety in children and adolescents. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*. 66(3):451–460.
26. Cragg, GM. Newman, DJ. Snader, KM. 1997. Natural products in drug discovery and development. *J Nat Prod.* 60(1):52-60.
27. Domínguez, V. Collares, M Ormaechea, G. y Tamosiunas, G. 2016. Uso racional de benzodiacepinas: hacia una mejor prescripción. *Revista Uruguaya de Medicina Interna.* 1(3):14-24.
28. Drexler, B. Zinser, S. Hentschke, H. Antkowiak, B. 2010. Diazepam Decreases Action Potential Firing of Neocortical Neurons via Two Distinct Mechanisms. *Anesthesia & Analgesia*, 111(6), 1394–1399.
29. Eisenberg, DM. Davis, RB. Ettner, SL. Appel, S. Wilkey, S. van Rompay, M. Kessler, RC. 1998. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey. *JAMA.* 280(18):1569-75.
30. Eisenberg, DM. Kessler, RC. Foster, C. Norlock, FE. Calkins, DR. Delbanco, TL. 1993. Unconventional medicine in the United States: prevalence, costs and patterns of use. *N Engl J Med.* 328(4):246-53.
31. Elisabetsky, E. 2002. Traditional medicines and the new paradigm of psychotropic drug action. In: Iwu MM, Wootton J, editors. *Ethnomedicine and drug discovery*. Amsterdam: Elsevier Science BV; p.133-44. (Series 1 Advances in phytomedicine).
32. Ernst, E. 2007. A re-evaluation of kava (*Piper methysticum*). *Br J Clin Pharmacol.* 64(4):415-7.
33. Fajemiroye, JO. DaSilva, DM. DeOliveira, DR. Costa, IA. 2016. Treatment of anxiety and depression: medicinal plants in retrospect, *Fundam. Clin. Pharmacol.* 30:198–215.

34. Fernández-López, O. Jiménez-Hernández, B. Regla, B. Almirall, A. Sabina-Molina, S y Cruz-Navarro, JR. 2012. Manual para diagnóstico y tratamiento de trastornos ansiosos. *MediSur*. 10(5):466-479.
35. Fontanarosa, PB. y Lundberg, GD. 1998. Alternative medicine meets science. *JAMA*. 280(18):1618-9.
36. Galeotti, N. 2017. *Hypericum perforatum* (St John's wort) beyond depression: A therapeutic perspective for pain conditions. *Journal of Ethnopharmacology*. 200:136–146.
37. Gastpar, M. y Klimm, HD. 2003. Treatment of anxiety, tension and restlessness states with kava special extract WS 1490 in general practice: a randomized placebo-controlled double-blind multicenter trial. *Phytomedicine*. 10(8):631-9.
38. Gottschalk, MG. y Domschke, K. 2016. Novedosos desarrollos en los mecanismos genéticos y epigenéticos de la ansiedad. *Psiquiatría Curr Opin*. 29: 32–38.
39. Gross, G. y Gass, P. 2008. Dopamine receptor 3 (D3) knockout mice show regular emotional behaviour, *Pharmacol. Res*. 58:302–307.
40. Guadarrama-Cruz, G. Alarcón-Aguilar, FJ. Vega-Ávila, E. Vázquez-Palacios, G. Bonilla-Jaime, H. 2012. Antidepressant-Like Effect of *Tagetes lucida* Cav. Extract in Rats: Involvement of the Serotonergic System. *The American Journal of Chinese Medicine*, 40(04):753–768.
41. Guadarrama-Cruz, G., Alarcon-Aguilar, F.J., Lezama-Velasco, R., Vazquez-Palacios, G., Bonilla-Jaime, H., 2008. Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test. *J. Ethnopharmacol*. 120, 277-281.
42. Gulati, HK. Bhagat, K. Singh, A. Kumar, A. Kaur, A. Sharma, S. Heer, H. Singh, JV. Singh, Bedi, PMS, 2020. Design, synthesis and biological evaluation of novel indolinedione–coumarin hybrids as xanthine oxidase inhibitors. *Med. Chem. Res*. 29:1632–1642.
43. Guo, YY. Wang, YH. Li, HK. Wang, K. Wan, QJ. Li, JY. Zhou, YY. Chen, Y. 2018. Novel nNitric oXide dDonors of pPhenylsulfonylfuroxan and 3-bBenzyl cCoumarin dDerivatives as pPotent aAntitumor aAgents., *ACS. Med. Chem. Lett*. 9: (2018) 502–506.
44. Hassan, MZ. Osman, H. Ali, MA. Ahsan, MJ. 2016. Therapeutic potential of coumarins as antiviral agents. *Eur. J. Med. Chem*. 123:236–255.
45. Heerlein, Andrés. 2002. Tratamientos farmacológicos antidepresivos. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 40(Supl. 1), 21-45. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272002000500003>
46. Herrera-Arellano, A. Jiménez-Ferrer, E. Zamilpa, A. Morales-Valdéz, M. García-Valencia, CE. Tortoriello, J. 2007. Efficacy and tolerability of a standardized herbal product from

- Galphimia glauca on generalized anxiety disorder. A randomized, double-blind clinical trial controlled with lorazepam. *Planta Med.* 73(8):713-7.
47. Hidalgo, RB. Tupler, LA. Davidson, JR. 2007. An effect-size analysis of pharmacologic treatments for generalized anxiety disorder. *J Psychopharmacol.* 21(8):864-72.
48. Hosseini, M. Boskabady, M. Neamati, A. Chaman, F. 2014. The effects of *Valeriana officinalis* L. hydro-alcoholic extract on depression like behavior in ovalbumin sensitized rats. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences.* 6(2):97.
49. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tagetes-lucida/fichas/ficha.htm>, Heike Vibrans (Ed.), 2009, Malezas de México, 30 de enero del 2021.
50. Hu, YY. Shen, YX. Wu, XX. Tu, X. Wang, GX. 2018. Synthesis and biological evaluation of coumarin derivatives containing imidazole skeleton as potential antibacterial agents. *Eur. J. Med. Chem.* 143:958-969.
51. Jiang, N. Huang, Q. Liu, J. Liang, N. Li, Q. Li, Q. Xie, SS. 2018. Design, synthesis and biological evaluation of new coumarin-dithiocarbamate hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* 146:287–298.
52. Juvonen, R. Novák, F. Emmanouilidou, E. Auriola, S. Timonen, J., Heikkinen, A., Raunio, H. 2019. Metabolism of Scoparone in Experimental Animals and Humans. *Planta Medica.* 85(6):453-464.
53. Kahveci, B. Yılmaz, F. Mentеше, E. Ülker, S. 2017. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Coumarin-Triazole Hybrid Molecules as Potential Antitumor and Pancreatic Lipase Agents. *Arch Pharm (Weinheim).* 350(8); e1600369.
54. Kasper, S. Müller, WE. Volz, HP. Möller, HJ. Koch, E. Dienel, A. 2018. Silexan en trastornos de ansiedad: datos clínicos y antecedentes farmacológicos. *Psiquiatría mundial J Biol.* 19 (6): 412-420.
55. Kasperkiewicz, K. Ponczek, MB. Budzisz, E. 2018. A biological, fluorescence and computational examination of synthetic coumarin derivatives with antithrombotic potential. *Pharmacol. Rep.* 70:1057–1064.
56. Kaur, A. Garg, S. Shiekh, BA. Singh, P. Bhatti, R. 2020. In silico studies and in vivo MAO_A inhibitory activity of coumarins isolated from *Angelica archangelica* extract: an approach toward antidepressant activity. *ACS Omega.* 5(25):15069-15076.
57. Klauke, B. Deckert, J. Reif, A. Pauli, P. Domschke, K. 2010. Acontecimientos de la vida en el trastorno de pánico: una actualización sobre los "posibles factores de estrés" Depime la ansiedad. *Biomedica.* 27: 716–730.

58. Lehri, S. 2004. Clinical efficacy of kava extract WS 1490 in sleep disturbance associated with anxiety disorders. Results of a multicenter randomized placebo-controlled double-blind clinical trial. *J Affect Disord.* 78:101-10.
59. Leichsenring, F. Salzer, S. Beutel, ME. Herpertz, S. Hiller, W. Hoyer, J. Huesing, J. Joraschky, P. Nolting, B. Poehlmann, K. Ritter, V. Stangier, U. Strauss, B. Stuhldreher, N. Tefikow, S. Teismann, T. Willutzki, U. Wiltink, J. Leibing, E. 2013. Terapia psicodinámica y terapia cognitivo-conductual en el trastorno de ansiedad social: un ensayo controlado aleatorio multicéntrico. *Am J Psiquiatría.*170 (7):759-67.
60. Li, JY. Cao, HY. Sun, L. Sun, RF. Wu, C. Bian, YQ. Dong, S. Liu, P. Sun, MY. 2017. Therapeutic mechanism of Yīn-Chén-Hāo decoction in hepatic diseases. *World J Gastroenterol.* 23:1125–1138.
61. Li, Y. Zhu, ZR. Ou, BC. Wang, YQ. Tan, ZB. Deng, CM. 2015. Dopamine D2/D3 but not dopamine D1 receptors are involved in the rapid antidepressant-like effects of ketamine in the forced swim test, *Behav. Brain. Res.* 279:100–105.
62. Luna, M. Hamana, ZL. Colmenares, YC. Maestre, CA. 2001. Ansiedad y Depresión. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica.* 20(2):111-122..
63. Maisch, U. Kieser, M. 2001. Efficacy of kava-kava in the treatment of non-psychotic anxiety, following pretreatment with benzodiazepines. *Psychopharmacology (Berl).* 157(3):277-83.
64. Maneeton, N. Maneeton, B. Woottiluk, P. Likhitsathian, S. Suttajit, S. Boonyanaruthee, V. Srisurapanont, M. 2016. Quetiapine monotherapy in acute treatment of generalized anxiety disorder: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Drug Design. Development and Therapy,* 259.
65. Manji, HK. Drevets, WC. y Charney, DS. 2001. The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine.* 7(5): 541–547.
66. Mao, JJ. Xie, SX. Keefe, JR. Soeller, I. Li, QS. Amsterdam, JD. 2016. Long-term chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) treatment for generalized anxiety disorder: A randomized clinical trial. *Phytomedicine.* 23(14):1735-1742.
67. Martins, J. y Brijesh, S. 2018. Phytochemistry and pharmacology of antidepressant medicinal plants : A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 104:343–365.
68. Medina, J. 2004. Efectos secundarios de los antidepresivos. *Vigilia-Sueño.* 16(S1):48-57.
69. Meneses, A. 1999. 5-HT system and cognition. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23:1111–1125.
70. Menezes, JC. Diederich, M. 2019. Translational role of natural coumarins and their derivatives as anticancer agents. *Future Medicinal Chemistry.* 11(9): 1057-1082.

71. Monterrosas-Brisson, N. Herrera-Ruiz, M. Jiménez-Ferrer, JE., Bahena-Pérez, R. Avilés-Flores, M. Fuentes-Mate, M. Martínez-Duncker, I. González-Cortazar, M. 2019. Anti-inflammatory activity of coumarins isolated from *Tagetes lucida* Cav. *Nat. Prod. Res.* 1–5.
72. Mourenza-González, L. 2017. *Passiflora* en el tratamiento de la ansiedad y el insomnio. Recuperado Tesis de Doctorado, Facultad de Farmacia Universidad Complutense.
73. Mu, C. Wu, M. Li, Z. 2019. Anti-inflammatory effect of Novel 7-substituted coumarin derivatives through inhibition of NF- κ B signaling pathway. *Chem. Biodivers.* 16:e1800559.
74. Nagamallu, R, Srinivasan, B. Ningappa, MB. Kariyappa, AK. 2016. Synthesis of novel coumarin appended bis(formylpyrazole) derivatives: Studies on their antimicrobial and antioxidant activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26: 690–694.
75. National Institute of Mental Health. 2021. Eating Disorders. Obtenida el 3 de diciembre de 2022 de <https://www.nimh.nih.gov/health/publications/espanol/depression-sp>
76. National Institute on Drug Abuse. 2023. Benzodiazepines and Opioids. Obtenida el 11 de Marzo de 2023 de <https://nida.nih.gov/research-topics/opioids/benzodiazepines-opioids>
77. OMS. CIE-11. <https://icd.who.int/dev11/l-m/en> consultado el 8 de Agosto del 2022.
78. OMS. Depresión y otros trastornos mentales comunes: estimaciones de salud mundial. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; (2017). Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. (<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf;jsessionid=829EAD6A4E0473EBDE28F4FD23B8D556?sequence=1>).
79. Organización Mundial de la Salud 2017. Depresión. Recuperado el 5 de octubre del 2021 de: <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs369/es>
80. Overstreet, DH. Stemmelin, J. Griebel, G. 2008. Confirmation of antidepressant potential of the selective beta 3 adrenoceptor agonist amibegron in an animal model of depression, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 89:623–626.
81. Pedersen, ME. Szewczyk, B. Stachowicz, K. Wieronska, J. Andersen, J. Stafford, G.I. 2008. Effects of South African traditional medicine in animal models for depression. *J. Ethnopharmacol.* 19:542–548.
82. Peperidou, S. Bua, M. Bozdog, D. Hadjipavlou-Litina, S. 2018. Novel 6- and 7- Substituted Coumarins with Inhibitory Action against Lipoxygenase and Tumor Associated Carbonic Anhydrase IX. *Molecules.* 23:153-171.
83. Pérez-Ortega, G. González-Trujano, ME. Ángeles-López, GE. Brindis, F. Vibrans, H. y Reyes-Chilpa, R. 2016. *Tagetes lucida* Cav.: Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of its tranquilizing properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 181:221–228.

84. Polanco, LA, Vargas, C. y Góngora, IME. 2011. Modelos animales: una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad. *Suma Psicológica*, 18(2):99-110.
85. Porras-Dávila, SL. González-Cortazar, M. Jiménez-Ferrer, E. Román-Ramos, R. Bello-Peralta, C. Martínez-Hernández, GB. Zamilpa, A. Herrera-Ruiz, M. 2022. Isolation, chemical characterization, and anti-inflammatory activity of coumarins, flavonoids, and terpenes from *Tagetes lucida*. *Nat Prod Res*. 36(18):4751-4756.
86. Porras-Dávila, SL. Jiménez-Ferrer, E. Román-Ramos, R. González-Cortazar, M. Almanza-Pérez, JC. Herrera-Ruiz, M. 2022. Herniarin, Dimethylfraxetin and Extracts from *Tagetes lucida*, in Psychosis Secondary to Ketamine and Its Interaction with Haloperidol. *Plants (Basel)*. 11(20):2789.
87. Porsolt, RD. Le Pichon, M. y Jalfre, M. 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 266: 730–732..
88. Rahim, T. y Rashid, R. 2017. Comparison of depression symptoms between primary depression and secondary-to-schizophrenia depression. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*, 21(4);314–317.
89. Rakel, RE. 1999. Depression. Primary Care: Clinics in Office Practice, 26(2): 211–224.
90. Randjelović, PJ. Radulović, NS. Stojanović, NM. Dekić, VS. Dekić, BR. Stojiljković, NI. Ilić, SM. 2020. Anxiolytic-Like Action of Selected 4-(Alkylamino)-3-nitrocoumarin Derivatives in BALB/c Mice. *Chem Biodivers*. 17(6):e2000206.
91. Ren, LX. Luo, YF. Li, X. Zuo, DY. Wu, YL. 2006. Antidepressant-like effects of Sarsasapogenin from *Anemarrhena asphodeloides* BUNGE (Liliaceae). *Biol. Pharm. Bull*. 29:2304–2306.
92. Rezaee, R. Behravan, E. Behravan, J. Soltani, F. Naderi, Y. Emami, B. Iranshahi, M. 2014. Antigenotoxic activities of the natural dietary coumarins umbelliferone, herniarin and 7-isopentenylxy coumarin on human lymphocytes exposed to oxidative stress. *Drug and Chemical Toxicology*. 37(2):144–148.
93. Robinson, NB. Krieger, K. Khan, F. Huffman, W. Chang, M. Naik, A. Gaudino, M. 2019. The Current State of Animal Models in Research: A Review. *International Journal of Surgery*. 72:9-13.
94. Romero-Cerecero, O. Islas-Garduño, AL. Zamilpa, A. Pérez-García, MD. Tortoriello, J. 2018. Therapeutic Effectiveness of *Galphimia glauca* in Young People with Social Anxiety Disorder: A Pilot Study. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018:1716939.

95. Rzedowski, GC. J. Rzedowski y colaboradores, 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a. Ed., 1a reimp., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), México. pp 1406.
96. Sakakibara, H. Yoshino, S. Kawai, Y. Terao, J. 2008. Antidepressant-like effect of onion (*Allium cepa* L.) powder in a rat behavioral model of depression. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72:94–100.
97. Salehchah, M. Safari, O. Khodayar, MJ. Mojiri-Forushani, H. Cheki, M. 2020. The protective effect of herniarin on genotoxicity and apoptosis induced by cisplatin in bone marrow cells of rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 1–6.
98. Salehi, B. Valussi, M. Morais-Braga, MFB. Carneiro, JNP. Leal, ALAB. Coutinho, HDM. Vitalini, S. Kręgiel, D. Antolak, H. Sharifi-Rad, M. Silva, NCC. Yousaf, Z. Martorell, M. Iriti, M. Carradori, S. Sharifi-Rad, J. 2018. Tagetes spp. Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity. *Molecules.* 23(11):2847
99. Salk, RH. Hyde, JS. y Abramson, LY. 2017. Gender differences in depression in representative national samples: Meta-analyses of diagnoses and symptoms. *Psychological Bulletin.* 143(8): 783–822.
100. Santibáñez, A. Herrera-Ruiz, M. González-Cortazar, M. Nicasio-Torres, P. Sharma, A. Jiménez-Ferrer, E. 2022. Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Coumarins from *Tagetes lucida* in an LPS-Induced Neuroinflammation Model. *Plants (Basel).* 11(21):2805.
101. Schildkraut, JJ. 1965. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am. J. Psychiatry.* 122:609–622.
102. Selvi, PT. Kumar, MS. Rajesh, R. Kathiravan, T. 2012. Antidepressant activity of ethanolic extract of leaves of *Centella asiatica* Linn. by *In vivo* methods. *Asian J. Pharm.* 2:76–79.
103. Shane-McWhorter, L. 2020. Kava (*Piper methysticum*). Consultado el 8 de julio del 2020, de PharmD, University of Utah College of Pharmacy Sitio web: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/temas-especiales/suplementos-diet%C3%A9ticos/kava-piper-methysticum>
104. Shen, FQ. Wang, ZC. Wu, SY. Ren, SZ. Man, RJ. Wang, BZ. Zhu, HL. 2017. Synthesis of novel hybrids of pyrazole and coumarin as dual inhibitors of COX-2 and 5-LOX. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 27:3653–3660.
105. Shu, YZ. 1998. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *J Nat Prod.* 61(8):1053-71.

106. Singh, A. Singh, JV. Rana, A. Bhagat, K. Gulati, HK. Kumar, R. Salwan, R. Bhagat, K. Kaur, G. Singh, N. Kumar, R. Singh, H. Sharma, S. Bedi, PMS. 2019. Monocarbonyl Curcumin-Based Molecular Hybrids as Potent Antibacterial Agents. *ACS Omega*. 4(7):11673-11684.
107. Singh, H. Singh, JV. Bhagat, K. Gulati, HK. Sanduja, M. Kumar, N. Kinarivala, N. Sharma, S. 2019. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for therapeutic coumarin hybrids. *Bioorg. Med. Chem.* 27:3477–3510.
108. Singh, SK. Barreto, GE. Aliev, G. Echeverria, V. 2017. *Ginkgo biloba* as an Alternative Medicine in the Treatment of Anxiety in Dementia and other Psychiatric Disorders. *Curr Drug Metab.* 18(2):112-119.
109. Sinha, S. Singh, K. Ved, A. Hasan, SM. Mujeeb, S. 2022. Therapeutic Journey and Recent Advances in the Synthesis of Coumarin Derivatives. *Mini Rev Med Chem.* 22(9):1314-1330
110. Stahl, SM. Grady, MM. 2003 Differences in mechanism of action between current and future antidepressants. *The Journal of Clinical Psychiatry.* 64(Suppl 13):13–17.
111. Stahl, SM. Grady, MM. Moret, C. Briley, M. 2005. SNRIs: their pharmacology, clinical efficacy, and tolerability in comparison with other classes of antidepressants. *CNS Spectr.* 10(9):732-47.
112. Tawakol, A. Ishai, A. Takx, RA.Figueroa, AL. Ali, A. Kaiser, Y. Truong, QA. Solomon, CJ. Calcagno, C. Mani, V. Tang, C. Mulder, WJ. Murrough, JW. Hoffman, U. Nahrendorf, M. Shin, LM. Fayad, ZA. Pitman, RK. 2017. Relation between resting amygdalar activity and cardiovascular events: a longitudinal and cohort study. *Lancet.* 389:834–845.
113. Thalita, F. Almeida, T. Batista, R. y Andreatini, R. 2010. Plantas medicinales en el tratamiento del trastorno de ansiedad generalizada: revisión de estudios clínicos controlados. *Brazilian Journal of Psychiatry,* 32(4):429-436.
114. Trastorno bipolar. (s. f.-c). National Institute of Mental Health (NIMH). <https://www.nimh.nih.gov/health/publications/espanol/trastorno-bipolar>
115. Unützer, J. Klap, R. Sturn, R. Young, AS. Marmon, T. Shatkin, J. Wells, KB. 2000. Mental disorders and the use of alternative medicine: results from a national survey. *Am J Psychiatry.* 157(11):1851-7.

116. Verónico-Sánchez, FJ. Elizalde-Solis, O. Zamilpa, A. García-Morales, R. Pérez-García, MD. Jiménez Ferrer, JE. Tortoriello, J. 2020. Extraction of Galphimines from *Galphimia glauca* with Supercritical Carbon Dioxide. *Molecules*, 25(3):477.
117. Villar del Fresno, AM. y Carretero, ME. 2001. *Valeriana officinalis*. Fitoquímica, farmacología y terapéutica. *Farmacia Profesional* 15:98-107.
118. Volz, HP. Kieser, M. 1997. Kava-kava extract WS 1490 versus placebo in anxiety disorders – a randomized placebo-controlled 25-week outpatient trial. *Pharmacopsychiatry*.30(1):1-5.
119. Wang, YS. Shen, CY. Jiang, JG. 2019. Antidepressant active ingredients from herbs and nutraceuticals used in TCM: pharmacological mechanisms and prospects for drug discovery. *Pharmacol Res.* 150:104520.
120. Wesółowska, A. Nikiforuk, A. Stachowicz, K. Tatarczyńska, E. 2006. Effect of the selective 5-HT₇ receptor antagonist SB 269970 in animal models of anxiety and depression. *Neuropharmacology*. 51:578–586.
121. Wesółowska, A. Nikiforuk, A. y Stachowicz, K. 2006. Potential anxiolytic and antidepressant effects of the selective 5-HT₇ receptor antagonist SB 269970 after intrahippocampal administration to rats. *European Journal of Pharmacology*. 553(1-3):185–190.
122. Widelski, J. Luca, SV. Skiba, A. Maciąg, M. Budzyńska, B. Marcourt, L. Wolfender, JL. Skalicka-Woźniak, K. 2021. Coumarins from *Seseli deventyense* Simonk.: Isolation by Liquid-Liquid Chromatography and Potential Anxiolytic Activity Using an *In Vivo* Zebrafish Larvae Model. *Int J Mol Sci.* 12;22(4):1829.
123. Woelk, H., Arnoldt, KH., Kiesser, M., Hoerr, R. 2007. *Ginkgo biloba* special extract EGb 761® in generalized anxiety disorder and adjustment disorder with anxious mood: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Psychiat Res.* (2007);41(6):472-80.
124. World Health Organisation, WHO Traditional Medicine Strategy vol. 54, (2013), pp. (2014–2023).
125. X.Y. Lu, XY. Z.C. Wang, ZC. S.Z. Ren, SZ. F.Q. Shen, FQ. R.J. Man, R.J. H.L. Zhu, HL. 2016. Coumarin sulfonamides derivatives as potent and selective COX-2 inhibitors with efficacy in suppressing cancer proliferation and metastasis., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26: (2016) 3491–3498.
126. Xie, SS. Lan JS. Wang, X. Wang, ZM. Jiang, N. Li, F. Wu, JJ. Wang, J. Kong, LY. 2016. Design, synthesis and biological evaluation of novel donepezil-coumarin hybrids as

- multi-target agents for the treatment of Alzheimer's disease, *Bioorg. Med. Chem.* 24:1528–1539.
127. Yamahara, J., Kobayashi, G., Matsuda, H., Katayama, T., Fujimura, H. 1989. The effect of scoparone, a coumarin derivative isolated from the Chinese crude drug *Artemisiae capillaris* flos, on the heart. *Chem Pharm Bull* (Tokyo), (1989); 37: 1297–1299.
128. Yoo-Sun, M. Jun-Sub, J. Eun-Mi, A. Nam-In, B. Dong-Keun, S. 2004. Protection against Beta-amyloid peptide-induced memory impairment with long-term administration of extract of *Angelica Gigas* or decursinol in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry.* 28(1):25-30.
129. Young, SN. Leyton, M. (2002). The role of serotonin in human mood and social interaction. Insight from altered tryptophan levels. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 71:857–865.
130. Yu, ZF. Kong, LD. Chen, Y. (2002). Antidepressant activity of aqueous extracts of *Curcuma longa* in mice., *Journal of Ethnopharmacology.* 83:161–165.
131. Zhang, HL. Zhang, QW. Zhang, XQ. Ye, WC. Wang, YT. (2010). Chemical constituents from the roots of *Morinda officinalis*. *Chinese Journal of Natural Medicines.* 8(3):192-195.
132. Zhang, JH. Xin, HL. Xu, YM. Shen, Y. He, YQ. Yeh, H. Lin, B. Song, HT. Liu, J. Yang, HY. Qin, LP. Zhang, QY. Du, J. 2018. *Morinda officinalis* How. A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 213: 230-255.
133. Zhang, R. Ji, Y. Zhang, X. Kenelly, EJ. Long, C. 2020. Ethnopharmacology of *Hypericum* species in China: A comprehensive review on ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology.* 254:112686.
134. Zhang, Y., Ren, L., Min, S., Lv, F., Yu, J. 2021. Effects of N-Methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II α (CaMKII α) on learning and memory impairment in depressed rats with different charge by modified electroconvulsive shock. *Ann Transl Med.* 2021 (16):1320.
135. Zhu, JJ. Jiang, JG. 2018. Pharmacological and nutritional effects of natural coumarins and their structure-activity relationships. *Mol. Nutr. Food. Res.* 62:e1701073.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos a 17 de noviembre de 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta el Pasante de Biólogo: **C. TADEO QUETZAL LEZAMA ZAVALA**, con el título del trabajo: **Efecto ansiolítico y antidepresivo de cumarinas aisladas de *Tagetes lucida***

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis Profesional por Etapas como lo marca el artículo 26° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DR. JESÚS ENRIQUE JIMÉNEZ FERRER

SECRETARIO: DRA. SUSANA VALENCIA DÍAZ

VOCAL : DRA. NAYELI MONTERROSAS BRISSON

SUPLENTE: DR. MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR

SUPLENTE: DRA. GABRIELA BELEN MARTÍNEZ HERNÁNDEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

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

SUSANA VALENCIA DIAZ | Fecha:2023-11-21 07:09:45 | Firmante

XrIYXa8BRvPQ92xShatk+LwhRtpE7p18whP979IuSPkYAQ11TwUotw211JcmjTyqekBuyIDRos9TAG6iv3n7JGEdsOCNadsa0IU9R2b2gzgS0440Av28M3JMyNwLXyjTdyCN8WxwsgjPUI94LxJpacu0BE9A4w1Nx8Y/shV8BAxa4xxUcvl76y2Xgk5jwl+3istWYCOClTQSi9ewLyZNNp1RgXLtwT3m3rlhRf+LBo02SiUdce0Y58ajlHXE0pcA1CGkzqq8CNOFvlgNYftWal1Yr1N6t3g+BxBE1x5aOK9PXff01F6JvKmzzBx0oV0RLSQtXND9JwsVz3ZkhACA==

NAYELI MONTERROSAS BRISSON | Fecha:2023-11-21 18:42:12 | Firmante

euDTeZJU0DvNdK2ejT6a9PQ/Uig7KXJdLAucVNRReGclXOOHEBZ8Ju6vXcyQwhg701x0WTzCvz9upQedOL3zXgSI/kxFriic6UzDNNGWSfYFzS9FInx3oAWyRE7skhHLBUQ5b pSUwe+2vLu0lFSZK1phN8Nh51ogkBPpwharAVQ3UdbiSYi8WKApgixCVQVih3ZFIHJN29nVCDPhRR5F/3WTej5JPiwxdaltWgz3PJx/Dkk+Z4nZQ3+dIAvhyO+AkHEgilis8k5XJA WtWMr5cZguuJjr7cQFdw+dnqpQymZ3TYN4na4HctDYmo8JgMoVCr3+uVktk1Ud1aDiecuqg==

GABRIELA BELEN MARTÍNEZ HERNÁNDEZ | Fecha:2023-11-21 19:27:06 | Firmante

m1vXJGnM8tDiseWKLJUJZ+Vhyuu66JzqaRPJIVfVTQMHCRCkKgJCAAFymyz2mAMrSDKr/VJ4GLVX4erwLoL/sC1H/sCQksY5gHXkt16Pao9V3sowWaY94yo9K65Z3+8TnPd3 BQ+Fpyke2Wtp6Mnd6mQ5dfM6H2WUf5/G6+ISJYnN7QzZ+2R9TWqUedeo4JoX7cKcdITu4EM5bM0Oc2JInvktRHBalQUdTFfVxBc64cqeKYOCXGEiRCYukzda+I2SITCVND TX8/k1qOafEPgosD5BAGRuNqmohz5JJwrjZebnWcngbgh/xLOCNMwEYCSPR2vmW1Ydwy6JBlNfwQ==

MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR | Fecha:2023-11-21 19:34:00 | Firmante

h0UTjdbf5e5Su+5zBJu0rDRBI0UFHeD0/eauGJN7I+mxYO/5mbt8jnHxZkW+wcb13TioVBNaSYOV0npPRwI8XRBoeC8dhrDOgN6V4a3GGTVkbVX0AonrhxlQcPwSLd7EmbfZb9 4kA8MmU+K37fKSW7MtJMFd8nlm62zLk15yVvKHokTWSy/7BZ/namvrrO/olJPwcdZ8Hhi5bVpHKji7xejRFLlKlGUnTdxQlZAZ1M91V7SAPeSWYwXw9UPMnRwG+3Ks6x1Rli+9 W2WCVDI250/DDvww2/NOwM7+BxtsD6S1ruisPI6iYpZOIOPEjhwVt1ijfvkXQyXsexclvQ==

JESUS ENRIQUE JIMENEZ FERRER | Fecha:2023-11-22 08:51:12 | Firmante

sDW8NTf+ydd/k+r5NYeih8g5UD/QOSfL0tsBIS/tF92EQMk59HIWSsug7iid2eD9FFUWhWwkt5xkjE796cAITH4SeYqwMh6XIfZYKR/RP/t/4qJ9ZojLYDVuAq3Z+yMKm0lxcYd4FoNj ckPSh70sj5f3ECHuKpW3pVtaCI7LJJyb7nw3y46+H1s9AXh78aqYwC2kwJQ0o9dAlhulxXrNg9Pp5sZdect4c1Z7hFtsK8STek4QQZ7Y3Avbq4tk5lcA6dMGxbL1ZfXMS5zc7EzcgZ4 ODWAIYnm+H7P+n0+47OPp7WzQ4wuJgeS7TY5GWLzypQO2jCx/HRh+aLkt/d6Q==

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



eKIVH8gMB

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/7oL5TbxlSzaqy1zDZ9G8lGvq3c5aPzqt>

