

51



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

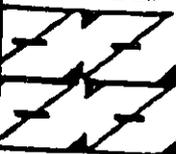
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NEUROFARMACOLÓGICA
EN RATONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA
RAÍZ DE *Valeriana edulis* ssp. *procera* OBTENIDA
POR MICROPROPAGACIÓN.

290842

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A:
IVÁN OLIVA GONZÁLEZ

DIRECTOR : Dr. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO

N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO HUMANO ES
NUESTRA REFLEXIÓN

MÉXICO, D. F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: M. en C. Amada López García.

VOCAL: Dr. Andrés Navarrete Castro.

SECRETARIO: Q.F.I. Estela Valencia Plata.

SUPLENTE: M. en C. Valentín Islas Pérez.

SUPLENTE: Dra. Mabel Clara Frago Serrano.

Este trabajo de tesis fue realizado en las instalaciones del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Andrés Navarrete Castro.

Este trabajo fue financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del proyecto IN 212300 y por los Laboratorios Mixim S. A. de C. V.

SUSTENTANTE: Iván Oliva González.

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Andrés Navarrete Castro.

Los resultados de esta investigación se presentaron en el XXIII Congreso Nacional de Farmacología, celebrado en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México del 5 al 9 de Marzo del 2000.

Oliva I., Sánchez ME., Enciso R., Ebrard J. y Navarrete A.

“Evaluación de la actividad neurofarmacológica del extracto etanólico de *Valeriana edulis* ssp. *procera* en ratones”. XXIII Congreso Nacional de Farmacología. Universidad Autónoma de Chiapas.

Se agradece al Ingeniero Jorge Ebrard por el apoyo financiero otorgado para la participación de este trabajo en la sección de trabajos libres en el XXIII Congreso Nacional de Farmacología, así como también para la realización del proyecto mismo.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.	1
I. INTRODUCCIÓN.	2
II. FUNDAMENTO TEÓRICO.	4
2. Plantas con actividad sobre el SNC.	4
2.1. Ginseng.	4
2.2. Almiscele.	5
2.3. Barberry.	5
2.4. Betónica.	6
2.5. Lavándula.	6
2.6. Amapola.	7
2.7. Marihuana.	8
2.8. Flor de pasión.	8
2.9. Nuez moscada.	9
2.10. FO-TI.	10
2.11. kava-kava.	10
2.12. Chamomila.	11
2.13. <i>Nerium oleander</i> .	12
3. Antecedentes del género Valeriana.	12
3.1. Constitución química.	13
3.2. Farmacología.	17
3.3. Ensayos clínicos.	18
3.4. Preparaciones fitofarmacéuticas.	19
3.5. Toxicología.	20
4. Generalidades de <i>Valeriana edulis</i> .	21
4.1. Descripción.	21
4.2. Constitución química.	21
4.3. Actividad biológica.	20
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	23
IV. HIPÓTESIS.	25
V. OBJETIVOS.	26
5.1. Objetivo general.	26
5.2. Objetivos particulares.	26

VI. MATERIAL Y MÉTODOS.	27
6.1. Material vegetal.	27
6.2. Preparación del extracto.	27
6.3. Animales.	27
6.4. Fármacos y dosis.	28
6.5. Efecto anticonvulsionante.	28
6.6. Efecto potencial de hipnosis inducido por pentobarbital sódico.	28
6.7. Efecto sobre la coordinación motora: Prueba de rota-rod.	29
6.8. Efecto sobre la relajación muscular: Prueba de tracción.	29
6.9. Efecto sobre la depresión del SNC: Ptosis palpebral.	29
6.10. Efecto ansiolítico: Prueba de exploración.	30
6.11. Análisis estadístico.	30
VII. RESULTADOS.	31
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	50
IX. CONCLUSIONES.	53
X. BIBLIOGRAFÍA.	54

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

GRÁFICA 1. Efecto anticonvulsionante del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana edulis</i> ssp. <i>procera</i> sobre el periodo de latencia de convulsiones clónicas inducidas por pentilentetrazol. -----	31
GRÁFICA 2. Efecto anticonvulsionante del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana edulis</i> ssp. <i>procera</i> sobre el periodo de latencia de convulsiones tónicas inducidas por pentilentetrazol. -----	32
GRÁFICA 3. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana edulis</i> ssp. <i>procera</i> sobre potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico.-----	33
GRÁFICA 4. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana edulis</i> ssp. <i>procera</i> sobre la coordinación motora en la prueba de rota rod. -----	34
GRÁFICA 5. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana edulis</i> ssp. <i>procera</i> sobre la relajación muscular en la prueba de tracción. -----	35
GRÁFICA 6. Efecto de diacepam sobre la coordinación motora en la prueba de rota rod.-----	36
GRÁFICA 7. Efecto de diacepam sobre la relajación muscular en la prueba de tracción.-----	37
GRÁFICA 8. Efecto de pentobarbital sódico sobre la coordinación motora en la prueba de rota rod. -----	38
GRÁFICA 9. Efecto de pentobarbital sódico sobre la relajación muscular en la prueba de tracción. -----	39

GRÁFICA 10. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana edulis</i> ssp. <i>procera</i> más pentobarbital sódico PB (42 mg/kg), sobre la coordinación motora en la prueba de rota rod. -----	40
GRÁFICA 11. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana edulis</i> ssp. <i>procera</i> más pentobarbital sódico PB (42 mg/kg), sobre la relajación muscular en la prueba de tracción. -----	41
GRÁFICA 12. Efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana edulis</i> ssp. <i>procera</i> en la prueba de exploración.-----	46
GRÁFICA 13. Efecto ansiolítico de diacepam en la prueba de exploración. -----	47
GRÁFICA 14. Efecto ansiolítico de doxilamina en la prueba de exploración. -----	48
GRÁFICA 15. Efecto ansiolítico de difenhidramina en la prueba de exploración. -----	49

ÍNDICE DE TABLAS.

TABLA 1. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana edulis</i> ssp. <i>procera</i> sobre la depresión del SNC en la prueba de ptosis palpebral. -----	42
TABLA 2. Efecto de diacepam sobre la depresión del SNC en la prueba de ptosis palpebral. -----	43
TABLA 3. Efecto de doxilamina sobre la depresión del SNC en la prueba de ptosis palpebral. -----	44
TABLA 4. Efecto de difenhidramina sobre la depresión del SNC en la prueba de ptosis palpebral. -----	45

ÍNDICE DE FIGURAS.

FIGURA 1. Estructura del Valtrato. -----	14
FIGURA 2. Estructura del Isovaltrato. -----	14
FIGURA 3. Estructura del Acevaltrato. -----	15
FIGURA 4. Estructura del Didrovaltrato. -----	15
FIGURA 5. Estructura del Baldrinal. -----	15
FIGURA 6. Estructura del Homobaldrinal. -----	15
FIGURA 7. Estructura del Ácido Valerénico. -----	16

RESUMEN.

Se realizó la evaluación de la actividad neurofarmacológica del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera*, obtenida mediante el método de micropropagación. El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera*, presentó efecto anticonvulsionante contra pentilentetrazol y efectos neurofarmacológicos en las pruebas de coordinación motora (rota-rod), relajación muscular (prueba de tracción), depresión del sistema nervioso central (ptosis palpebral), efecto ansiolítico (prueba de exploración) y a dosis altas, potenció el efecto hipnótico inducido por pentobarbital sódico, así como también prolongó el tiempo de recuperación de la coordinación motora y la relajación muscular de los animales tratados con pentobarbital sódico. Los efectos se compararon además, con fármacos de referencia como son: diacepam, difenhidramina y doxilamina.

Este es el primer estudio neurofarmacológico de esta especie medicinal mexicana de interés industrial, en el que se demuestra que algunos efectos son similares a la especie *Valeriana officinalis* de la que se tienen más estudios.

I. INTRODUCCIÓN.

El sistema nervioso proporciona un sistema de comunicación rápida entre zonas muy alejadas del cuerpo. Como red de comunicaciones gobierna las reacciones a los estímulos, procesa la información y genera patrones elaborados de señales que controlan comportamientos complejos. El sistema nervioso también, es capaz de aprender a medida que procesa y registra la información sensorial sobre el mundo exterior, experimenta ajustes que dan por resultado alteraciones en los futuros patrones de actividad (Bloom, 1996).

Por otro lado, desde tiempos remotos, el hombre ha buscado en el mundo vegetal su alimento y cura. En el pasado, las plantas fueron utilizadas "enteras" y sobre la base de un conocimiento empírico. Posteriormente, el estudio de las plantas se caracterizó por la identificación botánica de las especies consideradas como medicinales. A partir de entonces se ha puesto atención en la identificación, caracterización y análisis de los principios activos que expliquen las propiedades de las plantas. En los últimos años, las plantas medicinales son utilizadas para la preparación de tinturas y extractos, o particularmente como materia prima para obtener principios activos puros. Los productos elaborados con plantas medicinales ofrecen resultados satisfactorios solamente cuando son química y farmacológicamente dosificables, lo que indica la necesidad de estudios farmacológicos (Pesce, 1992).

Cabe señalar que las raíces y rizomas de especies de la familia Valerianaceae son usadas en la preparación de formas fitofarmacéuticas orales, tinturas y té (Bos *et al.*, 1996). La especie *Valeriana officinalis* es la especie más utilizada y también más estudiada. En México la valeriana que crece corresponde a la *Valeriana edulis* ssp. *procera*, la cual ha sufrido de sobreexplotación, ya que es de recolección silvestre. Esta especie se ha estudiado poco desde el punto de vista químico y biológico. Los estudios fitoquímicos indican que la composición de esta especie es distinta a la *Valeriana officinalis* (Bos *et al.*, 1998). Desde el punto de vista farmacológico la

Valeriana edulis ssp. *procera* no cuenta con estudios sobre su actividad neurofarmacológica, por esta razón este trabajo tiene como objetivo realizar el estudio de la actividad neurofarmacológica de los extractos hidroalcohólicos de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera*. En forma adicional se puede señalar que el material vegetal fue obtenido por micropropagación, hecho que representa un aporte adicional; el conocer la actividad de una planta obtenida por micropropagación en la cual se conoce con precisión la edad de la misma, las condiciones de almacenamiento, secado y molienda, controles que difícilmente se pueden tener en un material vegetal obtenido por recolección silvestre.

II. FUNDAMENTO TEÓRICO.

2. Plantas con actividad sobre el SNC.

En la literatura existen muchas plantas con actividad sobre el Sistema Nervioso Central (SNC). Enseguida se describen algunas de ellas.

2.1. Ginseng.

Nombre científico y botánico. Comúnmente Ginseng se refiere a *Panax quinquefolium* L. ó *Panax ginseng* C. A. Meyer, dos miembros de la familia Araliaceae. Los ginsengs fueron clasificados como miembros del género *Aralia* en antiguos textos. Un número de especies de ginseng crecen alrededor del mundo y tanto, las raíces como rizomas de esta planta son usadas en la medicina tradicional (Lawrence, 1990).

Ginseng es una planta herbácea de raíces gruesas y aromáticas; tallos simples con hojas digitadas, con 5 hojuelas, las inferiores pequeñas; flores en umbela, pentámeras. Nativa de Canadá (Martínez, 1987).

Farmacología. Ginseng ejerce sus efectos cuando se administra oralmente. Estos efectos varían con la dosis, duración del tratamiento, etc. y provoca depresión o estimulación del Sistema Nervioso Central; también presenta actividad analgésica y antiinflamatoria (Lucinda *et al.*, 1998).

2.2. Almizcle.

Nombre científico. Almizcle se refiere a *Moschus moschiferus* L., miembro de la familia Moschidae.

El uso del almizcle data más de 1300 años, cuando fue usado por gobernantes de la dinastía China. Consecuentemente, tiene una amplia tradición histórica en la hierba medicinal China. Hoy es usado como un componente en fragancias y como un fijador en perfumes (Lawrence, 1993).

Farmacología. El almizcle es reportado con actividad antiinflamatoria y antihistamínica, así como también por presentar actividad espasmódica, depresión del Sistema Nervioso Central, estimulante y actividad antibacteriana (Leung, 1980).

2.3. Barberry.

Nombre científico. *Berberis vulgaris* L y *B. aquifolium* Pursh. Sin embargo se les designa más apropiadamente *Mahonia aquifolium* Nutt.; de la familia Berberidaceae.

La planta ha sido usada durante mucho tiempo, data de la edad media. Los extractos de la planta son usados en homeopatía para el tratamiento de daño intestinal (Schauenberg y Paris, 1977).

Farmacología. Berberina es un alcaloide de barberry, tiene propiedades anticonvulsionante, sedante, estimulante uterino y produce efecto hipotensor (Lawrence, 1991).

2.4. Betónica.

Nombre científico. *Stachys officinalis* (L.), también referido como *Betónica officinalis* L. pertenece a la familia Labiatae (Lawrence, 1990).

Originaria de Europa occidental y meridional, crece en las praderas forestales, calveros y pastos, lo mismo en el llano que en la montaña.

Farmacología. Se utiliza contra las infecciones de las vías respiratorias y por sus propiedades sedantes, para el tratamiento del asma. Su raíz fue en tiempos empleada como emético. También es eficaz contra los dolores de origen nervioso (Volák y Stodola, 1992).

2.5. Lavándula.

Nombre científico. Varias especies de Lavándula han sido usadas en la medicina, incluyendo a *L. Angustifolia mill*, (sinónimo *L. officinalis Chaixy L spica L.*), *L. stoechas*, *L. dentata*, *L. Latifolia* y *L. pubescens* Decne; pertenecientes a la familia Lamiaceae (Lawrence, 1996).

Lavándula es una planta aromática, siempre verde, que crece aproximadamente 91.45 cm de altura. La planta es nativa de la región del Mediterráneo sus flores frescas son colectadas y el aceite esencial es obtenido por extracción con solventes (Leung, 1980).

Farmacología. En ratones el aceite esencial tiene actividad depresora sobre el Sistema Nervioso Central, caracterizado por actividad anticonvulsionante (Lawrence, 1996).

2.6. Amapola.

Nombre científico. Aunque una variedad de miembros del género *Papaver* son llamados amapolas, *P. somniferum* L. y *P. bracteatum* Lindl. son importantes comercialmente y medicinalmente. Dicho género es de la familia Papaveraceae (Lawrence, 1990; Duke, 1973).

El uso de la amapola data de la época de Mesopotamia, donde la planta se uso en la medicina y fue conocida como *hul gil* (la planta de la felicidad). A causa de la amplia distribución del opio de la amapola, su uso fue reconocido por diversas culturas. El opio fue usado en los Estados Unidos desde su nacimiento, en donde la Morfina fue aislada a partir de opio crudo en 1803 y en 1874, la morfina junto con anhídrido acético se colocaron en ebullición para obtener diacetilmorfina (Heroína). Más tarde se observó que tenían un alto potencial de adicción (Hoffmann, 1990).

Farmacología. Los efectos farmacológicos de los alcaloides de la Morfina difieren ampliamente. La Codeína y Morfina son analgésicos sedantes y pueden relajar al músculo liso, tienen utilidad en el tratamiento de diarrea y dolor abdominal (Lawrence, 1990).

La amapola mexicana (*Argemone mexicana*) L. ha sido asociada como algo venenoso, demostrando signos de sedación y contracción abdominal (Pahwa, 1989).

2.7. Marihuana.

Nombre científico. *Cannabis sativa* L., de la familia Cannabaceae (Lawrence, 1997).

Es originaria de la India y el Medio Oriente, pero se cultiva en muchos otros lugares.

Farmacología. La marihuana se ha utilizado durante siglos para fines medicinales y distractivos, por su actividad analgésica, antiinflamatoria, hipnótica, sedante, cataléptica y alucinógena, sin embargo, su uso es ilegal en la mayoría de los países, excepto para ciertos propósitos médicos y científicos (Wren, 1994). La Marihuana también presenta efectos psicomotores sobre el SNC como es en coordinación motora y percepción visual (Lawrence, 1997).

2.8. Flor de pasión.

Nombre científico. *Passiflora* spp. De la familia Passifloraceae.

La flor de pasión fue descubierta en 1569 por exploradores Españoles en Perú, quienes vieron a la flor como símbolo de la pasión de Cristo (Lawrence, 1989).

Farmacología. Extractos de *Passiflora* tienen actividad compleja sobre el Sistema Nervioso Central, induce estimulación y depresión dosis-dependiente. Los efectos neurodepresores de los extractos son usados para el tratamiento de enfermedades de sueño. La actividad farmacológica de la *Passiflora* es atribuida principalmente a los alcaloides y flavonoides. El alcaloide Harmala tiene efecto espasmolítico sobre músculo liso, disminuye la presión sanguínea y dilata el vaso coronario (Speroni y Munghett, 1988).

2.9. Nuez Moscada.

Nombre científico. *Myristica fragrans* Houtt. Quien pertenece a la familia Myristicaceae.

El árbol de nuez moscada se encuentra siempre verde y crece aproximadamente 18.30 metros, crece en la India, Ceilan, Malasia y Granada. Este árbol de lento crecimiento produce fruta llamada manzana de nuez cascada, el cual es similar en apariencia al árbol de durazno ó chabacano, es ampliamente empleada como condimento en la comida, sobre todo en la India.

Farmacología. Se utiliza en el tratamiento de enfermedades gástricas, reumatismo, diarrea y se usa como hipnótico y afrodisíaco (Lawrence, 1997). Los componentes (miristicina) de la nuez moscada tienen estructura similar al del alilbenceno pueden ser responsables de la actividad sobre el SNC. La miristicina, elemicina, safrona o eugenol, se sugieren como agentes activos, individualmente o colectivamente incrementan significativamente la duración del sueño ligero y profundo en pollos (Sherry *et al.*, 1982).

2.10. FO - TI.

Nombre científico. *Polygonum multiflorum* Thunb. De la familia Pligonaceae (Lawrence, 1992).

P. multiflorum es una planta trepadora verde que se parece a un pequeño arbusto. Es nativa de Japón y es ampliamente usada en la medicina China. Menciona la tradición que la actividad de las raíces se predice por su tamaño y edad (Tyler, 1987).

Farmacología. En la raíz se encuentran crisofanol y emodin, junto con pequeñas cantidades de reina, quiénes poseen actividad antitumoral (Duke, 1985). Otros miembros del género contienen compuestos antiinflamatorios y compuestos que disminuye la coagulación, el cual tiene efecto cardiovascular; sin embargo estos compuestos no han sido identificados plenamente. El uso clínico de la planta incluye el tratamiento de tuberculosis de las glándulas linfáticas y cáncer (Tyler 1987). Los extractos de la planta poseen efectos: antiprogestacional, antipirético y sedante (Duke, 1985).

2.11. kava-kava.

Nombre científico. *Piper methisticum* Frost (Lawrence, 1996).

Kava-kava es el rizoma y raíz seca de *Piper methisticum*, un arbusto alto ampliamente cultivado en Oceanía; de la cual se prepara una bebida a partir del rizoma. Se conocen más de 20

variedades de la planta kava-kava. Las raíces pulverizadas son maceradas en agua; la extracción es a veces precipitada por machacado o masticación.

Farmacología. Los análisis han identificado a distintos grupos de dihidropironas sustituidos (metisticina, kawaina y dihidrome) que poseen actividad sobre el Sistema Nervioso Central, así como relajación muscular, y anestesia local. Otras propiedades farmacológicas del Sistema Nervioso Central que posee es lo concerniente al sueño y la ansiedad (Pittler y Ernst, 2000).

2.12. Chamomila.

Nombre científico. *Matricaria chamomilla* L. y *Anthemis nobilis*; dos géneros de la familia Asteraceae (Lawrence, 1991).

M. chamomilla es una planta anual y *Arnobilis* tiene un crecimiento lento y continuo. Las flores fragantes son colectadas y secadas para usarse como té y extractos. Conocida desde tiempo de los romanos por sus propiedades medicinales.

Farmacología. La *M. chamomilla* contiene aceite esencial de α -bisabolol, compuestos de apigenina (flavonoide) y ácido angélico. El bisabolol ejerce numerosos efectos farmacológicos, como son antiespasmódicos, sedantes, antiinflamatorios y antipiréticos (Jakavlev *et al.*, 1979). También inhibe el desarrollo de úlcera gástrica inducida por indometacina, stress y metanol (Szelenyi *et al.*, 1979), así como, los flavonoides (crisina y apigenina) de esta planta presentan efecto ansiolítico (Palidini *et al.*, 1999). En un estudio realizado para evaluar su efecto sedante, Chamomila fue efectivo en un 83 % induciendo sueño en humanos (Lucinda *et al.*, 1991).

2.13. *Nerium oleander*.

Nombre científico. *Nerium oleander* L. (sinónimo N. *Odorum soland*; N. *Indicum Mill*), género que pertenece a la familia Apocynaceae.

La planta *Nerium oleander* se localiza en la región del Mediterráneo y en Asia Subtropical, Es nativa del subcontinente Indo-Pakistan. La planta se conoce como “kaner” y sus partes son consideradas como agentes terapéuticos en el tratamiento de inflamación, lepra y enfermedad de ojos y piel. Investigaciones sobre las diferentes partes de la planta han revelado la presencia de varios glucósidos, triterpenos y compuestos de cadena larga.

Farmacología. Las hojas de *Nerium oleander* contienen cuatro cardenoides (nerizosida, Δ^{16} -dehidroadinerigenina, neritalosida y odorosida) quienes presentan actividad cardiotónica, antibacteriana y antiagregación antiplaquetaria, y deprime el Sistema Nervioso Central (Bina *et al.*, 1997).

3. Antecedentes del género Valeriana.

El nombre genérico de Valeriana procede del latín *Valere*, estar sano, en alusión a las propiedades terapéuticas de la planta (Muñoz, 1993). Este género pertenece a la familia Valerianaceae.

La familia valerianaceae son plantas semileñosas, provistas de rizomas. Hojas simples, enteras o partidas, opuestas, sin estipulas. Flores cigomorfas, hermafroditas o unisexuales. Cáliz

hipógino, reducido, acrescente en el fruto, en el que forma un vilano plumoso. Corola gamopétala, tubular, con la base del tubo frecuentemente giboso o espolonado; limbo 3-5 lobulado, imbricado. Estambres 1-4, unidos al tubo de la corola, alternos con las divisiones de ésta; anteras biloculares, de dehiscencia longitudinal. Ovario ínfero, tricarpelar, trilocular; de los 3 lóculos, sólo uno es fértil, contiene un sólo óvulo péndulo y anátropo. El fruto es un aquenio, coronado por el cáliz, transformado en vilano (Sánchez, 1980).

Los miembros del género *Valeriana* son ampliamente distribuidos en el Norte de América, Europa y Asia. De las 200 especies aproximadamente conocidas, la *Valeriana officinalis* es la especie más cultivada para uso medicinal. El rizoma seco contiene un aceite volátil con un distintivo olor desagradable (Houghton, 1999). A pesar de su olor, la valeriana fue considerada un perfume en el siglo XVI en Europa. La tintura ha sido usada por sus propiedades sedantes durante siglos, es ampliamente usado en Francia, Alemania y Suiza como un auxiliar para dormir (Leathwood *et al.*, 1982).

3.1. Constitución química.

Se han asociado tres clases distintas de compuestos con las propiedades sedantes de la valeriana: 1) mono- y sesquiterpenos, 2) ésteres de iridoides (Valepotriatos) y 3) alcaloides de piridina. La composición de los aceites volátiles varían entre el tipo de cultivo y especies (Bos *et al.*, 1998).

En 1966 Thies y Funke demostraron la presencia de una nueva clase de productos naturales conocidos como valepotriatos (Foerster *et al.*, 1984), que se encuentran distribuidos en la familia

Valerianaceae; están divididos en dos grupos importantes de acuerdo al número de dobles enlaces, los derivados de monoenos y dienos (Gränicher *et al.*, 1994).

Valtrato, isovaltrato, acevaltrato y didrovaltrato son los valepotriatos más importantes presentados en las figuras 1, 2, 3 y 4 respectivamente (Bos *et al.*, 1996). Los productos de descomposición de los valepotriatos son identificados como baldrinal y homobaldrinal (figura 5 y 6) formados a partir de valtrato y acevaltrato respectivamente (Denee *et al.*, 1979).

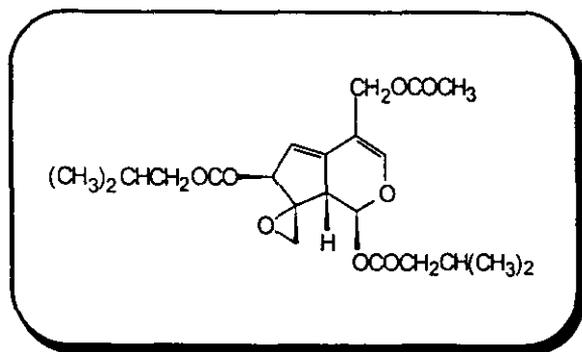


FIGURA 1. Estructura del Valtrato.

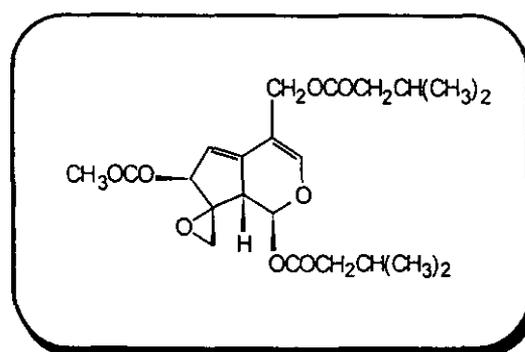


FIGURA 2. Estructura del Isovaltrato.

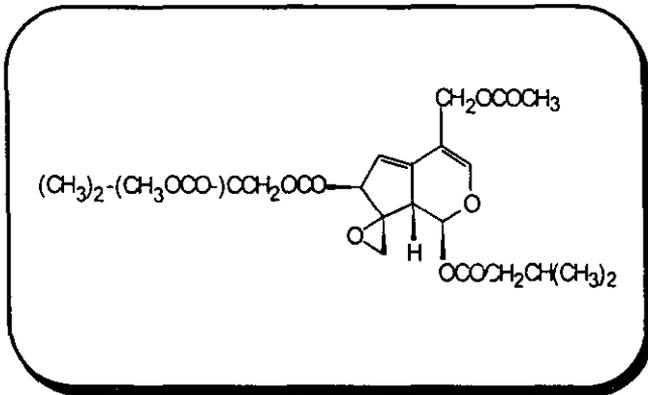


FIGURA 3. Estructura del Acevaltrato.

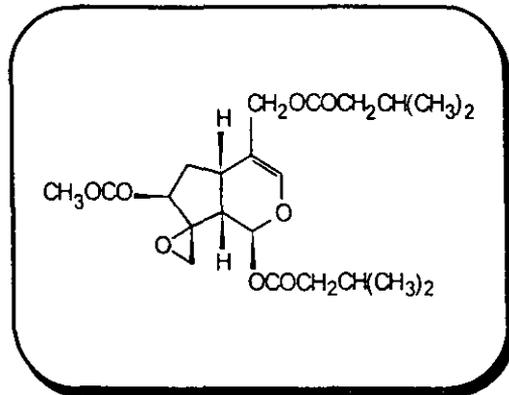


FIGURA 4. Estructura del Didrovaltrato.

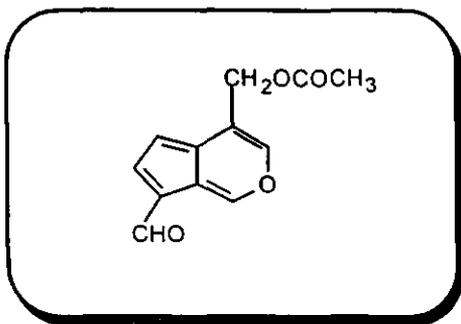


FIGURA 5. Estructura del Baldrinal.

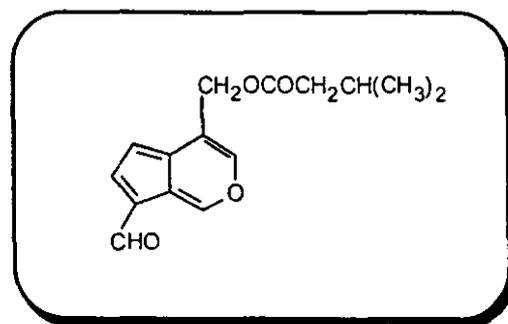


FIGURA 6. Estructura del Homobaldrinal.

Existen estudios para la separación y determinación de valepotriatos, por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC), a partir de *Valeriana kilimandascharica*, donde describen concentraciones máximas de isovaltrato/valtrato de 5.89 % en hojas, 3.84 % en flores, 3.17 % en tallo y 5.15 % en rizomas (Dossaji y Becker, 1981). La composición en porcentaje de isovaltrato/valtrato varía en preparaciones de Valeriana de diferentes especies mexicanas y otras especies (Tittel *et al.*, 1978). En otro estudio, se analizaron variaciones por la temporada de siembra y cosecha de *Valeriana officinalis*, la cantidad máxima de valepotriatos se alcanza en Febrero-Marzo, con un contenido de 1.1 - 1.4 % de peso seco (Bos *et al.*, 1998).

El sesquiterpeno más importante es el ácido valerénico (figura 7), aunque en la *Valeriana officinalis* Japonesa contiene kessil glicol diacetato (1.98 %) y α - kessil acetato (2.25%) (Suzuki *et al.*, 1994). La concentración de alcaloides en raíces y rizomas es baja, usualmente menos del 0.2 %. Los extractos acuosos de la raíz de valeriana contienen pequeñas cantidades de ácido γ -aminobutírico (GABA), quien puede causar directamente sedación pero, hay controversia respecto a la biodisponibilidad de este compuesto (Houghton, 1999).

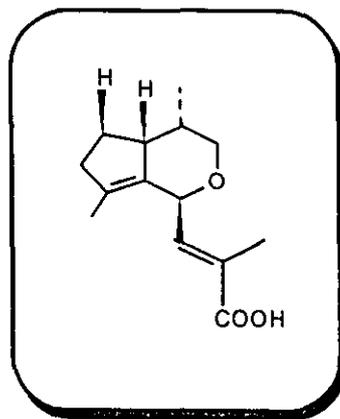


FIGURA 7. Estructura del Ácido Valerénico.

3.2. Farmacología.

Mientras hay un debate sustancial acerca de los constituyentes responsables de la actividad sedante (Hiller y Zetler, 1996), es indudable que las preparaciones tienen efecto sedante. Estudios en humanos han documentado la eficacia de la valeriana como un auxiliar del sueño, ya que los extractos acuosos de la raíz de valeriana mejora la calidad de sueño (Leathwood *et al.*, 1982) y disminuye el tiempo de latencia para conciliar el sueño (Leathwood y Chauffard, 1985).

Los extractos acuosos e hidroalcohólicos de valeriana inducen la liberación del ácido γ -aminobutírico (GABA) a partir de preparaciones sinaptosomales, el cual fue interpretado como un efecto sobre el transportador GABA. El efecto *in vitro* fue comprobado con el contenido de GABA del mismo extracto. Así el GABA puede ser responsable de algunos efectos periféricos, mientras que la glutamina, otro aminoácido libre, puede atravesar la barrera hematoencefálica y ser metabolizado a GABA *in situ* y de ese modo producir sedación central (Santos *et al.*, 1994).

El ácido valerénico inhibe la GABA-transaminasa (GABA-T), la enzima principal que cataboliza al GABA. La inhibición del GABA-T aumenta el efecto inhibitorio de GABA en el SNC, y por lo tanto, puede contribuir a las propiedades sedantes de la valeriana (Riedel, 1982). El ácido valerénico aislado a partir de *Valeriana officinalis*, afecta la actividad y la coordinación motora en ratones; así como también prolonga el tiempo de sueño inducido por pentobarbital, indicando que tiene propiedades depresoras sobre el SNC (Hendriks *et al.*, 1985).

Los valepotriatos (valtrato y didrovaltrato) aislados de la raíz de *Valeriana wallichii* son agentes citotóxicos muy potentes *in vitro* para células de hepatoma HTC y el didrovaltrato presenta actividad antitumoral *in vivo* sobre ratones (Bounthanh *et al.*, 1981; Nedyalka *et al.*, 1987). El

isovaltrato y valtrato junto con valerenona tienen efectos antiespasmódico en ileon aislado de cobayo y en preparaciones del músculo liso (Hazelhoff *et al.*, 1982).

3.3. Ensayos clínicos.

Los extractos de *Valeriana officinalis* han sido usados en la medicina tradicional por sus efectos sedante, hipnótico, tranquilizante y anticonvulsionante y puede interactuar con el ácido gamma-amimobutírico y/o los sitios de benzodiazepinas (Ortiz *et al.*, 1999).

El extracto acuoso de raíces (400 mg de extracto) mejoró la calidad de sueño en 128 voluntarios sanos empleando un diseño cruzado (Leathwood, *et al.*, 1982). Los pacientes de edad avanzada con enfermedades nerviosas responden positivamente a una preparación comercial de valeriana (Kamm-Kohl, 1984). La valeriana establece el incremento lento de la duración de sueño en un estudio piloto con personas cuyo problema es la falta de sueño (Shulz, 1994). En otro estudio se estableció que para ver mejoramiento en 121 pacientes con insomnio se requiere de 2 a 4 semanas (Vorbach, 1996).

Una combinación de Hipericón y valeriana fue evaluada por su actividad antidepresora en un estudio de doble ciego, a 93 pacientes que siguieron el tratamiento durante 6 semanas. La escala psicométrica indica un mejoramiento estadísticamente significativo (Steger, 1985).

Una combinación de *Valeriana officinalis* y *Melissa officinalis* (bálsamo) fueron efectivas en un estudio con 20 pacientes que habitualmente duermen poco (DreBing *et al.*, 1992). La misma combinación fue tolerada en voluntarios sanos y aumenta la calidad de sueño (Cerny *et al.*, 1999).

Un producto complejo (Eufitosa: EUP) de seis plantas (*Crataegus*, *Ballota*, *Passiflora* y *Valeriana*, el cual tienen efecto sedante; y, *Cola* y *Paullinia* el cual actúan principalmente como estimulantes), fue estudiado en 91 pacientes para el tratamiento de ansiedad; quienes recibieron dos tabletas tres veces al día, durante 28 días. EUP presentó una disminución progresiva significativamente, en la Escala de Ansiedad de Hamilton, comparado con un placebo, indicando que el EUP es mejor que el placebo en el tratamiento de ansiedad (Bourin *et al.*, 1997).

3.4. Preparaciones fitofarmacéuticas.

La valeriana y preparaciones farmacéuticas son usadas extensamente en Europa Occidental, especialmente en Alemania y Suiza. Las raíces y rizomas de las especies de *Valeriana officinalis*, *V. walichii* DC y *V. edulis* Nutt ssp. *procera* F.G.W. Meyer son usadas para la producción de formas farmacéuticas orales sólidas (tabletas y cápsulas), tintura y té también son preparados (Bos *et al.*, 1996). Estos extractos de valeriana son en muchos casos estandarizados por su contenido de valepotriatos (Gränicher *et al.*, 1994). Los extractos de valeriana se utilizan ocasionalmente en cremas para la piel para el tratamiento de eczema (Wren, 1994).

También existen: Extracto líquido de valeriana, tintura sencilla de valeriana, tintura amoniada de valeriana, infusión concentrada de valeriana, bolsitas de té medicinal nervino, jarabe para la debilidad nerviosa, jarabe para el dolor de cabeza, tabletas neuralex y tabletas de valeriana (Wren, 1994).

En Alemania desde 1980, más de 300 estudios clínicos han sido llevados a cabo con preparaciones fitofarmacéuticas estandarizadas, incluyendo a *Crataegus*, *Silibum*, *Ginkgo*, *Hipericum*, *Sabal*, *Urtica*, kava-kava, *Allium Sativum*, *Valeriana*, *Aesculus*, *Echinacea* y *Viscum*.

Estos estudios aseguran la eficacia de los productos fitofarmacéuticos para el tratamiento y prevención de enfermedades. Varios análisis clínicos demuestran que estas formas fitofarmacéuticas son terapéuticamente equivalentes con la quimioterapia y no presentan efectos adversos severos (Wagner, 1999).

En México se formulan preparaciones de *V. edulis* mezclada con Flor de Azahar, Flor de Tila y *Pasiflora suberosa* en forma de tabletas triangulares (Relaxil).

3.5. Toxicología.

Hay preocupación al descubrir que los valepotriatos son mutagénicos, sin embargo su pobre biodisponibilidad genera dudas acerca de que puedan ser fuente de toxicidad para los pacientes (Von der Hude *et al.*, 1986). Los ratones toleran dosis mayores a 1 g/kg de valeriana por vía oral o intraperitoneal, mostrando ataxia, relajación muscular e hipotermia (Hobbs, 1989).

Los estudios clínicos establecen que la valeriana presenta menos efectos colaterales que el control positivo de fármacos tales como diazepam. Hay un caso escrito de sobredosis de valeriana, en donde fue ingerida 20 veces la dosis recomendada, en la cual el paciente presentó síntomas moderados durante un período de 24 horas (Willey *et al.*, 1995).

En los Estados Unidos la Valeriana ha sido clasificada como segura: GRAS (traducción literal de la expresión "generally recognized as safe") para ser utilizada como condimento en la comida y bebidas.

4. Generalidades de *Valeriana edulis*.

4.1. Descripción.

La *Valeriana edulis* Nutt. ssp. *procera* Meyer, es una planta perteneciente a la familia Valerianaceae. El género es extensamente distribuido en el Norte de América, Europa y Asia (Houghton, 1999).

Esta planta es conocida en México como "raíz del gato". Se encuentra distribuida en los estados de Chihuahua, Durango, Hidalgo, Michoacán, Morelos, Puebla y en las regiones del Centro de México (Martínez, 1987).

Es una hierba robusta que mide de 70 a 80 cm de altura, con la superficie oblonga; las hojas son oblongas o largamente espatuladas, miden de 10 a 15 cm de largo; florea de agosto a septiembre (Sánchez, 1980).

4.2. Constitución química.

Los estudios fitoquímicos realizados a la especie *edulis* versan fundamentalmente sobre la raíz de la planta, que es la parte que se utiliza en la medicina tradicional. De preparaciones comerciales a partir de especies de *Valeriana edulis* ssp. *procera* y *V. wallichii*, se ha determinado el contenido de valepotriatos con un 7 y 2.8 a 3.5 % respectivamente (Gränicher *et al.*, 1994), de

los cuales se han aislado e identificado el valtrato, el isovaltrato, el didrovaltrato y el bandrinal (Hazelhoff *et al.*, 1981; Hazelhoff *et al.*, 1982; Bos *et al.*, 1998).

4.3. Actividad biológica.

La *Valeriana edulis* ssp. *procera* Meyer a sido ampliamente usada en medicina tradicional mexicana, así como en la industria farmacéutica por sus propiedades sedantes y antiespasmódicas (Enciso-Rodríguez, 1997).

Las raíces y rizomas de las especies de *Valeriana officinalis*, L. S. I., *Valeriana wallichii* DC. y *Valeriana edulis* Nutt. ssp. *procera* F.G. W. Meyer, son usadas en la preparación de formas fitofarmacéuticas por su utilidad terapéutica: sedante, hipnótico y calmante nervioso (Bos *et al.*, 1996; Sánchez, 1980).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El insomnio es un padecimiento que sufren personas de edad avanzada y gente que habitualmente duerme poco, provocando alteración en su calidad de vida; así como el surgimiento de problemas en términos de productividad y salud, cuyo padecimiento genera una inestabilidad emocional (Hiller y Zetler, 1996).

Frente a los graves riesgos que implica el uso indiscriminado de medicamentos, el hombre requiere de una alternativa segura e inocua que le permita curarse y evitar las enfermedades sin violentar su organismo, esta alternativa se encuentra en las plantas medicinales (Wren, 1994).

Por otro lado en México como en otros países es común el uso de plantas medicinales, tanto por personas de bajos recursos, para quienes los medicamentos disponibles en la actualidad son más caros y menos accesibles, como por las personas con mayores recursos económicos.

La familia valerianaceae se utiliza popularmente como sedante o tranquilizante, ya sea en forma individual o mezcla de especies en las preparaciones fitofarmacéuticas. Con respecto a la especie más utilizada y comercializada en la mayoría de los mercados destaca la *Valeriana officinalis*.

La industria farmacéutica ha desarrollado interés en los últimos años, generando en el mercado preparaciones fitofarmacéuticas, las cuales presentan problemas, entre ellos la falta de estudios farmacológicos. Es necesario disponer de la información derivada de estudios científicos en la evaluación de la seguridad y de la eficacia de plantas medicinales. La *Valeriana officinalis* es la más conocida, la de mayor comercialización y la que cuenta con más estudios, sin embargo la

Valeriana edulis ssp. *procera*, la especie que crece en México, cuenta con muy pocos estudios respecto a su composición química como en su actividad biológica, no obstante tiene un mercado importante en la industria farmacéutica. La *Valeriana edulis* ssp. *procera* carece de estudios que sustentan su uso medicinal con acción sobre el SNC, por otro lado esta especie ha sufrido de sobreexplotación, pero afortunadamente existen estudios para lograr su producción por micropropagación (Enciso-Rodríguez, 1997). Considerando lo anterior, la importancia de este estudio se puede marcar en dos puntos principales:

- 1) Proporcionar las evidencias en modelos experimentales farmacológicos de la actividad neurofarmacológica de la *Valeriana edulis* ssp. *procera*.
- 2) Conocer la actividad neurofarmacológica de una especie obtenida por micropropagación, en la cual se tiene el control respecto a edad, autenticidad botánica, manejo en la producción, cosecha, almacenamiento y contenido de valepotriatos.

IV. HIPÓTESIS.

El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* presenta efecto anticonvulsionante, efecto sobre la coordinación motora, relajación muscular, depresión del SNC, potenciación de hipnosis inducida por pentobarbital sódico y actividad ansiolítica en ratones, no obstante haberse obtenido por micropropagación.

V. OBJETIVOS.

5.1. Objetivo general.

Realizar la evaluación neurofarmacológica en ratones del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* obtenida por micropropagación.

5.2. Objetivos particulares.

A) Preparar el extracto hidroalcohólico (70 %) de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera*.

B) Evaluar la actividad anticonvulsinante del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera*.

C) Evaluar los efectos neurofarmacológicos en las pruebas de coordinación motora (rota-rod), relajación muscular (prueba de tracción) y depresión del Sistema Nervioso Central (ptosis palpebral) del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera*.

D) Evaluar la actividad ansiolítica del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* en el modelo de exploración.

E) Evaluar la potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera*.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS.

6.1. Material vegetal.

La raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* que se utilizó en este estudio fue obtenida mediante micropropagación (Enciso-Rodríguez, 1997), de tres años de edad y cosechada el 15 de Octubre de 1999 en los Laboratorios Mixim. La raíz fue cortada y secada a temperatura ambiente, a la sombra.

6.2. Preparación del extracto.

El extracto hidroalcohólico (70%) se preparó a partir de 10 g de raíz seca y triturada de *Valeriana edulis* ssp. *procera* por maceración a temperatura ambiente con 35 g de etanol y 15 g de agua destilada durante 7 días en un frasco ámbar. El extracto se filtro por gravedad en papel filtro, el filtrado se colocó sobre una caja petri y se concentró por una corriente de aire a temperatura ambiente, obteniéndose 2.02 g de extracto hidroalcohólico. El contenido de valepotriatos del extracto por espectrofotometría (Wagner *et al.*, 1970) fue de 30.55 %.

6.3. Animales.

Se utilizaron ratones machos de la cepa NIH con un peso entre 25 y 30 g. Los animales se mantuvieron a temperatura constante de 25 °C con libre acceso a alimento y al agua.

6.4. Fármacos y dosis.

El extracto hidroalcohólico fue suspendido con 2 gotas de Tween 80, y se administró en dosis de 100, 300 y 1000 mg/kg. El Pentobarbital Sódico (Sigma, 42 y 20 mg/kg), Pentilentetrazol (Sigma, 80 mg/kg), Diacepam (About, 1.25, 2.5 y 5 mg/kg), Doxilamina (Sigma, 40, 80 y 100 mg/kg), y Difenhidramina (Sigma, 10,15, 20 y 40 mg/kg), se disolvieron en solución salina (0.9%). El extracto y los fármacos se administraron por vía intraperitoneal, excepto el Diacepam que se administró por vía subcutánea, en un volumen de 0.1 mL/10 g de peso.

6.5. Efecto anticonvulsionante.

El Pentilentetrazol (80 mg/kg) se administró por vía intraperitoneal después de 60 minutos de haber administrado el extracto. Los animales fueron colocados en cajas de plásticos y observados para detectar el acontecimiento de las convulsiones (González-Trujano *et al.*, 1998).

6.6. Efecto potencial de hipnosis inducido por pentobarbital sódico.

El pentobarbital sódico se administro a la dosis de 20 y 42 mg/kg por vía intraperitoneal, 60 minutos después de haber administrado el extracto, posteriormente se determinó el período de latencia y la duración de la hipnosis. El grupo control para esta prueba solamente se le administró pentobarbital sódico a las mismas dosis evaluadas (González-Trujano *et al.*, 1998).

6.7. Efecto sobre la coordinación motora: Prueba de rota-rod.

Previamente se hizo una selección de aquellos animales que permanecieron al menos 2 minutos en el rota-rod (modelo 7600, Ugo Basile, 4 cm de diámetro y a una velocidad de 16 rpm). Se formaron lotes de 6 animales. La prueba se determinó en intervalos de 5-10 minutos durante 120 minutos después de la administración del extracto o fármaco de referencia (pentobarbital sódico y diacepam). La evaluación de los fármacos de referencia se determinó de forma inmediata después de su administración y posteriormente en el intervalo de tiempo indicado (González-Trujano *et al.*, 1998).

6.8. Efecto sobre la relajación muscular: Prueba de tracción.

Previamente se hizo una selección de aquellos animales que permanecieron al menos 30 segundos en la barra (1mm de diámetro, 40 cm de largo y 42 cm de altura). Se formaron lotes de 6 animales. La prueba se determinó en intervalos de 5-10 minutos durante 120 minutos después de la administración del extracto o fármaco de referencia (pentobarbital sódico y diacepam). La evaluación de los fármacos de referencia se determinó de forma inmediata después de su administración y posteriormente en el intervalo de tiempo indicado (Hendriks *et al.*, 1985).

6.9. Efecto sobre la depresión del SNC: Ptosis palpebral.

Treinta minutos después de la administración del extracto o fármaco de referencia (diacepam, doxilamina y difenhidramina), se observó el grado de ptosis de cada ratón bajo la

siguiente escala: 0, ojos totalmente abiertos, 2, ojos medios cerrados, 4, ojos completamente cerrados, 1 y 3 fueron asignados como intermedios (Rubin *et al.*, 1957).

6.10. Efecto ansiolítico: Prueba de exploración.

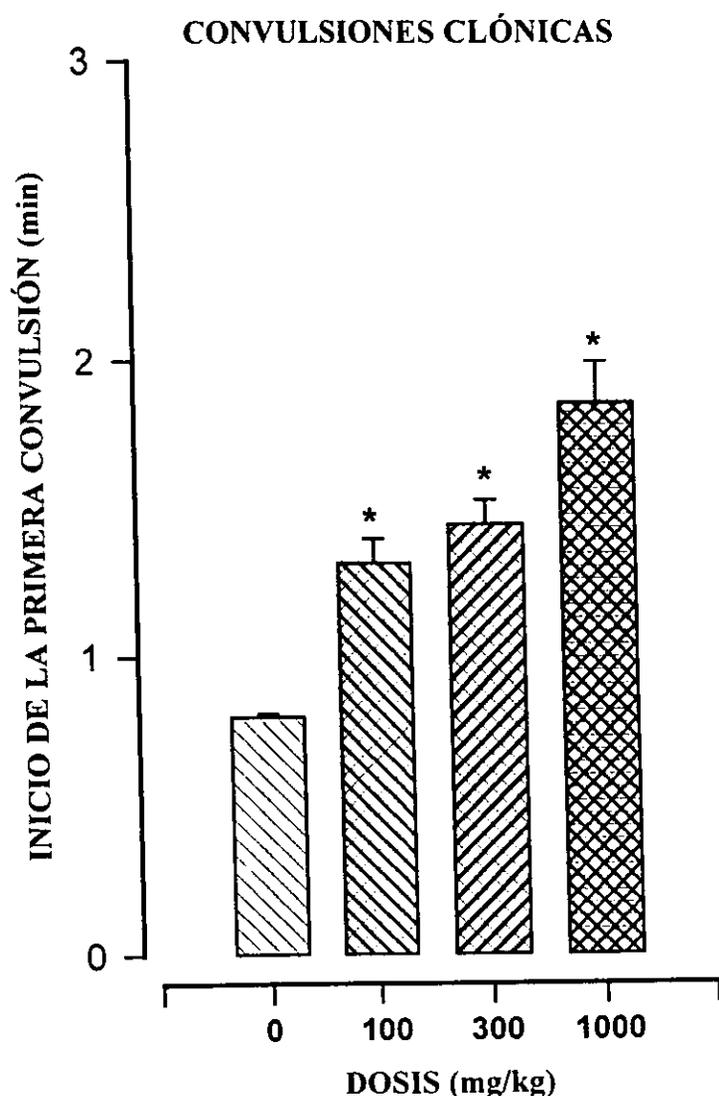
Los ratones se colocaron individualmente dentro de un tubo transparente de 16 cm de alto y 11 cm de diámetro, a los 30 minutos de haber administrado el extracto o fármaco de referencia (diacepam, doxilamina y difenhidramina), contando las veces que el ratón se levantó verticalmente o sobre las paredes del recipiente, durante un período de 5 minutos (Hiller y Zetler, 1996).

6.11. Análisis estadístico.

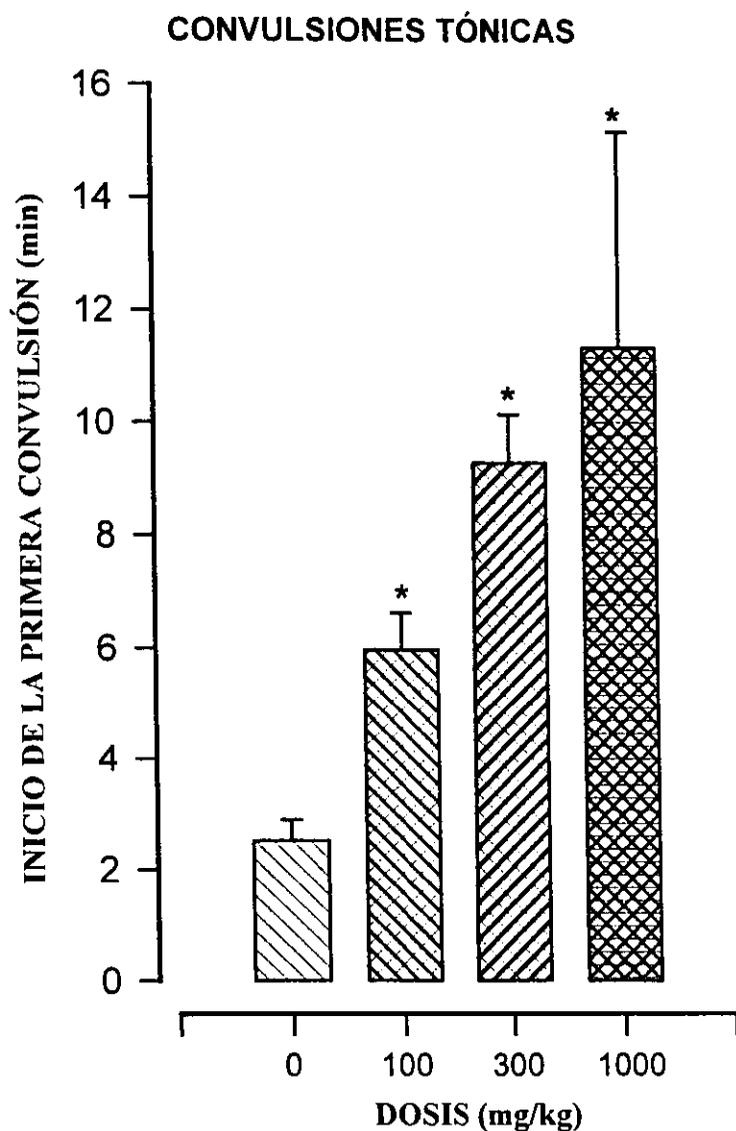
Los resultados se analizaron estadísticamente por un análisis de varianza seguido de la comparación de medias por el método de Dunnett. Para los resultados no paramétricos se utilizó la prueba de Kruskal-Walis seguido de la prueba de Mann-Whitney. Se consideraron diferencias significativas para una $p < 0.05$.

VII. RESULTADOS.

El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* presenta actividad anticonvulsionante prolongando el inicio de las convulsiones clónicas-tónicas inducidas por pentilentetrazol (gráficas 1 y 2) de manera dependiente de la dosis, con diferencia significativa a las dosis evaluadas.

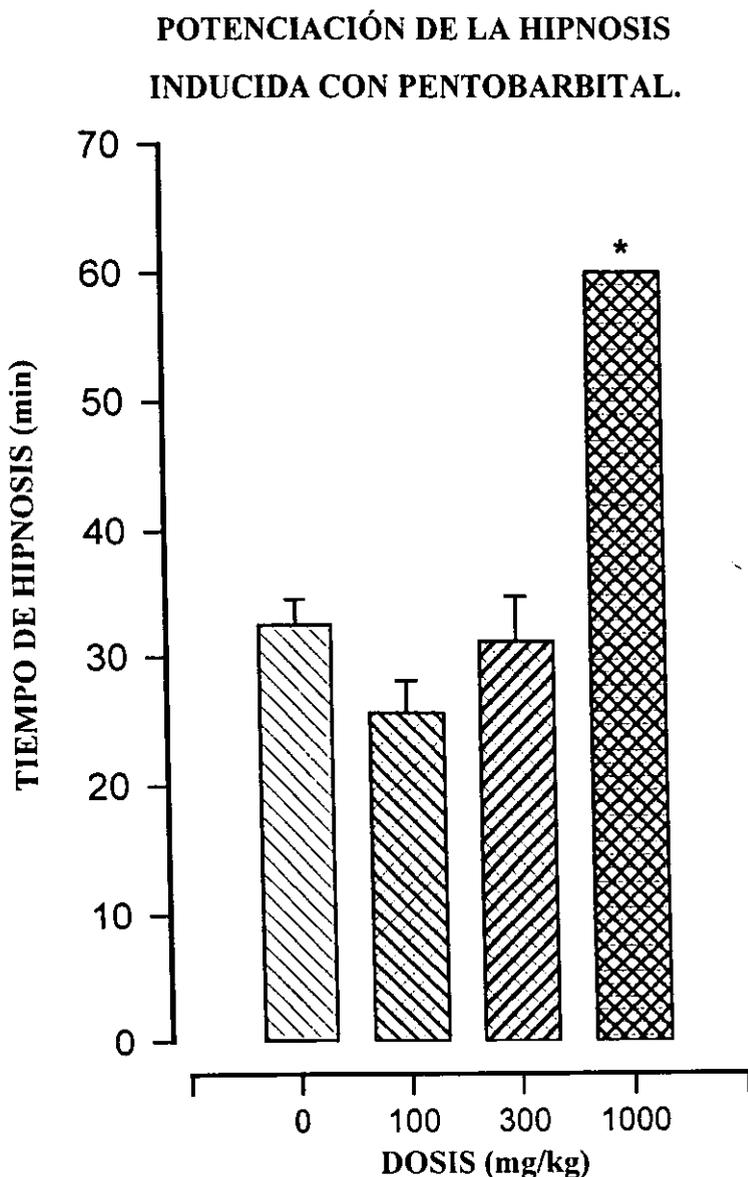


GRÁFICA 1. Efecto anticonvulsionante del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* sobre el periodo de latencia de convulsiones clónicas inducidas por pentilentetrazol. Cada barra es la media \pm EEM de 6 animales. * $p < 0.05$.



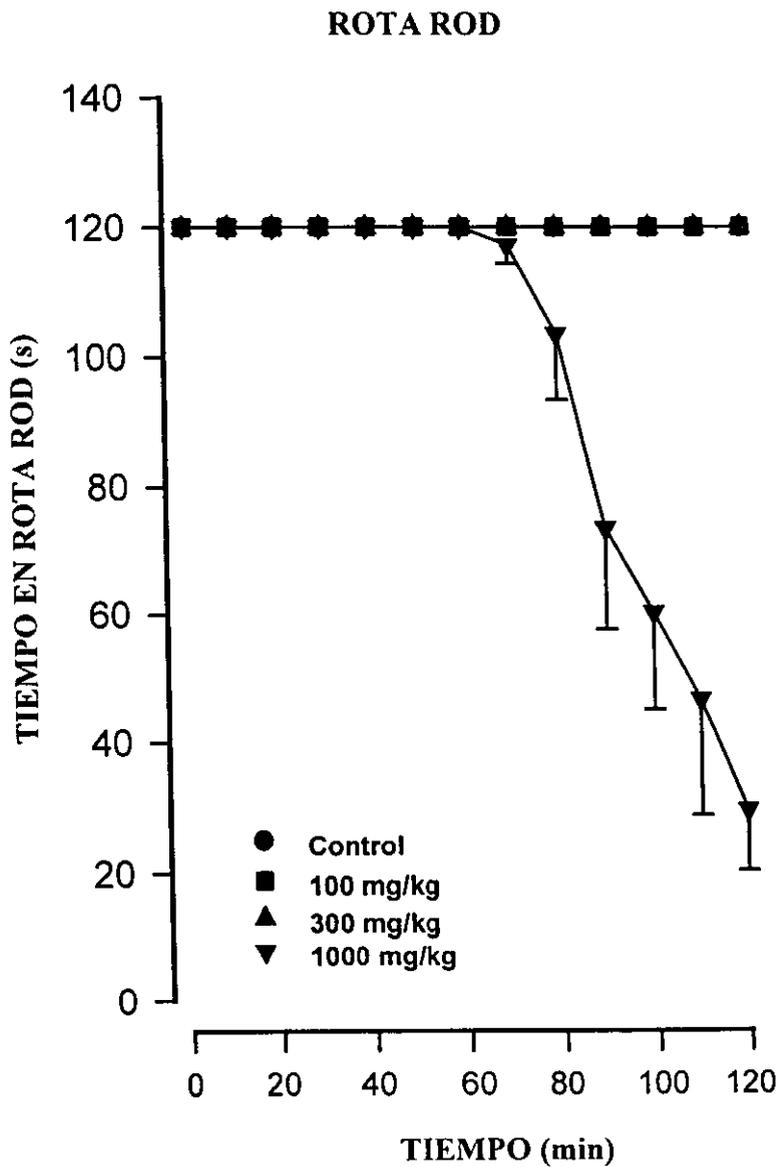
GRÁFICA 2. Efecto anticonvulsionante del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* sobre el periodo de latencia de convulsiones tónicas inducidas por pentilentetrazol. Cada barra representa la media \pm SEM de 6 animales.
* $p < 0.05$.

A la dosis de 1000 mg/kg del extracto hidroalcohólico presenta potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico, prolongando la duración de la hipnosis con una diferencia significativa (gráfica 3).

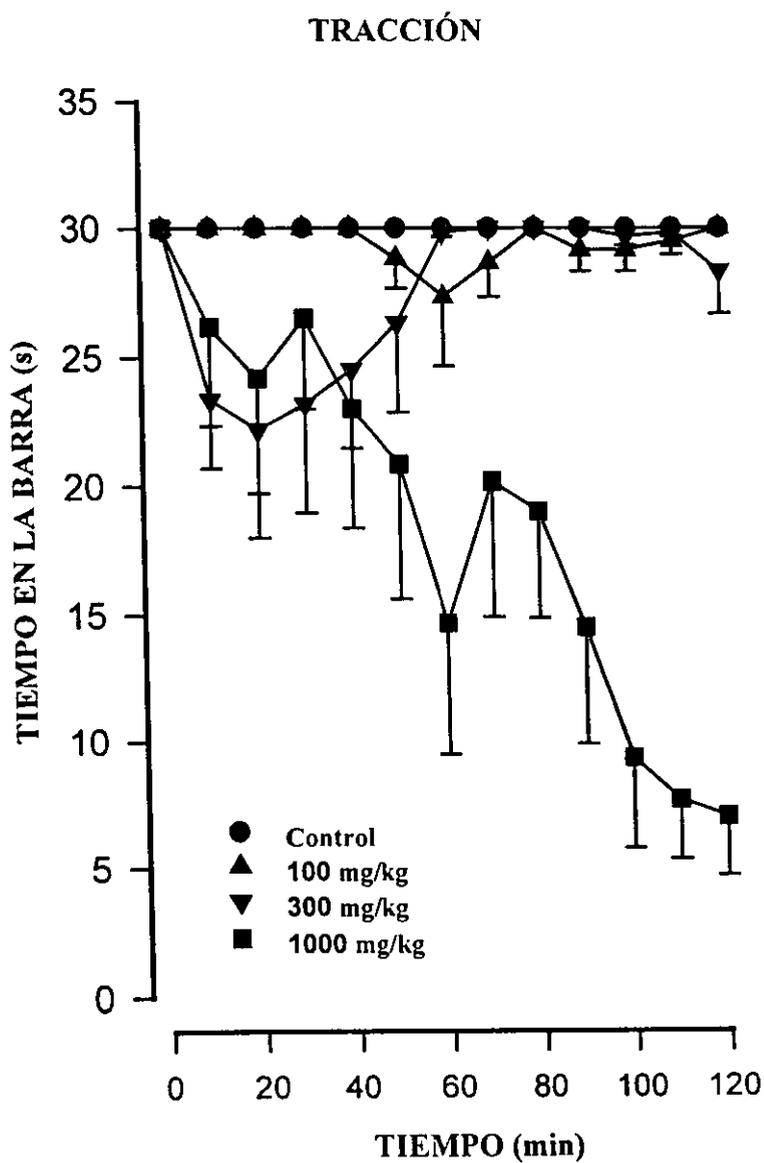


GRÁFICA 3. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* sobre potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico. Cada barra es la media \pm EEM de 6 animales. * $p < 0.05$.

En las gráficas 4 y 5 se presentan los resultados de la actividad del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* sobre la coordinación motora y la relajación muscular respectivamente, cuyas curvas representan un comportamiento de dosis-dependiente principalmente en la prueba de tracción.

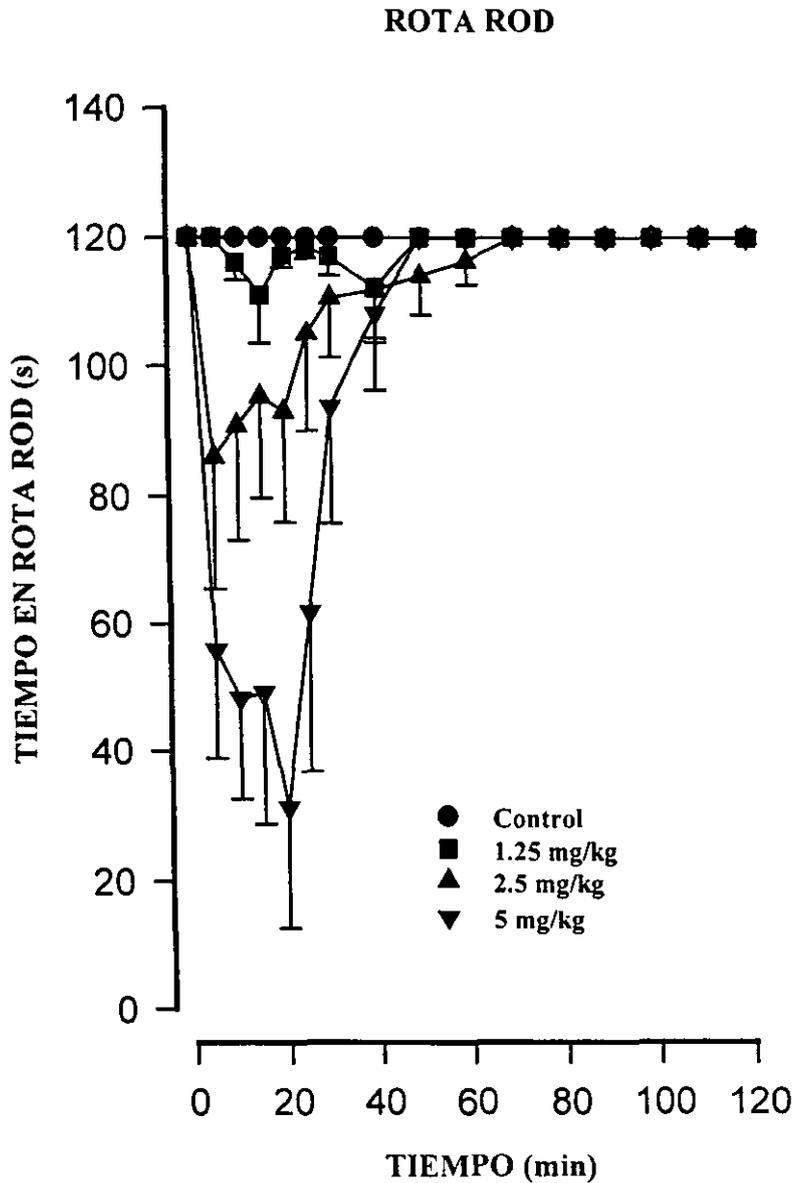


GRÁFICA 4. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* sobre la coordinación motora en la prueba de rota rod. Cada punto es la media \pm EEM de 6 animales.

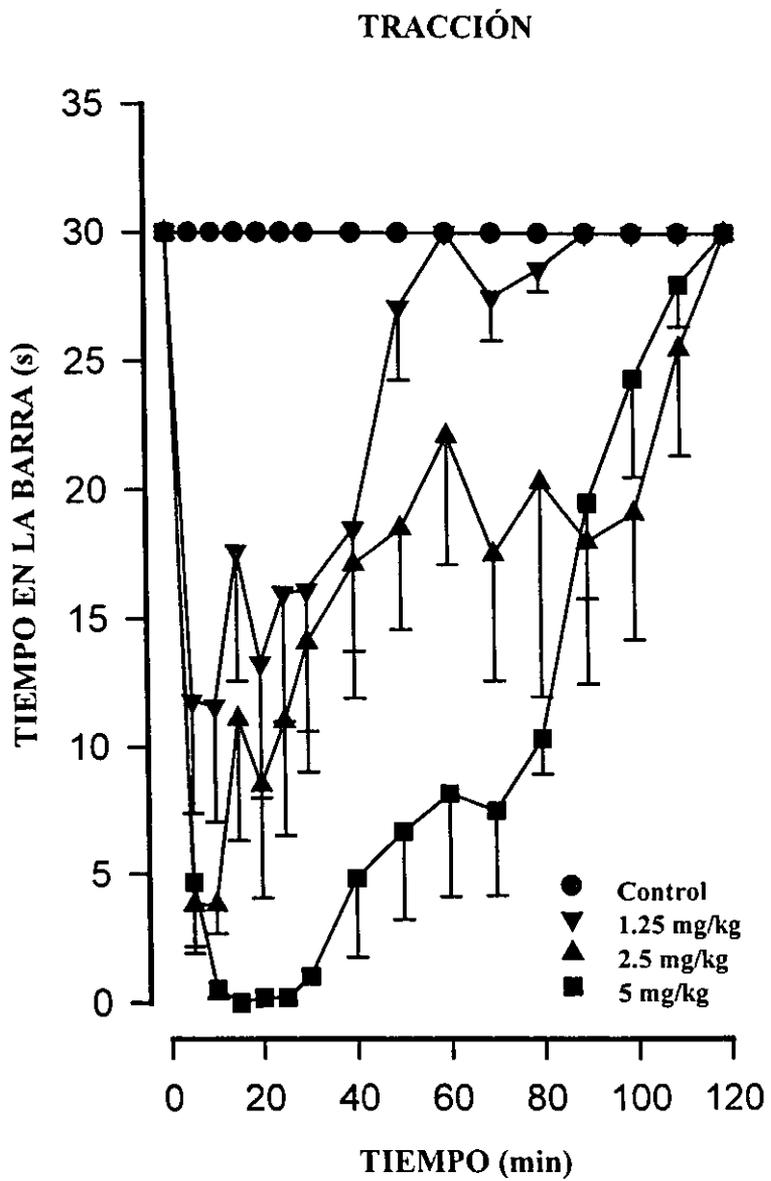


GRÁFICA 5. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* sobre la relajación muscular en la prueba de tracción. Cada punto es la media \pm EEM de 6 animales.

Con diacepam, uno de los fármacos de referencia, se evaluó la coordinación motora (gráfica 6) y la relajación muscular (gráfica 7) a dosis de 1.25, 2.5 y 5 mg/kg.

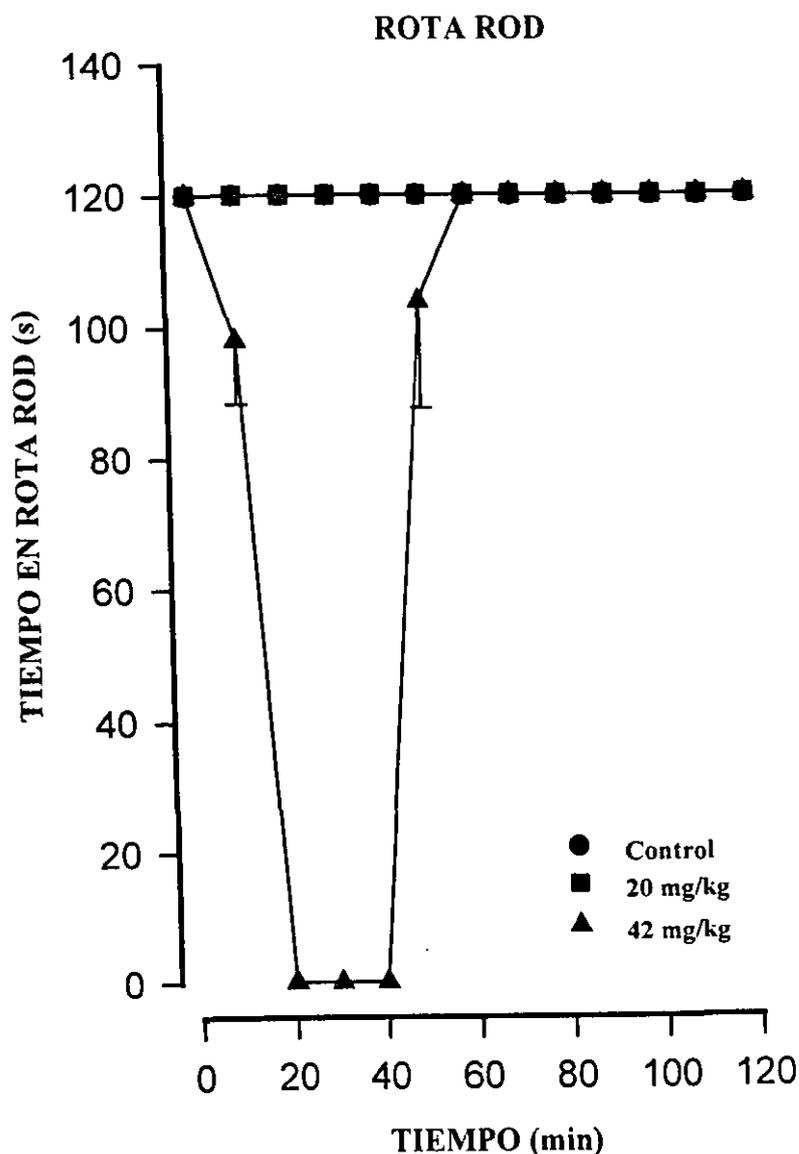


GRÁFICA 6. Efecto de diacepam sobre la coordinación motora en la prueba de rota rod. Cada punto es la media \pm EEM de 6 animales.

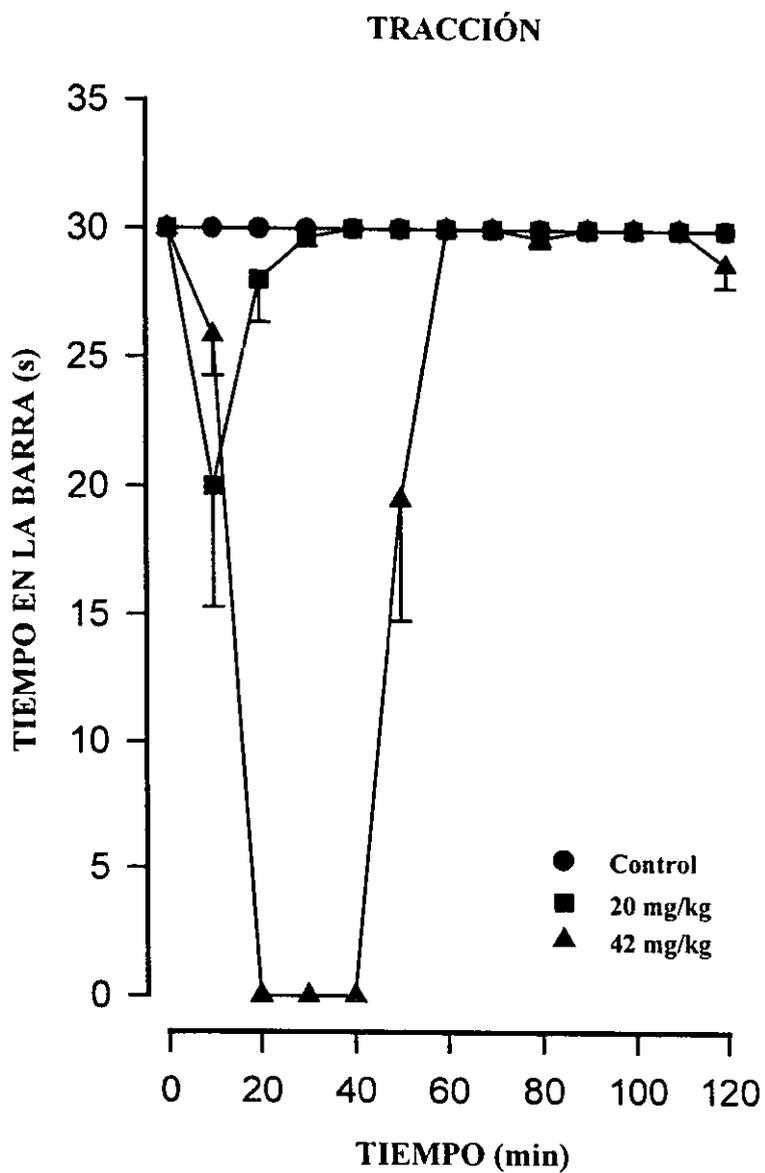


GRÁFICA 7. Efecto de diazepam sobre la relajación muscular en la prueba de tracción. Cada punto es la media \pm EEM de 6 animales.

El estudio del pentobarbital sódico como fármaco de referencia se utilizó también en las pruebas de rota rod y tracción, para observar su efecto sobre la coordinación motora (gráfica 8) y la relajación muscular (gráfica 9). Se observa que a dosis de 42 mg/kg se llega a la hipnosis la cual dura 32.4 minutos y una recuperación total a los 60 minutos en ambas pruebas, mientras que a dosis de 20 mg/kg no se observa efecto sobre la coordinación motora y se observa sobre la relajación muscular una recuperación a los 30 minutos.

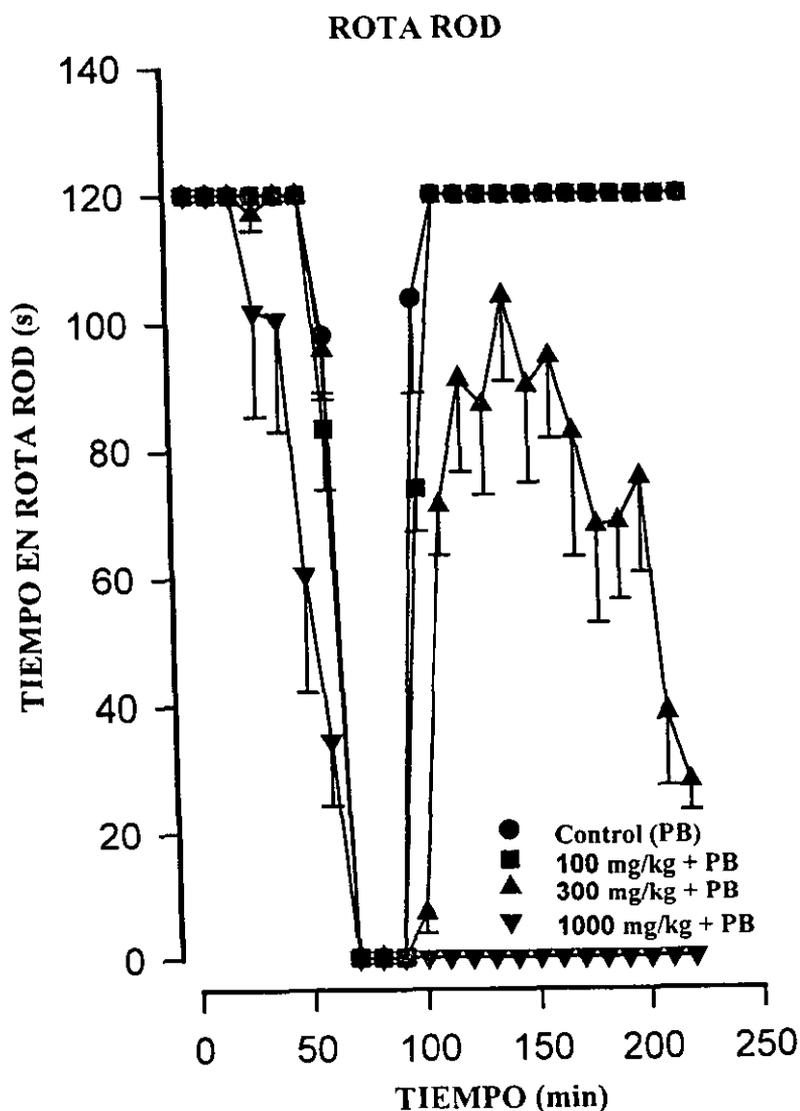


GRÁFICA 8. Efecto de pentobarbital sódico sobre la coordinación motora en la prueba de rota rod. Cada punto es la media \pm EEM de 6 animales.



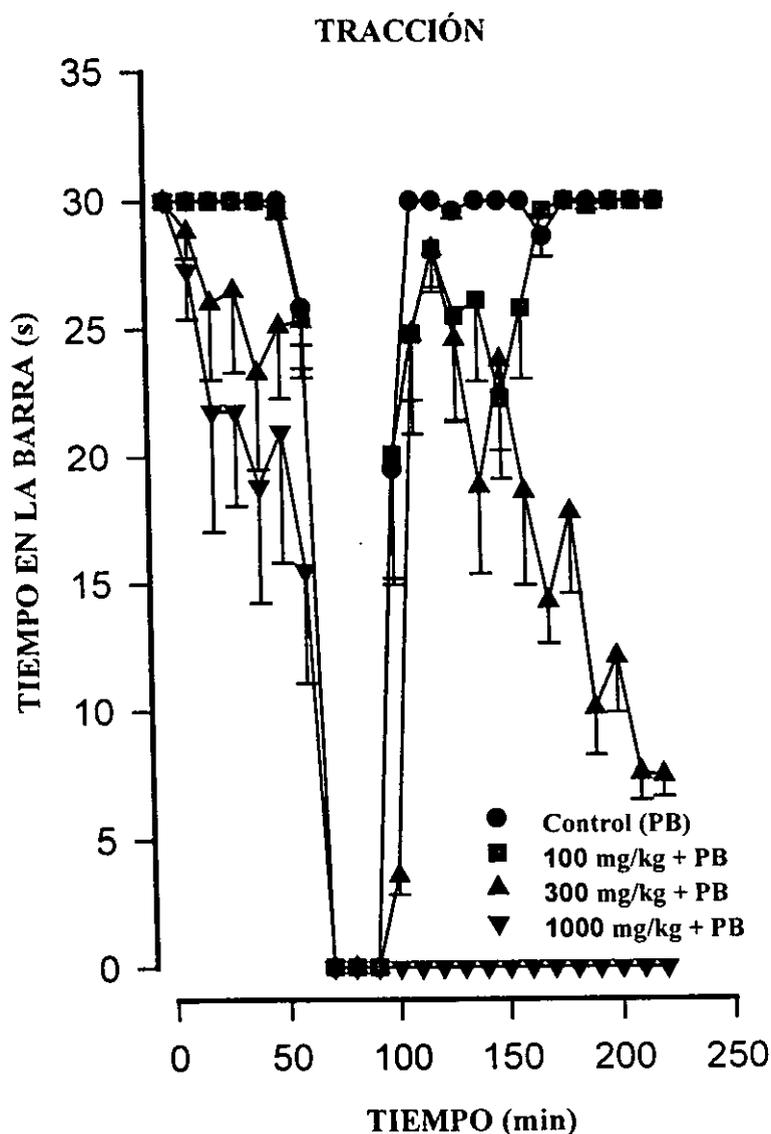
GRÁFICA 9. Efecto de pentobarbital sódico sobre la relajación muscular en la prueba de tracción. Cada punto es la media \pm EEM de 6 animales.

Además de evaluar la administración única de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* a las dosis indicadas (100, 300 y 1000 mg/kg) en las pruebas de rota rod y de tracción, también se realizaron ambas pruebas con administración del extracto hidroalcohólico a las dosis indicadas más una dosis de 42 mg/kg de pentobarbital sódico, que fue administrado 60 minutos después del extracto, como se observa en las gráficas 10 y 11. El control en ambas pruebas es pentobarbital sódico (42 mg/kg).



GRÁFICA 10. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* más pentobarbital sódico **PB** (42 mg/kg), sobre la coordinación motora en la prueba de rota rod. Cada punto es la media \pm EEM de 6 animales.

Las gráficas muestran curvas dosis-dependiente, en donde a la dosis de 1000 mg/kg los animales en tratamiento no se recuperan después de la administración del pentobarbital sódico, en tanto a la dosis de 300 mg/kg hay recuperación y posteriormente una caída sobre la coordinación motora y la relajación muscular, a la dosis de 100 mg/kg hay recuperación total. Lo anterior demuestra un efecto potenciador del extracto a dosis altas sobre el efecto de pentobarbital.



GRÁFICA 11. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* más pentobarbital sódico PB (42 mg/kg), sobre la relajación muscular en la prueba de tracción. Cada punto es la media \pm EEM de 6 animales.

De la tabla 1 a la 4 se presenta los resultados del efecto sobre la depresión del Sistema Nervioso Central del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera*, diacepam, doxilamina y difenhidramina respectivamente, mostrando valores de mediana y percentil (25 y 75%) en la prueba de ptosis palpebral.

TABLA 1. Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* sobre la depresión del SNC en la prueba de ptosis palpebral.

EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO (mg/kg)	MEDIANA	PERCENTIL	
		25 %	75 %
0	0	0	0
100	2.5 *	2	3
300	2 *	2	3
1000	2 *	2	2

Escala: 0 Abierto, 2 Medio cerrado, 4 Completamente cerrado, 1 y 3 Intermedios. * $p < 0.05$ respecto al control.

TABLA 2. Efecto de diacepam sobre la depresión del SNC en la prueba de ptosis palpebral.

DIACEPAM (mg/kg)	MEDIANA	PERCENTIL	
		25 %	75 %
0	0	0	0
1.25	0	0	0
2.5	0	0	0
5	0	0	0

Escala: 0 Abierto, 2 Medio cerrado, 4 Completamente cerrado, 1 y 3 Intermedios.

TABLA 3. Efecto de doxilamina sobre la depresión del SNC en la prueba de ptosis palpebral.

DOXILAMINA (mg/kg)	MEDIANA	PERCENTIL	
		25 %	75 %
0	0	0	0
40	0	0	0
80	0	0	0
100	0	0	0

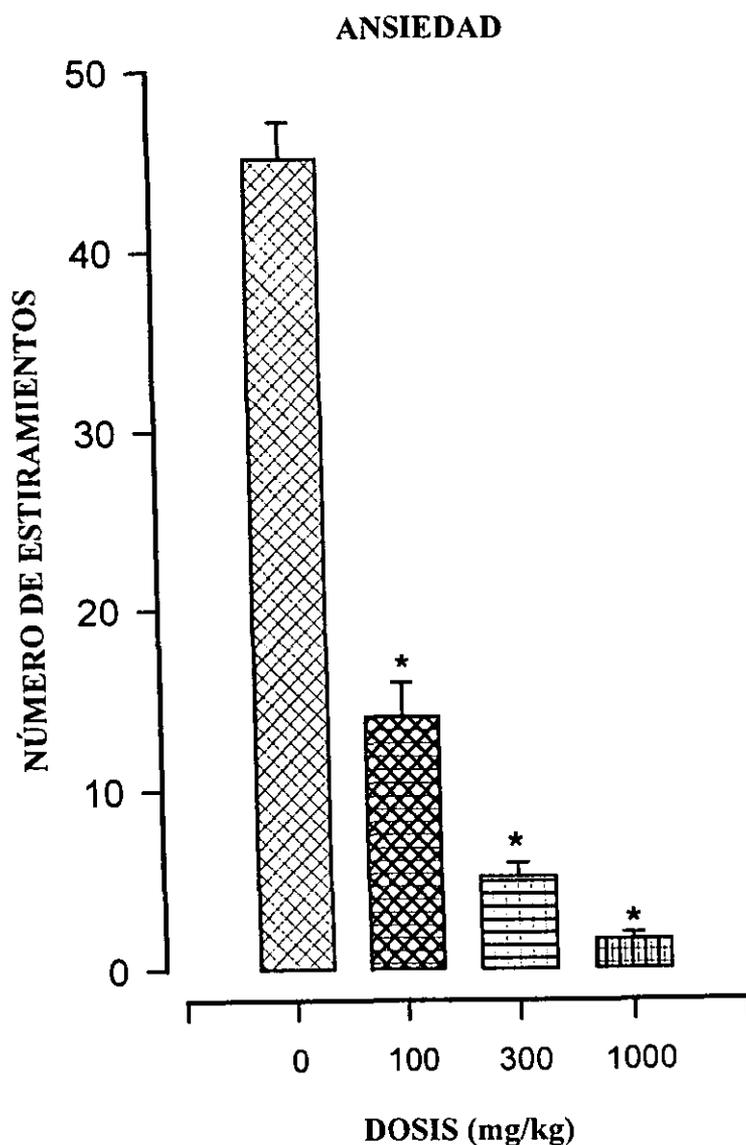
Escala: 0 Abierto, 2 Medio cerrado, 4 Completamente cerrado, 1 y 3 Intermedios.

TABLA 4. Efecto de difenhidramina sobre la depresión del SNC en la prueba de ptosis palpebral.

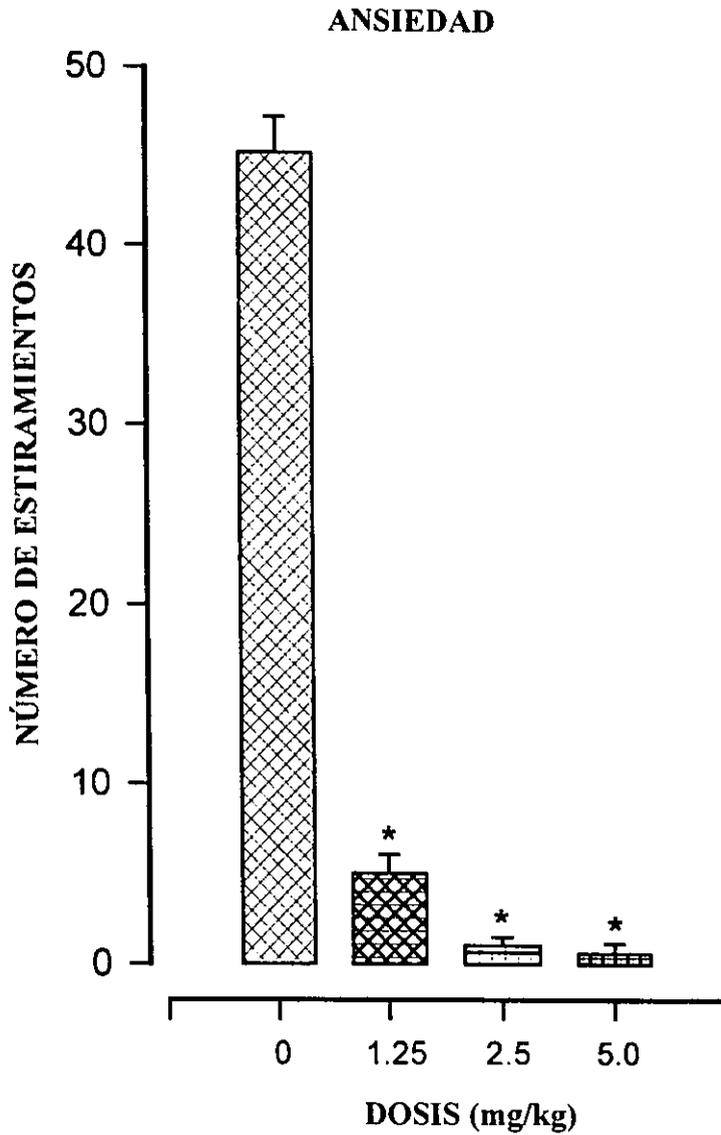
DIFENHIDRAMINA (mg/kg)	MEDIANA	PERCENTIL	
		25 %	75 %
0	0	0	0
10	0	0	0
15	0	0	0
20	0	0	0
40	0	0	0

Escala: 0 Abierto, 2 Medio cerrado, 4 Completamente cerrado, 1 y 3 Intermedios.

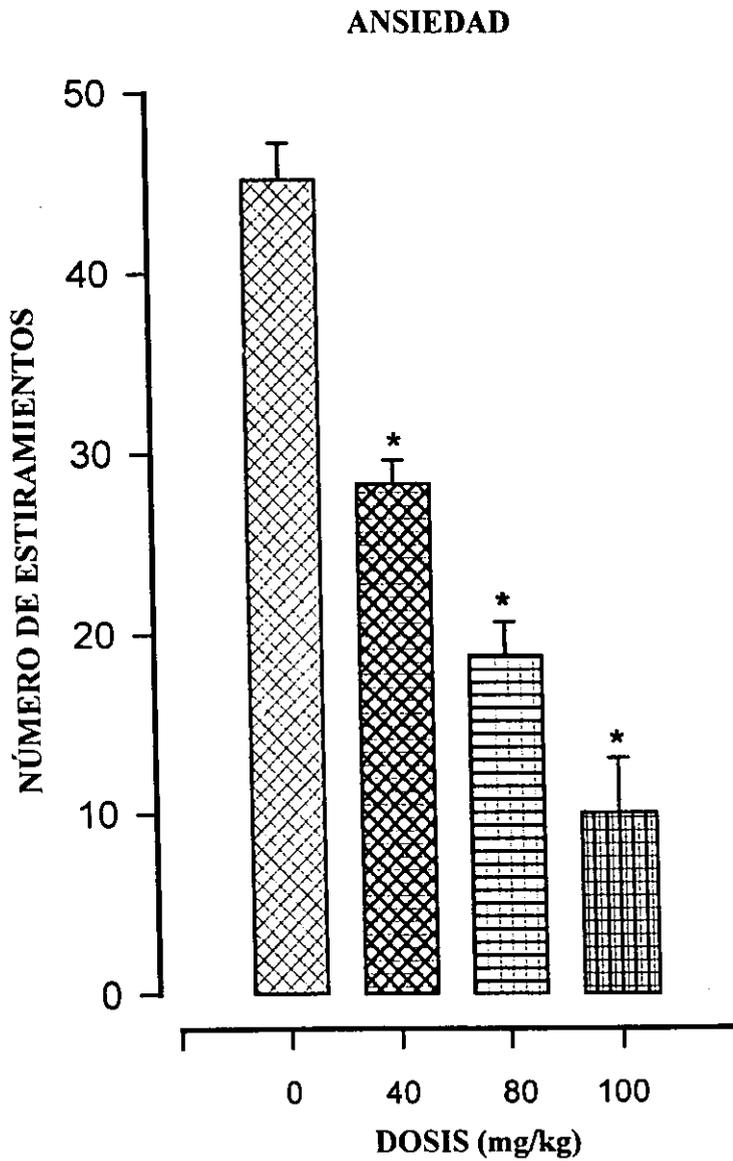
El efecto ansiolítico evaluado al extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera*, diacepam, doxilamina y difenhidramina se muestran en las gráficas 12, 13, 14 y 15 respectivamente, quienes producen un efecto dosis-dependiente con una diferencia estadísticamente significativa. Este efecto se estudio mediante la prueba de exploración.



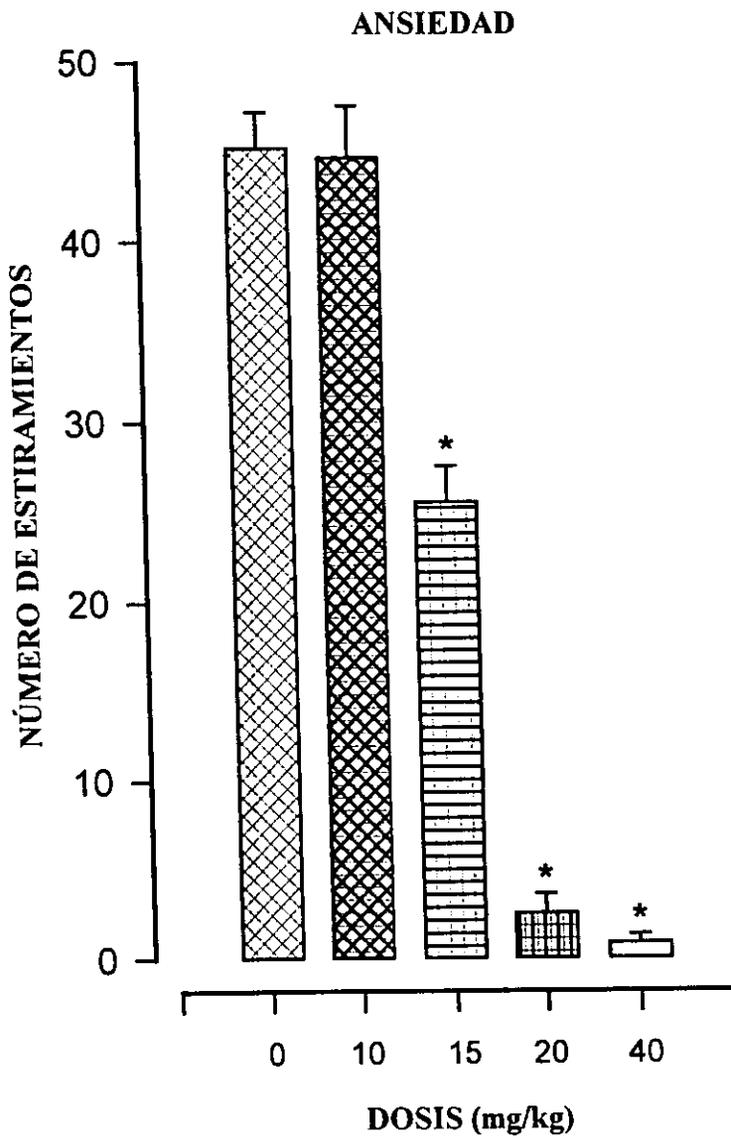
GRÁFICA 12. Efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* en la prueba de exploración. Cada barra es la media \pm EEM de 6 animales. * $p < 0.05$.



GRÁFICA 13. Efecto ansiolítico de diazepam en la prueba de exploración. Cada barra es la media \pm EEM de 6 animales. * $p < 0.05$.



GRÁFICA 14. Efecto ansiolítico de doxilamina en la prueba de exploración. Cada barra es la media \pm EEM de 6 animales. * $p < 0.05$.



GRÁFICA 15. Efecto ansiolítico de difenhidramina en la prueba de exploración. Cada barra es la media \pm EEM de 6 animales. * $p < 0.05$.

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* causa prolongación de la latencia de la aparición de las primeras convulsiones clónicas inducidas por pentilentetrazol y la prolongación de tiempo de muerte, produciendo una dosis-dependiente con diferencia estadísticamente significativa a las dosis evaluadas (gráficas 1 y 2). El mecanismo de acción del efecto anticonvulsionante del extracto hidroalcohólico tal vez es localizado en los canales de cloro de los receptores del GABA. Esto podría corresponder con el efecto del barbitúrico, en donde el extracto hidroalcohólico a dosis de 1000 mg/kg presenta potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico (gráfica 3). A través de los resultados obtenidos se sugiere que el efecto observado del extracto es causado por una interacción desconocida de la valeriana con el sitio de los receptores GABA, tal vez hay una interacción de los compuestos activos de la valeriana con el sitio de los receptores GABA. La actividad sobre la potenciación de la hipnosis de la valeriana indica que no puede ser usada conjuntamente con barbitúricos porque puede ocurrir una sedación excesiva, habiendo la necesidad de estar consciente de conocer el potencial de una interacción fármaco-extracto para el adecuado tratamiento de los pacientes.

La administración del extracto hidroalcohólico produce una inhibición creciente sobre la coordinación motora a dosis de 1000 mg/kg a los 60 minutos después de su administración, mientras que su efecto sobre la relajación muscular a dosis de 300 y 1000 mg/kg es casi inmediato (gráficas 4 y 5); donde se observa que a dosis de 300 mg/kg hay efecto máximo a los 20 minutos, posteriormente una recuperación y un declive en su relajación muscular a los 110 minutos. A la dosis de 1000 mg/kg hay un decreciente funcionamiento hasta llegar a una total inhibición a los 220 minutos.

El diazepam produce una total inhibición a los 20 minutos sobre la prueba de tracción a la dosis de 5 mg/kg, mientras que a la dosis de 2.5 y 1.25 mg/kg provocan una disminución, que con

el transcurso del tiempo de prueba hay una recuperación, así mismo el diacepam causa una disminución en la prueba de rota rod con una posterior recuperación total a los 60 minutos como se muestran en las gráficas 6 y 7. En tanto a dosis de 42 mg/kg de pentobarbital se llega a la hipnosis con una duración de 32.4 minutos y una recuperación a los 60 minutos en ambas pruebas y, a dosis de 20 mg/kg causa una disminución con una recuperación a los 30 minutos sobre la relajación muscular y no provoca efecto sobre la coordinación motora (gráficas 8 y 9). Estas pruebas pueden ser usadas para discriminar entre un relajante muscular primario (diacepam) y uno más general con actividad depresiva central (pentobarbital).

Se puede ver que en las gráficas 10 y 11, a los animales de experimentación se les administró primero extracto y 60 minutos después pentobarbital sódico (42 mg/kg), sobre las pruebas de rota rod y de tracción. Las gráficas muestran curvas dosis-dependiente, en las cuales a dosis de 1000 mg/kg hay una total inhibición en ambas pruebas luego de la administración de pentobarbital, en tanto que a la dosis de 300 mg/kg hay recuperación y posteriormente una disminución sobre la coordinación motora y la relajación muscular, a la dosis de 100 mg/kg los animales se recuperan totalmente. En estas pruebas se pueden apreciar mejor la potenciación del efecto de pentobarbital sódico sobre el SNC.

El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* también produce depresión significativa sobre el Sistema Nervioso Central en la prueba de ptosis palpebral, este efecto es provocado a la dosis de 100, 300 y 1000 mg/kg como lo muestra la tabla 1. En tanto que el diacepam, doxilamina y difenhidramina (tabla 2, 3 y 4 respectivamente) no presentan este efecto. Esto marca diferencias entre el efecto de *Valeriana edulis* ssp. *procera* y los fármacos antes mencionados con acción sobre el SNC.

La evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico se realizó mediante la prueba de exploración como se muestra en la gráfica 12, en la cual se observa una disminución

significativa a la dosis de 100, 300 y 1000 mg/kg con una respuesta dosis-dependiente, así como también se muestran en las gráficas 13, 14 y 15 el efecto ansiolítico de diazepam, doxilamina y difenhidramina respectivamente. El diazepam es un fármaco ansiolítico ampliamente utilizado por ser efectivo y seguro, su propiedad terapéutica se debe a su acción inhibitoria sobre los receptores GABA ó la alteración de la afinidad de los receptores GABA para la neurotransmisión, esta misma acción se sugiere presenta el extracto hidroalcohólico para explicar su propiedad terapéutica. La difenhidramina y doxilamina son antihistamínicos quienes antagonizan a los receptores H₁ de la histamina, quién puede ejercer efectos locales o generales sobre el músculo liso (estimulación), estos antagonistas H₁ deprimen el SNC y presentan sedación como efecto colateral entre otros. Se asume que el efecto ansiolítico presentado por la *Valeriana edulis* ssp. *procera* es ejercido de manera similar por los antihistamínicos. Este es el primer estudio descrito en donde se evaluó la actividad ansiolítica tanto de la *Valeriana edulis* ssp. *procera* como de la familia Valerianaceae.

Cabe señalar que el método de preparación del extracto hidroalcohólico se obtuvo a través de maceración a temperatura ambiente y su concentración se llevo a cabo con una corriente de aire a temperatura ambiente esto debido a la poca estabilidad de los valepotriatos (Bos *et al.*, 1996; Bicchi *et al.*, 2000) a quienes se les atribuye la actividad terapéutica junto con el ácido valerénico (Houghton, 1988). Se sabe que las preparaciones a partir de raíz fresca de Valeriana contienen gran cantidad de valepotriatos incluyendo aquellas obtenidas por micropropagación (Gao y Björk, 2000) y se puede concluir que solamente extractos con valepotriatos presenta actividad farmacológica tomando en cuenta que los valepotriatos presentan citotoxicidad e inhibición de la síntesis del DNA (Bounthanh *et al.*, 1981; Bos *et al.*, 1998).

Por otra parte son necesarios estudios futuros para evaluar el contenido del o los principios activos de la *Valeriana edulis* ssp. *procera* obtenida por el método de micropropagación (Enciso-Rodríguez, 1997), que permite al material seco conservar su composición en un estado capaz de responder por sus propiedades terapéuticas.

IX. CONCLUSIONES.

- 1- El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* presenta actividad sobre el Sistema Nervioso Central, algunos de los efectos son similares a los de la especie *Valeriana officinalis* de la que se tienen más estudios.
- 2- El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana edulis* ssp. *procera* potencia el efecto hipnótico y prolonga el periodo de latencia de la aparición de las convulsiones clónicas-tónicas.
- 3- Este es el primer estudio neurofarmacológico de esta especie medicinal mexicana de interés industrial, el cual demuestra que la forma de obtención por micropropagación de esta especie conserva la acción sobre el Sistema Nervioso Central.

X. BIBLIOGRAFÍA.

- Bicchi, C., Binello, A., Rubiolo, P. (2000). Packed column SF/UV versus HPLC/UV análisis of valeranic acids and valepotriates in extracts of *Valeriana officinalis* L. *Phytochemical Analysis*. **11**, 179-183.
- Bina, S., Razia, S., Sabira, B., Atiya, Z., Amin, S (1997). Cardenolides from the methanolic extract of *Nerium oleander* leaves possessing central nervous system depressant activity in mice. *J. Nat. Prod.* **60** (6):540-544.
- Bloom, E. F. (1996). Neurotransmisión y sistema nervioso central. En Hardman, J., Limbird, L., Molinoff, P., Raddio, R., Goodman, A. (Editores) Goodman & Gilamn. Las bases Farmacológicas de la Terapéutica. Vol. 1. 9ª ed. Ed. Mc Graw hill-Interamericana, México. 283-287.
- Boissier, J., Simon, P., Zaczinska, M., Fichelle, J., (1972). Etude psychopharmacologique experimentale d'une nouvelle substance psychotrope, la 2-ethylamino-6-chloro-4-phenyl-4,3,1-bezoxacine. *Therapie*. **27**, 325-338.
- Bos, R., Woerdenbag, H., Hendriks, H., Zwaving, J., De Smet, P., Tittel, G., Wikström, H., Scheffer, J. (1996). Analytical aspects of phitotherapeutic valerian preparations. *Phytochem Analysis*. **7**, 143-151.

- Bos, R., Hendriks, H., Scheffer, J., Woerdenbag, H. (1998). Cytotoxic potential of valerian constituents and valerian tinctures. *Phytomedicine*. 5(3):219-225.
- Bos, R., Woerdenbag, H., Van Putten, F., Hendriks, H., Scheffer, J. (1998). Seasonal variation of the essential oil, valerenic acid and derivatives, and valepotriates in *Valeriana officinalis* roots and rhizomes, and the selection of plants suitable for phytomedicines. *Planta Med.* 64(2):143-147.
- Bounthanh, C., Bergmann, C., Beck, J., Haag-Berrurier, H., Anton, R. (1981). Valepotriates, a new class of cytotoxic and antitumor agents. *Planta Med.* 41, 21-28.
- Bourin, M., Bougerol, T., Guitton, B., Broutin, E. (1997). A combination of plant extracts in the treatment of outpatients with adjustment disorder with anxious mood: controlled study versus placebo. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 11(2):127-132.
- Cerny, A. (1999). Tolerability and efficacy of valerian/lemon balm in healthy volunteers (a double-blind, placebo-controlled, multicentre study). *Fitoterapia*. 70, 221-228.
- Denee, R., Bos, R., Hazelhoff, B. (1979). Isolation and structure elucidation of isovaltral, a decomposition product of isovaltrate. *Planta Med.* 37, 45-48.
- Dossaji, S. y Becker, H. (1981). HPLC separation and quantitative determination of valepotriates from *Valeriana kilimandascharica*. *Planta Med.* 43, 179-182.

- DreBing, H. (1992). Insomnia: are valerian/balm combinations of equal value to benzodiazepine?. *Therapiewoche*. **42**, 726-736.
- Duke, J. (1973). Utilization of papaver. *Economic Botany*. **27**, 390.
- Duke, J. (1985). Handbook of medicinal herbs. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Enciso-Rodríguez, R. (1997). Micropropagation of *Valeriana edulis* ssp. *procera*. *Planta Med.* **63**, 274-275.
- Foerster, W., Becker, H., Rodriguez, E. (1984). HPLC analysis of valepotriates in the North American genera plectritis and valeriana. *Planta Med.* **50**, 7-9.
- Gao, X. y Björk, L. (2000). Valerenic acid derivatives and valepotriates among individuals, varieties and species of *Valeriana*. *Fitoterapia*. **71**, 19-24.
- González - Trujano, M. E., Navarrete, A., Reyes, B., Hong, E. (1998). Some pharmacological effects of the ethanol extract of leaves of *Annona diversifolia* on the central nervous System in mice. *Phytotherapy Research*. **12**, 600-602.
- Gränicher, F., Christen, P., Vuagnat, P. (1994). Rapid high performance liquid chromatographic quantification of valepotriates in hairy root cultures of *Valeriana officinalis* L. var. *sambucifolia* mikan. *Phytochem. Analysis*. **5**, 297-301.

- Hazelhoff, B., Weert, B., Malingre, T. (1981). Isolation and analytical aspects of valeriana compounds. II. A statistical compararison of extraction procedures and of quantitative determinations of (iso)valtrate. *Pharm. Weekbl. Sci. Ed.* 3(3):810-814. En Chemical Abstracts (1981) Vol. 95, 347.
- Hazelhoff, B., Jellema, R., Grobber, H., Malingre, T. (1982). Separation of valtrate and isovaltrate by means of preparative liquid chromatography. . *Pharm. Weekbl. Sci. Ed.* 4(1):21-24. En Chemical Abstracts (1982) Vol. 96, 410.
- Hazelhoff, B., Maligré, T., Meiger, D. (1982). Antipasmodic effects of valeriana compounds: an in vivo and in vitro study on the guinea-pig ileum. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 257(29):274-287.
- Hendriks, H., Bos, R., Woerdenbag, H., Koster, A. (1985). Central nervous depressant activity of valerenic acid in the mouse. *Planta Med.* 51, 28-31.
- Hiller, K. y Zetler, G. (1996). Neuropharmacological studies on ethanol extracts of *Valeriana officinalis* L.: behavioural and anticonvulsant properties. *Phytother. Res.* 10, 145-151.
- Hobbs, C. (1989). Valerian: a literature review. *Herbalgram.* 21,19.
- Hoffman, J. (1990). The historical shift in the perception of opiates: from medicine to social menace. *J. Pshychoactive Drugs.* 22, 53.

- Houghton, P. (1999). The scientific for the reputed activity of valerian. *J. Pharm. Pharmacol.* **51**(5):505-512.
- Javkovlev, V., Isaac, O., Thiemer, K., Kunder, R. (1979). Pharmacological investigations with compounds of chamomile II. New investigations on the antiphlogistic effects of (-)- α -bisabolol and bisabolol oxides. *Planta Med.* **35**, 125-140.
- Kamm-Kohl, A. (1984). Modern valerian therapy of nervous disorders in elderly patients. *Med. Welt.* **35**, 1450-1452.
- Lawrence (1989). The Lawrence review of natural products. May. 1989. pp. 2.
- Lawrence (1990). The Lawrence review of natural products. Sep 1990. pp. 3.
- Lawrence (1990). The Lawrence review of natural products. Jan. 1990. pp. 1.
- Lawrence (1990). The Lawrence review of natural products. Dec . 1990. pp. 2.
- Lawrence (1991). The Lawrence review of natural products. Mar. 1991. pp. 2
- Lawrence (1991). The Lawrence review of natural products. Jul. 1991. pp. 2.

- Lawrence (1992). The Lawrence review of natural products. Apr. 1992. pp. 1.
- Lawrence (1993). The Lawrence review of natural products. Jan. 1993. pp. 2.
- Lawrence (1996). The Lawrence review of natural products. Dec. 1996. pp. 2.
- Lawrence (1996). The Lawrence review of natural products. Nov. 1996. pp. 3.
- Lawrence (1997). The Lawrence review of natural products. June. 1997. pp. 4.
- Lawrence (1997). The Lawrence review of natural products. Nov. 1997. pp. 3.
- Lawrence (1999). The Lawrence review of natural products. Oct. 1999. pp. 3.
- Leathwood, P., Chauffard, F., Heck, E., Muñoz-Box, R. (1982). Aqueous extract of valerian root (*Valeriana officinalis* L.) improves sleep quality in man. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 17(1):65-71.
- Leathwood, P. y Chauffard, F. (1985). Aqueous extract of valerian reduces latency to fall asleep in man. *Planta Med.* Apr.(2): 144-148.

- Leung, A. (1980). Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. New, York, NY: J. Wiley and Sons.
- Lucinda, G. y Miller, P. (1998). Herbal medicinals. *Arch. Intern. Med.* **158** (9): 2200-2210.
- Martínez, M. (1987). Catálogo de nombres vulgares y científicos de planta mexicanas. De Fondo Cultura Económica. México, D. F.
- Muñoz, F. (1993). Plantas medicinales y aromáticas. Estudio, cultivo y procesado. Mundi-Prensa. España. 291-294.
- Nedyalka, V., Nevena, N., Simeon, S. (1987). Chemical ionization mass spectrometry of valepotriates using isobutene as reactant gas. *Planta Med.* **10**, 198-201.
- Ortiz, J., Nieves-Natal, J., Chavez, P. (1999). Effects of Valerian officinalis extracts on [3H]flunitrazepam binding, synaptosomal [3H]GABA uptake, and hippocampal [3H]GABA release. *Neurochem. Res.* **24**(11):1373-1378.
- Pahwa, R., (1989). The toxicity of Mexican poppy (*Argemone mexicana* L) seeds to rats. *Vet. Human. Toxicol.* **31**, 555.

- Paladini, A., Marder, M., Viola, H., Wolfman, C., Medina, J. (1997). Flavonoids and the central nervous system: from forgotten factors to potent anxiolytic compounds. *J. Pharm. Pharmacol.* **51**(5):519-526.
- Pesce, E. (1992). Productos farmacéuticos de plantas medicinales. En Estrada L. E. (Editor). *Plantas medicinales de México. Introducción a su estudio.* 4ª ed. Universidad Autónoma Chapingo, México. 279-294.
- Pittler, M. y Ernst, E. (2000). Efficacy of kava extract for treating anxiety: systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Psychopharm.* **20**(1):84-89.
- Riedel, E., Hänsel, R., Ehrke, G. (1982). Inhibition of gamma-aminobutyric acid catabolism by valerianic acid derivatives. *Planta Med.* **46**, 219-220.
- Rubin, B., Malone, M., Waugh, M. (1957). Bioassays of rauwolfia roots and alkaloids. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **120**, 125-136.
- Sánchez, S., F. (1980). La flora del valle de México. 6ª ed. Ed. Herrero. México. 382-383.
- Santos, M., Ferreira, F., Faro, C., Pires, E., Carvalho, A., Cunha, A., Macedo, T. (1994). The amount of GABA present in aqueous extracts of valerian is sufficient to account for [3H]GABA release in synaptosomes. *Planta Med.* **60**(5):475-476.

- Schauenberg, P. y Paris, F. (1977). Guide to medicinal plants. New Cannon, CT: Keats Publishing, Inc.
- Scherry, C., Ray, L., Herron, R. (1982). The pharmacological effects of the ligroin extract of nutmeg (*myristica fragans*). *J. Ethnopharm.* 6(1):61-66.
- Shulz, H. (1994). The effect of valerian extract on sleep polygraphy in poor sleepers: a pilot study *Pharmacopsychiatry.* 27(4):147-151.
- Speroni, E. y Mingheft, A. (1988). Neuropharmacological activity of extracts from *Pasiflora incarnata*. *Planta Med.* 54, 488-491.
- Steger, W. (1985). Depressions: a randomized double blind study to compare the efficaciousness of a combination of plant derived extracts with a synthetic antidepressant. *Ther. Erfahrungen.* 61, 914-918.
- Suzuki, H., Zhang, B., Harada, M., Lida, O., Satake, M. (1993). Quantitative studies on terpenes of Japanese and European valerians. *Shoyakugaku Zasshi.* 47(3):305-310. En *Chemical abstracts* (1994). Vol. 120, 498.
- Tittel, G., Chari, V., Wagner, H. (1978). HPLC-analise von *Valeriana mexicana* extrakten. *Planta Med.* 34,305-310.

Tyler, V. (1987). *The new honest herbal*. Philadelphia, PA: G. F. Stickley Co.

Volák, J. y Stodola, J. (1992). *El gran libro de las plantas medicinales*. 4ª ed. Ed. Susaeta. España. 283.

Von der Hude, W., Scheutwinkel-Reich, M., Braun, R. (1986). Bacterial mutagenicity of the tranquilizing constituents of Valerianaceae roots. *Mut. Res.* **169**, 23-27.

Vorbach, E. (1996). Therapie von insomnien: wirksamkeit und verträglichkeit eines baldrianpräparates. *Psychopharmakotherapie*. 3109.

Wagner H., Hörhammer L., Hölz J., Schaette R. (1970). Zur bestimmung der baldrian-droga und ihrer zubereitungen. *Arzneimittel Forschung*. **20**(8):1149-1152.

Wagner, H. (1999). Phytomedicine research in Germany. *Environmental Health Perspectives*. **107**(10):779-781.

Willey, L., Mady, S., Cobaugh, D., Wax, P. (1995). Valerian overdose: a case report. *Vet. Hum. Toxicol.* **37**(4):364-365.

Wren, R. (1994). *Enciclopedia de medicina herbolaria y preparados botánicos*. Ed. Grijalbo. México. 664-665.