

1
00524
139



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Efecto del Extracto Hexánico de las hojas de *Annona cherimolia* en modelos animales de ansiedad

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo de grado.
NOMBRE: Beatriz Piña Medina
FECHA: 15 Agosto
FIRMA: Beatriz Piña Medina

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

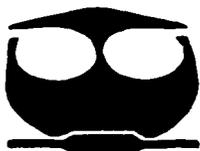
PRESENTA

Beatriz Piña Medina



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

México DF. Agosto 2003





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.

PAGINACION

DISCONTINUA

Jurado asignado:

Presidente: María Elena Villatoro Méndez

Vocal: Ana María Vázquez Álvarez

Secretario: Carolina López Rubalcava

1er suplente: Héctor Ríos Olivares

2º suplente: Alejandro Ortiz Osorio

Sitio donde se desarrolló el tema: Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente y
Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
(CINVESTAV-IPN)

Asesor del tema: Carolina López Rubalcava

Sustentante: Beatriz Piña Medina



**Efecto del Extracto Hexánico
de las hojas de
Annona cherimolia
en modelos animales de ansiedad**

Índice

pag.

1. -	Introducción	6
2. -	Antecedentes	7
2.1.	La medicina tradicional	7
2.2.	La herbolaria en México	8
2.3.	Etnobotánica	9
2.4.	Las <i>Annonas</i> en México	10
2.4.1.	Generalidades	10
2.4.2.	Características	10
2.4.3.	Distribución	11
2.4.4.	Uso medicinal de las <i>Annonas</i>	13
2.5.	La <i>Annona cherimolia</i>	14
a)	Características	14
b)	Estudios realizados a el extracto hexánico de <i>Annona cherimolia</i>	15
2.6.	Modelos Experimentales para el estudio de la ansiedad.	18
2.6.1.	Definición de Ansiedad.	18
2.6.2.	Clasificación de los trastornos de ansiedad.	18
a)	Fobias	18
b)	Estados de ansiedad.	18
c)	Trastornos postraumáticos.	19
2.6.3.	Modelos animales para el estudio de desordenes psiquiátricos.	19
2.6.4.	Modelos experimentales que se utilizan para el estudio de la ansiedad.	19
1)	Modelo con estímulo aversivo natural	19
2)	Modelo con estímulo aversivo no natural	19
2.6.5.	Conducta Exploratoria en un Ambiente Aversivo	20

2.6.6. Conducta de Enterramiento Defensivo	20
2.7. Sistema GABA/Benzodiazepínico	21
2.7.1. Receptores a GABA.	21
3.- Justificación	23
4.- Hipótesis	23
5.- Objetivos.	23
6.- Material y Métodos:	24
6.1 Extracción hexánica de las hojas de <i>Annona cherimolia</i>	24
6.2 Sujetos experimentales	25
6.3 Modelos Animales de ansiedad.	25
a) Prueba de exploración en un ambiente aversivo	25
b) Prueba de conducta de enterramiento defensivo	26
6.4 Prueba de Actividad locomotriz	28
6.5 Series Experimentales.	29
7. - Resultados	34
7.1 Análisis Estadístico	35
8.- Discusión de resultados.	51
9.- Conclusiones	56
10.- Apéndice	59
I.- Compuestos GABAérgicos utilizados en el presente trabajo	59
II.- Plantas Medicinales con propiedades sedantes, anticonvulsivas e hipnóticas en Medicina tradicional mexicana.	60
11.- Bibliografía	65

La presente tesis se realizó bajo la dirección de la Dra. Carolina López Rubalcava, Investigador titular del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-IPN). El trabajo experimental se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, en el Laboratorio de Farmacología Conductual. El Extracto Hexánico de las hojas de *Annona cherimolia* fueron obtenidos en el Laboratorio de Fitoquímica del Instituto Nacional de Psiquiatría.

5-D

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Carolina López Rubalcava, por su apoyo, experiencia, comprensión y cariño durante todo este tiempo, para concluir exitosamente este trabajo.

Con todo mi amor a mi hijo José Carlos por su tenacidad e insistencia para que concluyera la parte fundamental de mi carrera.

A la Dra. Lucía Alba Martínez Mota y a la Dra. Erika Monserrat Estrada Camarena por su amistad, apoyo incondicional y revisión de este trabajo.

A mis padres y hermanos por todo lo que me han apoyado a lo largo de mi vida, por su cariño y comprensión.

A mi esposo Juan Manuel y a mi hija María Itzel, con cariño y esperando que seamos una verdadera FAMILIA.

ABREVIATURAS

GABA	Ácido gamma amino butírico
cm.	Centímetro
CEAA	Conducta de exploración en un ambiente aversivo
Fig.	Figura
g.	Gramo
hr.	Horas
LA	Latencia de enterramiento
m.	Metro
mA.	miliAmpere
mg.	Miligramo
min.	Minuto
T.A.	Temperatura ambiente
TE	Tiempo de enterramiento

1.- Introducción

En la actualidad la investigación científica ha desarrollado un gran número de productos sintéticos para mantener la salud. Algunos de estos son usados para el tratamiento de enfermedades psiquiátricas tales como el estrés, la ansiedad, la depresión y otros trastornos relacionados con el Sistema Nervioso Central (31). La investigación en productos provenientes de plantas con uso medicinal ha surgido como una opción en el desarrollo de compuestos para el tratamiento de la ansiedad y de otros trastornos psiquiátricos (31). En general, las plantas son utilizadas en medicina tradicional por pacientes con enfermedades crónicas, como complemento o alternativa médica (34). Tal es el caso en particular de la *Annona cherimolia* que es utilizada como antidiarreico, contra la pulmonía y como analgésico (26). Es interesante señalar que para esta *Annona* también se han descrito efectos depresivos sobre el Sistema Nervioso Central, por esta razón, se realizaron estudios controlados que permitieron analizar las posibles propiedades ansiolíticas de esta planta (8). El propósito de este trabajo es obtener la extracción hexánica de hojas de *A. cherimolia* y evaluarlo en pruebas biológicas con el fin de determinar su posible efecto ansiolítico. Los modelos de ansiedad empleados fueron el paradigma de exploración en un ambiente aversivo y la prueba de conducta de enterramiento defensivo. El primero de ellos, se basa en las tendencias naturales que tienen los roedores para explorar zonas desconocidas y evitar áreas iluminadas; en este modelo los ansiolíticos clásicos (benzodiazepinas) aumentan, en forma dosis dependiente, el número de transiciones entre las dos áreas (iluminada y oscura). El segundo modelo consiste en someter al roedor a un estímulo aversivo que en este caso es un electrodo con corriente eléctrica de 0.3 mA. Este estímulo aversivo induce una respuesta innata que consiste en enterrar el electrodo con el material que cubre el fondo de la caja de alojamiento (aserrín).

Posteriormente, se determinó la participación del sistema GABAérgico en el efecto ansiolítico de la de *A. cherimolia*. Para ello, se trató de bloquear el efecto de *A. cherimolia* con un antagonista del receptor GABA/Benzodiacepínico, la picrotoxina. Para confirmar la participación del sistema GABAérgico se utilizó un agonista del neurotransmisor GABA para tratar de sinergizar el efecto de la *A. cherimolia*.

2.- Antecedentes

2.1.- La Medicina Tradicional.

El hombre ha buscado empíricamente en la flora de su hábitat medicamentos contra las enfermedades de nuestra especie. Desde el paleolítico hasta nuestros días esta investigación ha tenido continuidad, primero sin más fundamento que la intuición y la práctica de prueba y error, donde diversas culturas del mundo han contribuido con el conocimiento de propiedades curativas de diversas plantas, por ejemplo, el resino en Egipto, la colchicina en Grecia, el opio en Medio Oriente, la belladona en Roma, la digital en Inglaterra, la efedrina y el ginseng en China (15). También Sudamérica contribuyó con el curare y la cocaína (15). Finalmente surgió la reserpina de la India y África, la cual es utilizada por psiquiatras y cardiólogos (15). Cabe señalar que con el descubrimiento de hongos productores de antibióticos se desarrollaron medicamentos importantes tales como: la penicilina en Inglaterra, la estreptomocina en Estados Unidos, el cloranfenicol en Venezuela, la eritromicina en Filipinas, la cefalosporina y las rifamicina en Italia, entre otros (15).

Es importante mencionar que el conocimiento de la medicina tradicional y las virtudes de las plantas medicinales es uno de los vínculos más directos que existen entre la medicina empírica del pasado y la farmacología actual (32).

2.2.- La herbolaria en México.

En México existe una gran diversidad biológica de plantas medicinales con acción terapéutica, sólo algunas de ellas son el zoapatl, la yoloxóchitl, el zapote blanco, el peyote, los hongos alucinógenos, el toloache y el gordolobo entre otros (15). Desde sus primeras incursiones al Continente Americano los españoles, encontraron una gran variedad de árboles, plantas y animales nunca antes vistos. En 1570 Francisco Hernández reunió la información de 2200 plantas medicinales mexicanas, las mismas que ordenó de manera geográfica según el lugar en donde las vio, y las describió siguiendo un índice alfabético, ya que no existía la botánica que las ordena según su género y especie. Se puede decir que la herbolaria medicinal prehispánica fue importante para el conocimiento botánico médico actual y España fue la puerta de entrada de los “remedios americanos” los cuales se distribuyeron por toda Europa revolucionando la medicina clásica.(32).

Con la llegada de Cortés, vinieron curanderos o “sanadores” que tenían conocimientos del arte de curar. Sin embargo, las recetas que conocían no las podían preparar con las plantas medicinales de México, por lo que al acercarse a los médicos indígenas, se dieron cuenta de sus conocimientos sobre las plantas medicinales y la efectividad con la que eran administradas. Por lo que surge la medicina tradicional mexicana (27).

A lo largo de su historia, México ha sido centro de interés por sus recursos naturales, específicamente las plantas medicinales, han llamado la atención por sus extraordinarios resultados terapéuticos (27). Actualmente, nos encontramos en otro momento en el que la ciencia se detiene a observar los elementos que crecen a su alrededor y trata de explicarlos, con estructuras moleculares y atómicas, por lo que se está en el umbral de un nuevo paso de revalorización de las plantas medicinales mexicanas (27).

2.3. Etnobotánica.

Etnobotánica es la ciencia que clasifica y estudia los usos de las plantas y hierbas medicinales.

México es un país de gran diversidad florística y su población, a través del tiempo, ha sabido aprovechar esos recursos naturales para su beneficio. Así, encontramos plantas que se usan para diversos fines, tanto de orden alimenticio como de forraje, ornamental o medicinal. Las plantas medicinales forman parte importante de los recursos terapéuticos que emplea la medicina tradicional mexicana y han representado desde siempre una alternativa a otro tipo de recursos para la salud (1). Dada esta circunstancia, es evidente la necesidad de conocer la flora medicinal del país, realizando diferentes abordajes, por ejemplo:

- 1.- Investigaciones de tipo etnobotánico entre los diferentes grupos étnicos, en zonas rurales y urbanas y en las diversas regiones ecológicas que conforman el territorio nacional.
- 2.- Investigaciones bibliográficas sobre la planta.
- 3.- Investigación botánica y etnológica en los mercados de plantas medicinales.
- 4.- Investigación sociológica y antropológica llevada a cabo mediante la elaboración de encuestas y otras técnicas sobre el papel social, económico e ideológico de la Herbolaria.
- 5.- Revisión de la información Etnobotánica depositada en las muestras del herbario.

La última opción, la investigación en herbarios, constituye una fuente de información. Este es un medio que proporciona referencias y datos de primera mano, y aunados al material terapéutico o de referencia, constituyen un acervo informativo que puede guiar, sugerir o delimitar las investigaciones posteriores que se pretendan realizar en

los campos de la fitoquímica, farmacología, antropología, medicina, historia, veterinaria, y naturalmente Etnobotánica (1).

De un herbario podemos obtener los primeros datos acerca de las *Annonas* y en particular las de México.

2.4. Las *Annonas* en México

2.4.1. Generalidades.

La familia Annonaceae esta formada por 120 géneros, con más de 2000 especies. El nombre de la familia Annonaceae es derivado del latín y significa *la cosecha es anual*. Económicamente son importantes, ya que sus frutos son comestibles y considerados como los más finos y deliciosos de América. El aceite de algunas semillas puede ser usado para la producción de aceites comestibles y jabones; la madera de algunas plantas de esta familia Annonaceae también es empleada para la producción de alcohol y la fragancia de las flores es utilizada como material para perfumería (18, 26).

2.4.2. Características.

Las Annonaceae son árboles ó arbustos muy grandes, que crecen en regiones tropicales y subtropicales, se desarrollan entre la hierba y a veces son trepadoras. La fragancia de las flores se encuentra en todas las partes de la planta, las hojas son alternadas, con brillo metálico, son hermafroditas y los estambres están arreglados en forma de espiral (18, 26).

2.4.3. Distribución.

Aunque están bien definidas, las *Amonaceae* son difíciles de dividir en grupos dentro de su género. El orden de la subfamilia de las *Annonaideae* incluye otros géneros y esta subdividido en tribus y especies (18). En la tabla No. 1 se presenta la relación de las distintas especies del género *Annona* que se encuentran en México, los estados donde se desarrollan, así como también su nombre común (26).

Tabla 1. Distribución del género *Annona* en México

Nombre científico	Nombre común	Distribución
<i>A. cherimolia</i>	Chirimoya	Chiapas, México, Michoacán, Guerrero, Jalisco, Oaxaca, Yucatán, Morelos.
<i>A. muricata</i>	Guanábana	Colima, Sinaloa, Nayarit, Michoacán, Jalisco, Veracruz, Oaxaca, Chiapas, Yucatán, Tabasco.
<i>A. reticulata</i>	Anona colorada	Veracruz, Tabasco, Chiapas, Oaxaca, Yucatán.
<i>A. squamosa</i>	Saramullo	Jalisco, Chiapas, Yucatan.
<i>A. diversifolia</i>	Ilama	Colima, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Veracruz, Michoacán, Toluca, Yucatán, Morelos.
<i>A. lutescens</i>	Anona amarilla	Chiapas, Tabasco.
<i>A. globiflora</i>	Anona de monte	Tamaulipas, San Luis Potosí, Veracruz, Hidalgo
<i>A. longiflora</i>	Anona silvestre	Jalisco .
<i>A. premigenia</i>	Anona cimarrona	Campeche.
<i>A. purpurea</i>	Chincuya	Jalisco, Michoacán, Veracruz, Oaxaca, Chiapas, Yucatán.
<i>A. scloroderma</i>	Poshté	Yucatan, Campeche.
<i>A. palmeri</i>	Anonilla	Guerrero.
<i>A. longipes</i>	sin nombre	Veracruz.

Continuación. Tabla 1. Distribución del género *Annona* en México

Nombre científico	Nombre común	Distribución
<i>A. glabra</i>	Corcho	Guerrero, Tabasco, Yucatan, Veracruz
<i>A. excelsa</i>	sin nombre	Veracruz .
<i>A. liebmammiana</i>	sin nombre	Veracruz.

Tomada de Ruiz Sarabia y Morett Alatorre 1997

Más del 90% de las especies de *Annona* descritas en el mundo se localizan en la América tropical, por lo que esta región del continente es la más importante por la diversificación del género. De las especies americanas, dieciséis de ellas están en México, particularmente en tierras bajas tropicales. Cinco de estas especies mexicanas como la guanábana (*A. muricata*), el saramullo (*A. squamosa*), la anona colorada (*A. reticulata*), la ilama (*A. diversifolia*) y la chirimoya (*A. cherimilia*) son las más abundantes principalmente en tierras bajas tropicales (ver tabla 2). Todas ellas destacan por la calidad de sus frutos, razón por la cual es común encontrarlas también bajo cultivo (26).

Tabla 2. Principales *Annonas* cultivadas en México

Nombre	Centro de origen	Tipo de clima	Adaptación m	Tipo de Vegetación
A. cherimolia chirimoya	América tropical	Cálido, Semiseco, Seco Templado.	700-2600	Matorral xerófilo, bosque mesófito de montaña, de encino y pino-encino
A. reticulata Annona colorada	América tropical	Cálido, Semicálido, Templado	0-1000	Bosque tropical caducifolio, subcaducifolio, subperenifolio y otros.

Tomada de Ruiz Sarabia y Morett Alatorre 1997

Continuación. Tabla 2. Principales *Annonas* cultivadas en México

Nombre	Centro de origen	Tipo de clima	Adaptación m	Tipo de Vegetación
<i>A. squamosa</i> saramullo	Occidente de la India	Cálido. Semicálido. Templado.	7-1000	Bosque tropical caducifolio, subcaducifolio, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña
<i>A. muricata</i> guanábana	América tropical	Cálido	0-500	Bosque tropical, pino-encino
<i>A. diversifolia</i> llama	México	Cálido	250-600	Bosque tropical

Tomada de Ruiz Sarabia y Morett Alatorre 1997

2.4.4. Uso medicinal de las *Annonas*.

Las *Annonas* son muy apreciadas por la calidad de sus frutos, sin embargo, varias de sus especies poseen múltiples cualidades medicinales. Algunos de sus usos en medicina tradicional son para problemas digestivos como: antidiarreicos; son utilizados como antídoto en intoxicaciones, picaduras de alacrán y serpiente; también se utilizan en problemas respiratorios como el resfrío, asma, principios de tuberculosis, para combatir la pulmonía, hemorragia nasal; son utilizadas también para problemas de llagas en la cabeza, para el fortalecimiento del pelo, para combatir la caspa, además son útiles como antipirético, antiespasmódico, antitumoral, antihelmíntico, antimicrobiano, para entuertos, el mal de ojo, llagas, úlceras, el hipo, y como analgésico, entre otros (26).

Las *Annonas* tienen gran variedad de usos en medicina tradicional y en este trabajo, nos enfocaremos principalmente en la *Annona cherimolia*.

2.5. *Annona cherimolia*.

La chirimoya (*A. cherimolia*) es una de las especies de anonas que tienen mayor distribución en México y también, de las más integralmente aprovechadas. Estas dos características hacen a esta especie la más conocida y estudiada. En el siguiente mapa se puede observar la distribución de *Annona cherimolia* en los diferentes estados de México (26).

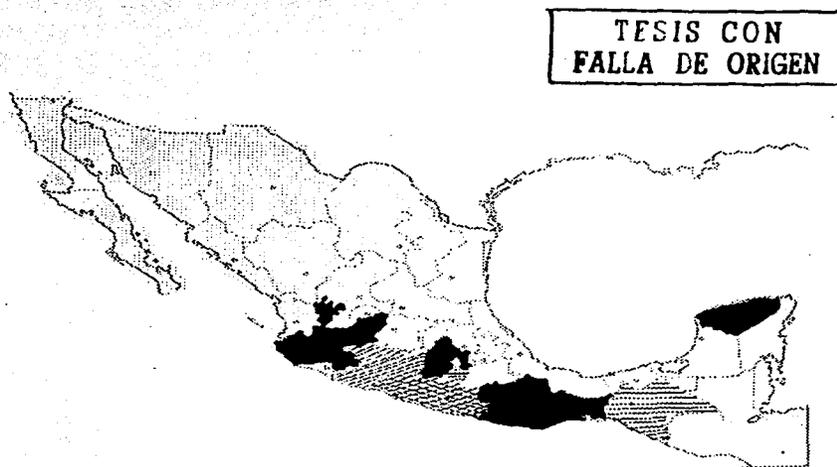


Fig. 1. Distribución de *Annona cherimolia* en México

a) Características

El árbol es grande con hojas romas y surcadas de muchas nervaduras, nace en las regiones cálidas y lugares montañosos, aunque también es cultivado en lugares campestres.

(13, 26).

Sus frutos son grandes, de color verde pálido, con un peso de 0.1 a 2.0 Kg. Su forma es acorazonada, cónica, oval e irregular. La cáscara es delgada y delicada, de superficie lisa o cubierta con pequeños abultamientos cónicos. La pulpa blanca y ligeramente ácida (Fig. 2) (26).

Desde el siglo XVI ya se le atribuían ciertas propiedades medicinales, para el dolor de cabeza y dientes. Cuatro siglos después la refieren para la pulmonía, neumonía y malestares generales (26).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Fig. 2. Fotografía de *Annona cherimolia*

b) Estudios realizados a el extracto hexánico de la *A. cherimolia*.

En estudios fitoquímicos realizados a la *A. cherimolia* se han aislado acetogéninas, y alcaloides como: oxoaporfinas, antracenos, fenántrenos isoquinolínicos, benzilisoquinolínicos y pirimidicos.

También se han aislado aceites esenciales y ácidos grasos como el oleico, linoleico, mirístico, palmítico, esteárico, y araquidónico. Así como también flavonas, glucósidos, cianógenos, compuestos heterocíclicos nitrogenados no alcaloides; triterpenos como el sitosterol, stigmasterol y el camposterol (10, 18).

Por otra parte, se ha descrito que algunas especies de *Annonas* son utilizadas en medicina tradicional por sus propiedades sedantes y tranquilizantes en enfermedades que comprometen el funcionamiento del sistema nervioso central (SCN) como la ansiedad, la depresión y la epilepsia. En 2001, Estrada Reyes y cols. llevaron a cabo un estudio fitoquímico en el que evaluaron las propiedades hipnóticas y anticonvulsivas del extracto hexánico de hojas de *Annona cherimolia*, *Annona lutescens* y *A. globiflora*. Estos autores describen que tanto la *Annona cherimolia*, como la *Annona lutescens* y la *A. globiflora* poseen efectos depresivos sobre el SNC. En este caso, el extracto hexánico de *A. cherimolia* reduce significativamente las crisis convulsivas inducidas por pentilentetrazol (8, 9, 11).

De la *Annona cherimolia* se ha reportado un análisis fotoquímico, estos estudios han revelado la presencia de ácidos grasos libres y esterificados, así como los alcoholes primarios en cadena y palmitona. Siendo la palmitona, el alcano $n\text{-C}_{31}\text{H}_{50}$ y el β -sitosterol los mayores constituyentes. En la siguiente tabla se menciona otros metabolitos secundarios del tipo mono y sesquiterpenos que se encontraron en menor proporción (8).

Tabla 4. Constituyentes del extracto hexánico de *A. cherimolia*.

No	Compuesto	No	Compuesto
		16	β -gurjuneno
1	β -cubebeno	17	espatuleno
2	β -cariofileno	18	α -cariofileno
3	α -humuleno	19	β -farnesano(Z)
4	cis-cariofileno	20	β -farnesano (E)
5	β -ionona	21	β -bulgareno
6	γ -cadineno	22	α -pineno
7	β -calacoreno	23	linalool
8	β -germacrano	24	citral
9	Dehidroionona	25	mentol
10	β -selineno	26	dihidroactinidiolida
11	3,4-dehidroionona	27	β -caracolena
12	cis p-menta-2-en-1-ol	28	nerilacetato
13	Limoneno	29	acido tetradecanoico
14	Carvacrol	30	fitona
15	α -cubebeno	31	9,12,15-octadecatrien-1-ol

Tomado de Estrada 2001.

2.6. Modelos Experimentales para el estudio de la ansiedad

2.6.1. Definición de Ansiedad.

Es un estado no placentero, caracterizado por intranquilidad, expectación aprehensiva y aumento en la vigilancia, en la que se desencadenan una serie de reacciones vegetativas como sudoración, taquicardia, tensión muscular, insomnio, temblor (temblor). La ansiedad excesiva o sostenida se considera patológica y en la actualidad es el desorden mental más común por tensión y estrés (7, 14).

Un modelo de ansiedad se valida como tal si las benzodiazepinas presentan efectos ansiolíticos. Los receptores de benzodiazepinas en el cerebro se encuentran directamente relacionados con el sistema GABAérgico, por lo que se relaciona a este sistema en la regulación de los procesos de ansiedad. (16).

2.6.2. Clasificación de los trastornos de ansiedad:

a) Fobias.

La fobia se caracteriza por un temor persistente y un deseo obligado a evitar objetos (fobia simple), lugares públicos (agarofobia) o humillación en ciertas situaciones sociales (fobia social).

b) Estados de ansiedad.

Las características de los estados de ansiedad son particulares, en el caso de los trastornos de pánico son ataques de pánico recurrentes con la aparición de síntomas intensos (disnea, palpitations, dolor de pecho o sensación de ahogo, mareos vértigo, temblor de manos y pies, sudor, desmayo, temblor de cuerpo, temor de morir o volverse loco). En la ansiedad generalizada, se presentan los mismos síntomas pero más persistentes. Los desórdenes obsesivos compulsivos son obviamente la obsesión y la compulsión y no deben estar relacionadas con otros desórdenes psiquiátricos.

c) Trastornos postraumáticos.

Se considera un trastorno postraumático cuando existe un estresor reconocible que evoca síntomas significativos de angustia en la mayoría de las personas. O bien la reexperiencia del trauma evidenciado así como también sensaciones relacionadas con el evento.

2.6.3. Modelos animales para el estudio de desordenes psiquiátricos.

Un modelo útil para el establecimiento de drogas con acciones centrales deberá:

- a) reproducir las características conductuales y patológicas del síndrome a estudiar, por ejemplo ansiedad, depresión o psicosis. (16).
- b) permitir el estudio de los mecanismos neurobiológicos que no son fácilmente "tratables" para estudiar en el humano (16).
- c) permitir una evaluación confiable de los fármacos con acciones terapéuticas (16).

2.6.4. Modelos experimentales que se utilizan para el estudio de la ansiedad.

1) Modelo con estímulo aversivo natural

Conducta Exploratoria en un Ambiente Aversivo

Interacción social

Conducta agresiva

Laberinto en forma de cruz

(16).

2) Modelo con estímulo aversivo no natural:

Conducta de enterramiento defensivo

Pruebas de conflicto

Estereotipias provocadas por anfetaminas

Respuesta emocional condicionada

Prevención pasiva

Condicionamiento aversivo a los sabores

(16).

En este trabajo solo nos referiremos a dos modelos animales de ansiedad el de Conducta Exploratoria en un Ambiente Aversivo y Conducta de Enterramiento Defensivo.

2.6.5. Conducta Exploratoria en un Ambiente Aversivo

Este modelo se basa en la tendencia natural de los roedores a evitar áreas iluminadas y en la tendencia de explorar zonas desconocidas. El paradigma consiste en una caja de acrílico dividida en dos compartimientos, uno completamente oscuro y otro muy iluminado, entre los dos compartimientos hay una división con una pequeña abertura por donde el animal pasa de un compartimiento a otro. Lo que se registra en este modelo es las veces que el animal cruza de una zona a la otra. En este caso los ansiolíticos en general aumentan, de manera dosis dependiente, el número de transiciones de un compartimiento a otro. Este modelo a pesar de ser tan sencillo es selectivo a fármacos con acciones ansiolíticas, es importante señalar que efectos motores de las drogas deben ser analizados de manera paralela (16).

2.6.6. Conducta de Enterramiento Defensivo

Esta prueba toma en consideración la conducta defensiva de enterramiento que presentan los roedores ante un estímulo aversivo. El paradigma consiste en colocar al animal en una caja de acrílico cuyo piso está cubierto con aserrín fino. De una de las paredes de la caja sobresale un electrodo por el que circula una corriente constante (estímulo aversivo). Cuando el animal recibe el choque eléctrico despliega una conducta de enterramiento, que consiste en cubrir o enterrar el electrodo con aserrín. En este modelo los ansiolíticos como las benzodiazepinas producen una disminución dosis dependiente de la conducta de enterramiento. Este modelo ha demostrado ser un modelo sensible y selectivo al efecto de los fármacos ansiolíticos (16).

2.7. Sistema GABA/Benzodiacepínico

En 1970, el ácido γ -aminobutírico (GABA) fue clasificado como un neurotransmisor en el SNC de los mamíferos (30). La dificultad para establecer el papel de GABA como neurotransmisor se debió a su amplia distribución en el SNC, en contraste con la distribución restringida de las aminas biogénicas (serotonina, noradrenalina, dopamina). Mediante estudios inmunohistoquímicos se determinó que la mayoría de las neuronas GABAérgicas son interneuronas y por lo tanto participan en la excitabilidad de circuitos locales en diferentes regiones del cerebro (33). Se estima que de un 30-40 % de todas las neuronas del SNC utilizan al GABA como neurotransmisor primario (30).

2.7.1. Receptores a GABA.

La fórmula de GABA es $\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$, es un neurotransmisor inhibitorio, con tres tipos de receptores, GABA_A y GABA_C son receptores ionotrópicos, GABA_B es un receptor metabotrópicos.

En el receptor GABA_A se encuentran sitios de unión estereoespecíficos y de alta afinidad para las benzodiacepinas, barbitúricos y esteroides. El receptor GABA_A tiene 5 subunidades (dos alfa, dos beta y una gamma) las cuales forman en conjunto un canal a cloro. Un agonista contribuye a la estimulación del canal de cloro e imita las acciones del sustrato, y un antagonista bloquea o impide las acciones del agonista (30, 33). Tal mecanismo subyace los efectos ansiolíticos, anticonvulsivos y sedantes de algunos compuestos con afinidad por este receptor.

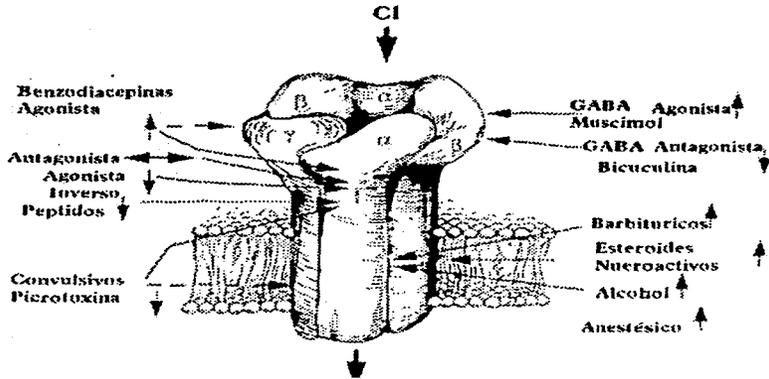


Figura 22. Esquema de GABA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En diferentes experimentos se ha comprobado que las benzodiazepinas aumentan la acción del GABA, y a su vez, el GABA aumenta la unión de las benzodiazepinas a su receptor. Este efecto puede ser bloqueado estereoespecíficamente con antagonistas, GABAérgicos, como la bicuculina y picrotoxina o mimetizado con agonista al receptor GABA_A como el muscimol (16).

Una evidencia más directa de la participación del sistema GABAérgico en los procesos de la ansiedad se observa con la administración del GABA mismo o de sus agonista, como el muscimol y evaluados en diversos modelos de ansiedad. De estos estudios se postula que el GABA endógeno tiene efectos ansiolíticos (16).

3.- Justificación

Se sabe que el extracto hexánico de *Annona cherimolia* actúa sobre el sistema nervioso central produciendo efectos sedantes, hipnóticos y anticonvulsivos, semejantes a los producidos por las benzodiazepinas. Así mismo, sabemos que las benzodiazepinas tienen efectos ansiolíticos que se llevan a cabo a través del sistema GABA/Benzodiazepínico. Sin embargo, desconocemos si el extracto hexánico de *Annona cherimolia* tiene este efecto y si puede estar mediado a través del sistema GABAérgico, por lo que en este trabajo se procederá a estudiar tales efectos.

4.- Hipótesis

El extracto hexánico de *Annona cherimolia* actúa sobre el sistema nervioso central produciendo un efecto ansiolítico en diferentes modelos animales de ansiedad, el cual puede estar mediado por el sistema GABA/Benzodiazepínico.

5.- Objetivos.

- 5.1.- Obtener el extracto hexánico de las hojas de *Annona cherimolia*.
- 5.2.- Comprobar el posible efecto ansiolítico del extracto hexánico de la hoja de *Annona cherimolia* en dos modelos experimentales de ansiedad.
 - A) Exploración en un ambiente aversivo.
 - B) Conducta de enterramiento defensivo
- 5.3.- Analizar mediante una prueba de actividad locomotriz si el extracto hexánico de *Annona cherimolia* afecta el sistema locomotor.
- 5.4.- Determinar la posible participación del sistema GABA /Benzodiazepínico en el efecto ansiolítico del extracto hexánico de las hojas de *Annona cherimolia*.
 - a) mediante un antagonista GABAérgico como la picrotoxina.
 - b) con un agonista GABAérgico, muscimol en dos modelos animales de ansiedad.

6.- Material y Métodos

6.1. Extracción Hexánica de las hojas de *Annona cherimolia*.

Se realizó en el laboratorio de Fitofarmacología del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Las hojas de *Annona cherimolia* fueron colectadas en Ocosingo Chiapas, México, en Septiembre de 1998 por la Maestra en Ciencias Alma Rosa González.

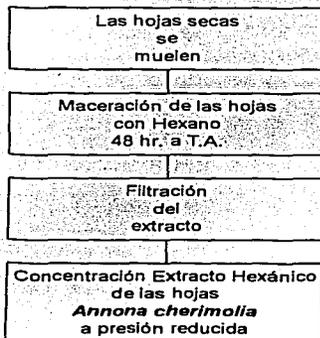
Una muestra del espécimen estudiado esta depositado en el Herbario de la escuela de Biología de la UNICACH (Voucher No. 352).

Extracción hexánica de *Annona cherimolia* en el laboratorio.

Las hojas de *Annona cherimolia* fueron secadas al sol y molidas finamente, el peso total de las hojas secas fue de 2600 g, la muestra se puso dentro de un matraz de tamaño conveniente y se puso a macerar en 17 litros de hexano durante 48 hr. a temperatura ambiente.

El extracto hexánico se concentró en un rotavapor bajo presión reducida. Se obtuvieron 74.23 g de extracto hexánico que fue utilizado para las pruebas posteriores.

Extracción Hexánica
de las hojas de
Annona cherimolia



6.2. Sujetos experimentales. Se utilizaron ratones con un peso de 30-35 g, de la cepa Swiss-Webster, que fueron alojados en el bioterio del Instituto Nacional de Psiquiatría con ciclo invertido de luz-obscuridad, para poder utilizarlos de acuerdo a sus condiciones naturales.

6.3. Modelos de Ansiedad en animales

A) Prueba de Exploración en un Ambiente Aversivo.

Se colocó al animal en una caja de acrílico de 24 X 29 X 19 cm., que fue dividida en 2 compartimentos, uno completamente oscuro y otro muy iluminado. El área oscura fue separada por una pared, con una puerta (las dimensiones de esta son 13 X 5 cm.) por donde pasa el animal de un compartimiento a otro (Fig. 4). En este modelo se registra el número de transiciones, es decir, el número de veces que el animal pasa de una zona a otra, en un tiempo de 10 min. Un aumento en el número de transiciones, se interpreta como un efecto ansiolítico. Por lo tanto la variante que se mide en esta modelo es número de transiciones (5,6,16).

Prueba de Exploración en un
Ambiente Aversivo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

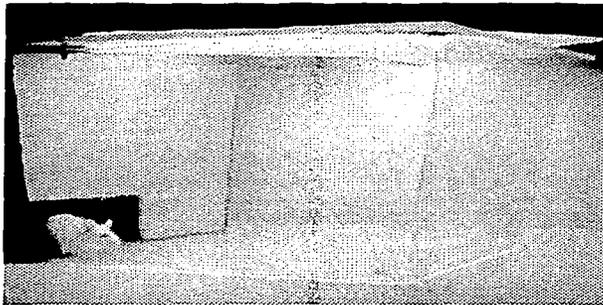


Fig. 4. Fotografía de la Prueba de Exploración en un Ambiente Aversivo.

B) Prueba de Conducta de Enterramiento Defensivo

Se colocó al animal en una caja de acrílico de 16 X 27 X 13 cm., la cual está provista de un electrodo en la parte central de una de sus paredes. El fondo de la caja se encuentra cubierto por viruta, aproximadamente un cm. antes de tapan el electrodo (Fig. 5). En este modelo se registra el tiempo que el animal se encuentra enterrando el electrodo, en un tiempo de 10 min. Una disminución en el tiempo de enterramiento en comparación con el control indicará que el extracto tiene un efecto ansiolítico (16,22).

**Prueba de Conducta de
Enterramiento Defensivo**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

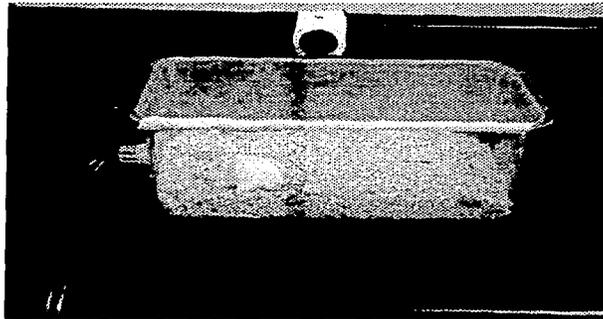


Fig. 5. Fotografía de la Prueba de Conducta de Enterramiento Defensivo.

Los parámetros que se miden en esta modelo de enterramiento defensivo son:

- a) Tiempo de Enterramiento. Es el parámetro que refleja el estado "ansioso" del animal, es decir, a mayor tiempo de enterramiento mayor ansiedad.
- b) Latencia de enterramiento. El tiempo en que reacciona el animal al estímulo aversivo. Se espera que un buen ansiolítico reduzca el estado ansioso (tiempo de enterramiento) sin alterar la reactividad (latencia de enterramiento).
- c) Número de Choques / Grado de Choques. Este cociente permite descartar un posible efecto analgésico de los ansiolíticos. El Número de choques es un dato que se obtiene del total de choques que el ratón se da al acercarse al electrodo durante el tiempo de prueba. El grado de choque, es un valor que se da dependiendo de la reacción que tiene el ratón al recibir el choque, este es del 1 al 4. Las características de de estos números se enlistan:
 - 1.- Cuando el animal se da un choque y este no tiene ninguna reacción.
 - 2.- Cuando el animal se da un choque y este reacciona ligeramente.
 - 3.- Cuando el animal se da un choque y este reacciona rápidamente.
 - 4.- Cuando el animal se da un choque y este reacciona rápidamente corre al otro extremo de la caja.
- d) Paradas. Es un índice de la exploración de los animales y actividad por lo que se espera que un buen ansiolítico reduzca la ansiedad, sin afectar el número de paradas.
- e) Acercamientos al electrodo. Este parámetro también denota la exploración y ansiedad del animal.

6.4 Prueba de Actividad Locomotriz

Los animales también se sometieron a la prueba de actividad locomotriz, la cual se efectuó inmediatamente después de cada una de las pruebas de Exploración en un ambiente aversivo y Conducta de Enterramiento Defensivo. Consistió en colocar al animal en una caja de acrílico de 34 X 44 cm., la cual fue dividida en 6 partes iguales de 14.6 X 17 cm (Fig. 6). Lo que se registra en esta prueba son los cambios que realiza el animal al pasar de un cuadro a otro, durante un lapso de 10 min. Esta prueba se realiza para comprobar que el extracto no tiene efectos motores inespecíficos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

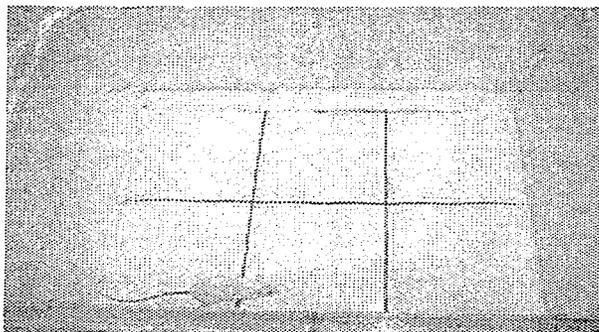


Fig. 6. Fotografía de la Prueba de Actividad Locomotriz.

6.5. Series Experimentales.

6.5.1. Curva dosis-respuesta de Diacepan

Como control positivo y con el fin de verificar la sensibilidad de los modelos animales al diacepan (ansiolítico común utilizado en la práctica clínica), se probaron diferentes dosis de este compuesto en los modelos animales elegidos, la prueba de exploración en un ambiente aversivo y la prueba de enterramiento defensivo. Los animales fueron asignados a grupos independientes con una $n=8$ que recibieron 0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg. de diacepan disuelto en NaCl 0.9 % y unas gotas de propilenglicol, intraperitonealmente. Los resultados fueron comparados con el grupo control que sólo recibió NaCl 0.9 % y propilenglicol 30 minutos antes de la prueba.

6.5.2. Curva dosis-repuesta de picrotoxina

El propósito de esta serie experimental fue el de evaluar el efecto de un antagonista a los receptores GABA_A en los modelos de ansiedad descritos. De manera similar al experimento anterior, se utilizaron grupos independientes con una $n=8$ de animales que recibieron 0.625, 0.125, 0.25, 0.5 y 1.0 mg/kg. de picrotoxina, disuelta en NaCl 0.9 %, El tratamiento se administró intraperitonealmente, 30 minutos antes de la prueba.

6.5.3. Curva dosis-respuesta con el extracto hexánico de *Annona cherimolia*.

Esta serie se realizó para evaluar el efecto ansiolítico del extracto hexánico de *Annona cherimolia*. en los modelos animales de ansiedad elegidos. Este experimento se realizó con grupos independientes con una $n=8$ de animales, a los cuales se les aplicaron las siguientes dosis del extracto: 3.1225, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100 mg/kg. El extracto fue disuelto en NaCl 0.9 % y unas gotas de tween 80. El tratamiento se administró de forma intraperitoneal, con un tiempo de latencia de 1 hr antes de la prueba.

6.5.4 Efecto del antagonista GABAérgico picrotoxina sobre la acción ansiolítica del extracto hexánico de la hoja *Annona cherimolia*.

En esta serie experimental se utilizó picrotoxina como antagonista para bloquear el efecto ansiolítico del extracto hexánico de *Annona cherimolia*. Las dosis que se utilizaron fueron, 50 mg/kg. del extracto hexánico de *Annona cherimolia* (disuelto en NaCl 0.9 % y unas gotas de tween 80) y 0.25 mg/kg. de picrotoxina, (disueltos en NaCl 0.9 %). Los dos compuestos se administraron simultáneamente, una hora antes de las pruebas de ansiedad intraperitonealmente. Los grupo estuvo formado por una n=8 animales.

6.5.5. Curva dosis-respuesta de muscimol.

El propósito de esta serie experimental fue el de evaluar el efecto de un agonista a los receptores GABA en los modelos de ansiedad descritos. De manera similar al experimento anterior, se utilizaron grupos independientes con una n=8 de animales que recibieron 0.5 y 1.0 mg/kg. de muscimol, disuelto en NaCl 0.9 %. El compuesto se administro de forma intraperitoneal 30 min. antes de las pruebas.

6.5.6. Efecto del agonista GABAérgico muscimol sobre la acción ansiolítica del extracto hexánico de la hoja *Annona cherimolia*.

En esta serie se utilizó muscimol como agonista para incrementar el efecto ansiolítico del extracto hexánico de *Annona cherimolia*. Las dosis (sub-efectivas) que se utilizaron fueron, 3.12 mg/kg. del extracto hexánico de *Annona cherimolia* disuelto en NaCl 0.9 % y unas gotas de tween 80 y 0.5 mg/kg. de muscimol, disueltos en NaCl 0.9 %. Los dos compuestos se administraron simultáneamente intraperitonealmente una hora antes de las pruebas de ansiedad. El grupo lo formaron una n=8 animales.

6.5.7. Prueba de Actividad Locomotriz.

Esta prueba se realizó a todos los animales después de las pruebas de ansiedad para determinar si las sustancias probadas producían efectos secundarios en el sistema locomotriz.

Diagrama de Trabajo
Estudio Conductual
Curva Dosis Respuesta del
Extracto Hexánico de las hojas de
Annona cherimolia

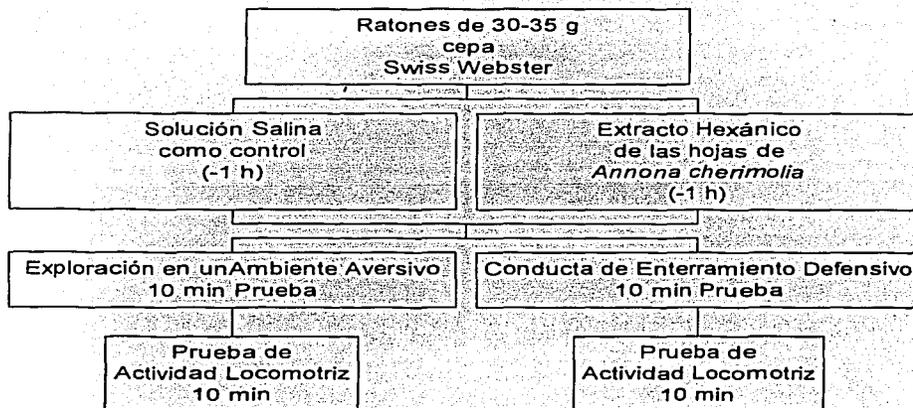


Diagrama de Trabajo

Antagonismo del Efecto Ansiolítico del
Extracto Hexánico de las hojas de *Annona cherimolia*

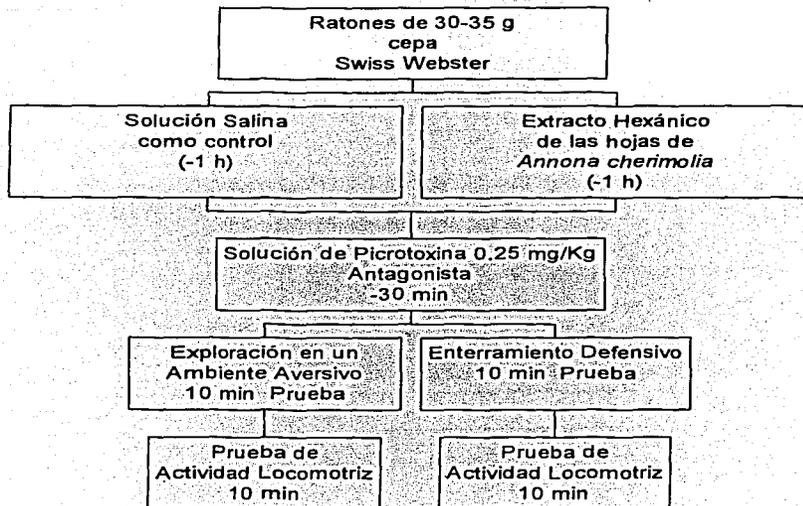
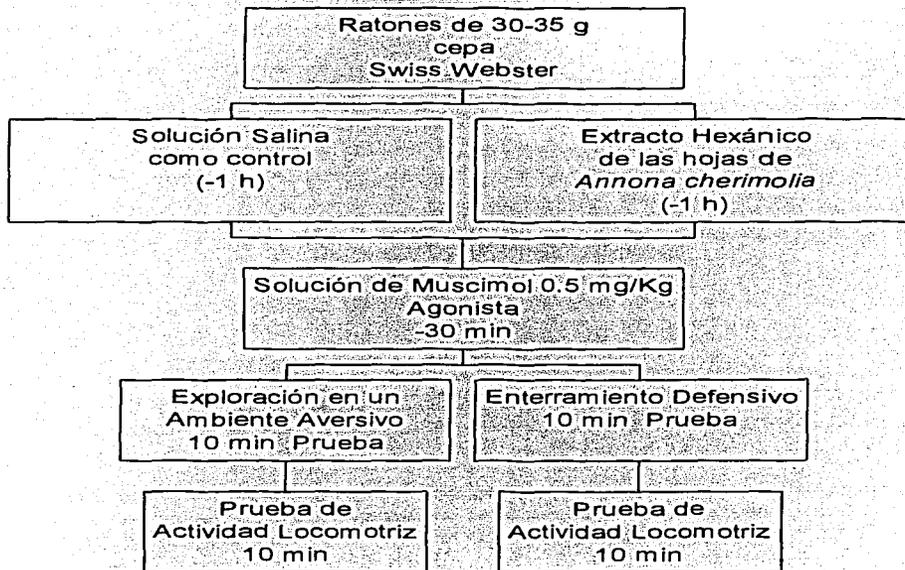


Diagrama de Trabajo

Agonismo del Efecto del
Extracto Hexánico de las hojas de
Annona cherimolia

Resultados

La figura 10 (panel a) muestra los resultados obtenidos con la administración de diacepan a ratones expuestos al modelo de Conducta de Exploración en un Ambiente Aversivo. En este caso, el diacepan aumentó en forma dosis dependiente el número de transiciones que los ratones realizaron del compartimiento oscuro al iluminado. Este incremento fue significativo a las dosis de 0.25, 0.5 y 1.00 mg/kg.

La figura 10 (panel b) muestra el efecto del diacepan en la actividad ambulatoria de ratones. En este caso se puede observar que ninguna de las dosis modificó significativamente la actividad ambulatoria. Los valores del Análisis de varianza (ANOVA) tanto para el modelo de Conducta de Exploración en un Ambiente Aversivo y actividad ambulatoria se muestran en la tabla 6 y 7.

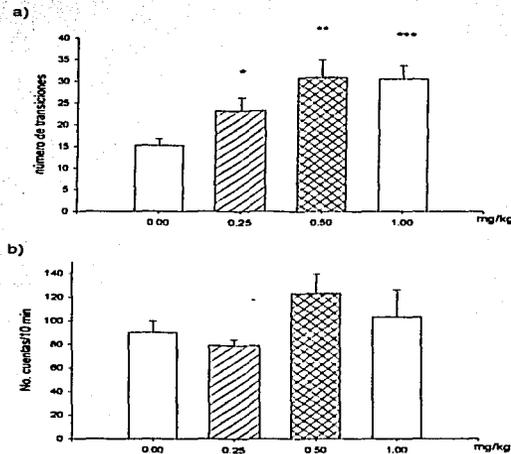


Fig. 10. Efecto de Diacepan en el modelo de CEEA (panel a) y en la actividad ambulatoria (panel b). ANOVA para CEEA $H=16.644$ $df=3$, $p < 0.001$. Prueba *U* de Mann-Whitney * $p=0.029$, ** $p=0.003$, *** $p < 0.001$. ANOVA para actividad ambulatoria $H=4.329$ $df=3$, $p=0.228$.

En la figura 11. Se muestra el efecto de diferentes dosis del antagonista no competitivo del receptor GABA_A, la picrotoxina, en el modelo de Conducta de Exploración en un Ambiente Aversivo (panel a) y en la actividad ambulatoria (panel b). En este caso, la picrotoxina, solamente produjo una disminución significativa en el número de transiciones a la dosis 1.0 mg/kg, a esta misma dosis de picrotoxina, se presenta una tendencia a disminuir la actividad ambulatoria de los ratones. Sin embargo, este efecto no fue estadísticamente significativo.

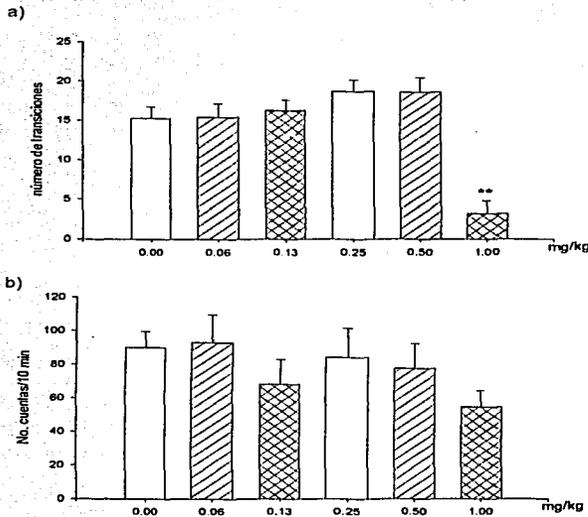


Fig. 11. Efecto de la Picrotoxina en el modelo de CEAA y en la actividad ambulatoria. (panel a). ANOVA para CEAA $H=15.712$ $df=5$, $p=0.008$. Prueba U de Mann-Whitney $** p=0.004$. (panel b) ANOVA para actividad ambulatoria $H=5.839$ $df=5$, $p=0.322$.

En la figura 12 se muestra el efecto de diferentes dosis del extracto hexánico de *Ammona cherimolia* (hoja) en el modelo de Conducta de Exploración en un Ambiente Aversivo (panel a) y en la actividad ambulatoria (panel b). La *Ammona cherimolia* induce un aumento dosis dependiente en el número de transiciones el cual fue estadísticamente significativo con las dosis de 6.25, 12.5, 25.00 y 50.00 mg/kg.

En el caso de la actividad ambulatoria, la *Ammona cherimolia* no modificó esta conducta en general (Fig. 12, panel b).

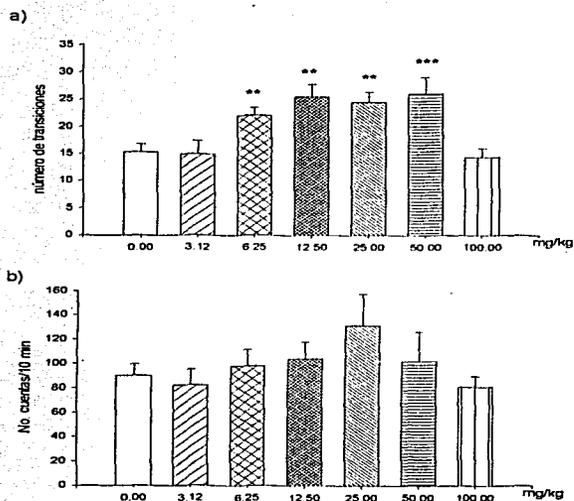


Fig. 12. Efecto de la *Ammona cherimolia* en el modelo de CEEA y en la actividad ambulatoria. (panel a). ANOVA para CEEA $H=25.427$ $df=6$, $p<0.001$; (panel b) ANOVA para actividad ambulatoria $H=3.253$ $df=6$, $p=0.776$ Prueba *U* de Mann-Whitney ** $p=0.006$; ** $p=0.004$; *** $p<0.001$

En la figura 13 se muestra el efecto de la Picrotoxina en animales tratados con el extracto hexánico de *Annona cherimolia* (hoja) en el modelo de Conducta de Exploración en un Ambiente Aversivo y en la actividad ambulatoria. La Picrotoxina a la dosis de 0.25 mg/kg. no tiene un efecto significativo en los animales tratados. Por su parte, la *Annona cherimolia* induce un aumento en el número de transiciones el cual es significativo a la dosis de 50.00 mg/kg. Al aplicar la picrotoxina 30 minutos después del extracto hexánico de *Annona cherimolia* hoja, se puede observar que el antagonista bloquea el efecto del extracto hexánico de *Annona cherimolia* hoja (Fig. 13, panel a).

En el caso de la actividad ambulatoria, se puede ver que estos tratamientos no afectaron dicha conducta con respecto al grupo control.

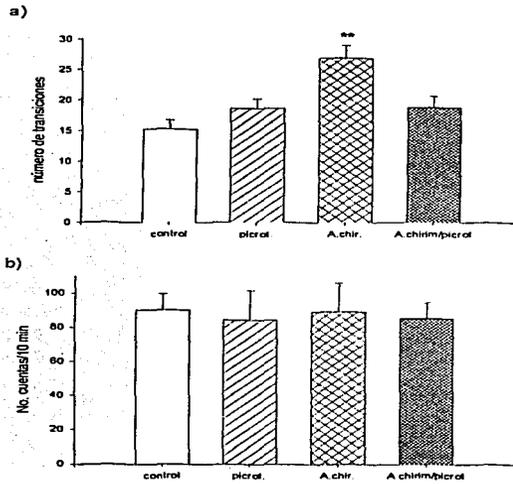


Fig. 13. Bloqueo de la *Annona cherimolia* con la Picrotoxina en el modelo de CEAA y en la actividad ambulatoria. (panel a) ANOVA para CEAA $H=14.542$ $df=3$, $p=0.002$. Prueba U de Mann-Whitney $**p=0.001$ (panel b) ANOVA para actividad ambulatoria $H=0.528$ $df=3$, $p=0.914$.

En la figura 14. Se muestra el efecto de diferentes dosis del agonista del receptor GABA, el Muscimol, en el modelo de Conducta de Exploración en un Ambiente Aversivo (panel a) y en la actividad ambulatoria (panel b). En este caso, el Muscimol produjo una ligera disminución la cual no es significativa en el número de transiciones a la dosis 1.0 mg/kg. A estas mismas dosis el Muscimol, no modifico significativamente la actividad ambulatoria de los ratones.

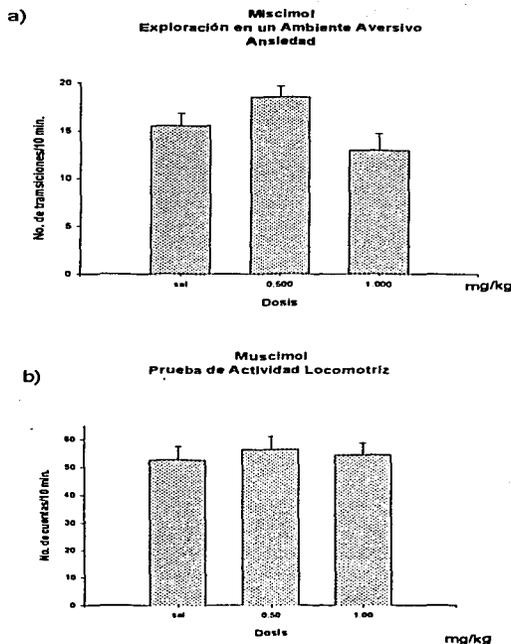
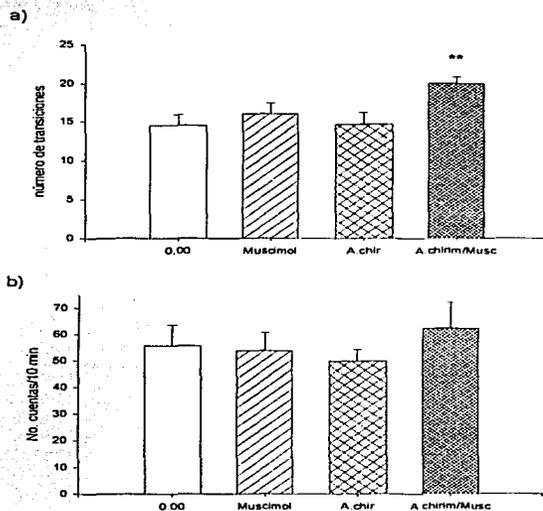


Fig. 14. Efecto del Muscimol en el Modelo de CEEA y Actividad ambulatoria. (panel a). ANOVA para CEEA $H=7.842$ $df=2$, $p=0.02$. (panel b). ANOVA para actividad Ambulatoria $H=0.592$ $df=2$, $p=0.744$.

En la figura 15. Se muestra el efecto del Muscimol en animales tratados con el extracto hexánico de *Annona cherimolia* (hoja) en el modelo de Conducta de Exploración en un Ambiente Aversivo y en la actividad ambulatoria. El Muscimol y la *Annona cherimolia* a la dosis de 0.5 y 3.12 mg/kg. respectivamente no tienen efecto en los animales tratados. Al aplicar el muscimol 30 minutos después del extracto hexánico de *Annona cherimolia* hoja, se puede observar que el agonista facilita el efecto del extracto hexánico de *Annona cherimolia* hoja (Fig. 15, panel a)

En el caso de la actividad ambulatoria, se puede observar que estos tratamientos no afectaron dicha conducta con respecto al grupo control.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fig. 15. Interacción entre la *Annona cherimolia* y el muscimol en el modelo de CEEA y en la actividad locomotriz. (panel a). ANOVA para CEEA $H=9.991$ $df=3$, $p=0.019$; (panel b) ANOVA para actividad locomotriz $H=0.477$ $df=3$, $p=0.924$. Prueba U de Mann-Whitney * $p=0.013$.

Tabla No. 6 Resultados
Exploración en un Ambiente Aversivo

Fármaco o compuesto	Dosis mg/kg	H (Kruskal-Wallis)
Diacepán	0.0, 0.25 0.5, 1.0	H= 16.844 df 3 p= < 0.001
Picrotoxina	0.0, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0	H= 15.712 df 5 p= 0.008
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex.	0.0, 3.1225, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0	H= 25.427 df 6 p= < 0.001
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex. mas Picrotoxina	0.0 0.25 50.0 + 0.25	H= 14.542 df 3 p= 0.002
Muscimol	0.0, 0.5, 1.0	H= 7.842 df 2 p= 0.02
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex. mas Muscimol	0.0 0.5 3.1 50.0 + 0.25	H= 9.991 df 3 p= 0.019

Tabla No. 7 Resultados
de Actividad ambulatoria después de la Prueba de
Exploración en un Ambiente Aversivo

Fármaco o compuesto	Dosis mg/kg	H (Kruskal-Wallis)
Diacepán	0.0, 0.25 0.5, 1.0	H= 4.329 df 3 p=0.228
Picrotoxina	DR 0.0, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0	H= 5.839 df 5 p=0.322
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex.	DR 0.0, 3.1225, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0	H= 3.253 df 6 p=0.776
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex. mas Picrotoxina	0.0 0.25 50.0 50.0 + 0.25	H= 0.528 df 3 p=0.913
Muscimol	0.0, 0.5, 1.0	H= 0.592 df 2 p=0.744
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex. mas Muscimol	0.0 0.5 3.1 50.0 + 0.25	H= 0.477 df 3 p= 0.924

En la figura 16 se muestra el efecto de diferentes dosis de diacepan en el modelo de Enterramiento Defensivo. El diacepan provocó una disminución en forma dosis respuesta en el Tiempo de enterramiento (panel a), el cual fue significativo con las dosis de 0.5 y 1.00 mg/kg. Para el caso de la Latencia de enterramiento (panel b), el diacepan produjo un aumento en la latencia el cual fue significativo a las dosis de 0.25, 0.50 y 1.0 mg/kg.

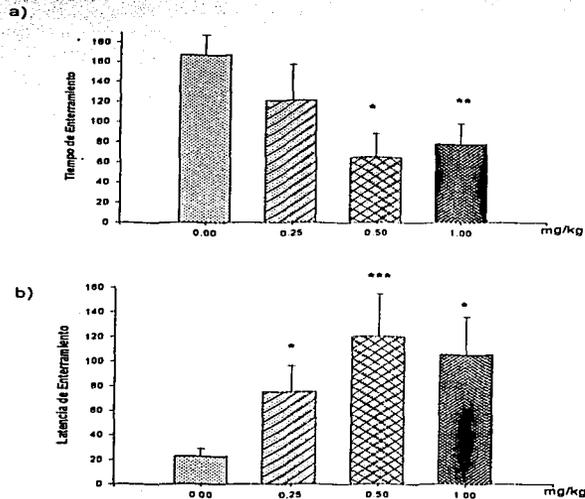


Fig. 16. Efecto del Diacepan en el Modelo de Enterramiento Defensivo en el Tiempo de Enterramiento y la Latencia de Enterramiento. (panel a) ANOVA para TE $H=11.362$ df 3 $p=0.010$. Prueba de U de Mann Whitney * $p=0.012$; ** $p=0.026$. (panel b) ANOVA para LE $H=15.355$ df 3 $p=0.002$. Prueba U de Mann Whitney * $p=0.022$; ** $p=0.001$; *** $p=0.002$.

Los datos relacionados con el efecto del diacepan sobre el número de choques, el grado de choque y exploraciones dirigidas hacia el electrodo y al aire (paradas) se encuentran reportados en la Tabla 8. En este caso, el diacepan no afectó ninguno de los parámetros registrados.

En la figura 17 se muestra el efecto de diferentes dosis de picrotoxina en el modelo de Enterramiento Defensivo. La picrotoxina provocó una ligera disminución en el Tiempo de enterramiento en la dosis de 1.00 mg/kg. (Fig. 17, panel a). En la Latencia de enterramiento, la picrotoxina provocó una tendencia a disminuir este parámetro, sin embargo, ésta no fue significativa (Fig. 17, panel b).

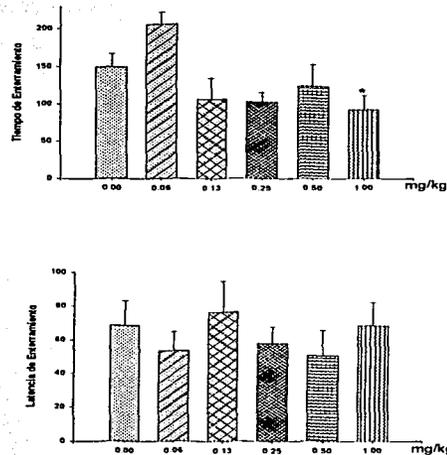
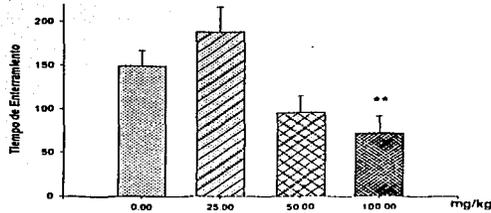


Fig. 17. Efecto de la Picrotoxina en el Modelo de Enterramiento Defensivo en el Tiempo de Enterramiento y la Latencia de Enterramiento. (panel a) ANCOVA para TE $H=13.320$ df 5 $p=0.006$. (panel b) ANCOVA para latencia de enterramiento $H=3.946$ df 5 $p=0.557$. Prueba U de Mann Whitney * $p=0.041$.

En la figura 18 se muestra el efecto de diferentes dosis del extracto hexánico de *Ammona cherimolia* (hoja) en el modelo de Enterramiento Defensivo. El extracto hexánico de *Ammona cherimolia* (hoja) provocó una disminución en forma dosis dependiente en el Tiempo de enterramiento, siendo significativo a la dosis de 100.00 mg/kg. (Fig. 18, panel a). Con relación a la Latencia de enterramiento, el extracto hexánico de la planta a la dosis de 100.00 mg/kg. provocó un aumento en el parámetro, sin embargo, éste no fue estadísticamente significativo.

a)



b)

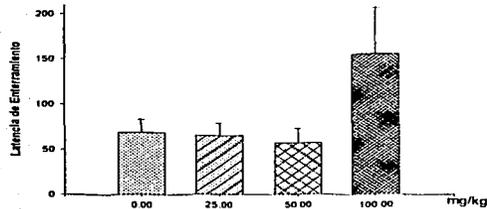


Fig. 18. Efecto de la *Ammona cherimolia* en el Modelo de Enterramiento Defensivo en el Tiempo de Enterramiento y la Latencia de Enterramiento. (panel a) ANOVA para TE $H=12.439$ df 3 $p=0.006$. (panel b) ANOVA para LE $H=1.876$ df 3 $p=0.599$. Prueba U de Mann Whitney ** $p=0.008$.

Finalmente en la figura 19 se muestra el efecto del antagonista del receptor $GABA_A$, la Picrotoxina, en animales tratados con el extracto hexánico de *Annona cherimolia* (hoja) en el modelo de Enterramiento Defensivo. En este caso, la administración simultánea de picrotoxina (0.25 mg/kg.) y del extracto hexánico de la *Annona cherimolia* canceló por completo el efecto de ambos compuestos sobre el Tiempo de enterramiento (Fig.19 panel a). Con relación al efecto de la picrotoxina y del extracto de *Annona cherimolia* sobre la Latencia de enterramiento, se puede observar que estos compuestos solos o combinados no afectaron significativamente este parámetro (Fig. 19, panel b).

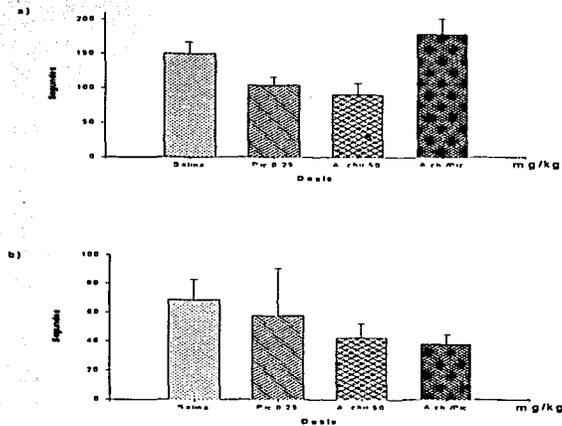
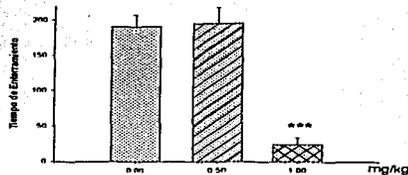


Fig. 19 Efecto de la picrotoxina sobre la *Annona cherimolia* en el Modelo de Enterramiento Defensivo para el Tiempo de Enterramiento y la Latencia de Enterramiento. Grupos al ANOVA para TE: $F=10.200$ $df=3$ y $p=0.018$. Grupos b) ANOVA para latencia de enterramiento: $F=5.887$ $df=3$ y $p=0.120$. Prueba U de Mann-Whitney * $p=0.037$.

En la figura 20 se muestra el efecto de diferentes dosis de muscimol en el modelo de Enterramiento Defensivo. El muscimol provocó una disminución en el Tiempo enterramiento en la dosis de 1.00 mg/kg. el cual es significativo (Fig. 20, panel a). En la Latencia de enterramiento, el muscimol, a la dosis de 1.00 mg/kg. de provocó un aumento de este parámetro el cual fue significativo. (Fig. 20, panel b).

a)



b)

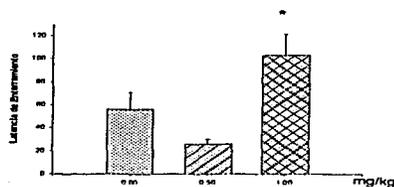


Fig. 20. Efecto del Muscimol en el Modelo de Enterramiento Defensivo para el Tiempo de Enterramiento y la Latencia de Enterramiento. (panel a) ANCOVA para TE H=19.069 df 2 $p= < 0.001$, (panel b) ANCOVA para LE H=10.529 df 2 $p=0.005$. Prueba U de Mann Whitney * $p=0.004$, *** $p= < 0.001$.

Finalmente en la figura 21 se muestra el efecto del agonista del receptor GABA, el Muscimol, en animales tratados con el extracto hexánico de *Annona cherimolia* (hoja) en el modelo de Enterramiento Defensivo. En este caso, la administración simultánea de Muscimol (0.5 mg/kg.) y del extracto hexánico de la *Annona cherimolia* incremento el efecto de ambos compuestos sobre el Tiempo de enterramiento (Fig.21 panel a). Con relación al efecto del muscimol y del extracto de *Annona cherimolia* sobre la Latencia de enterramiento, se puede observar que estos compuestos disminuyeron este parámetro, sin embargo, no tiene significancia estadística (Fig. 21, panel b).

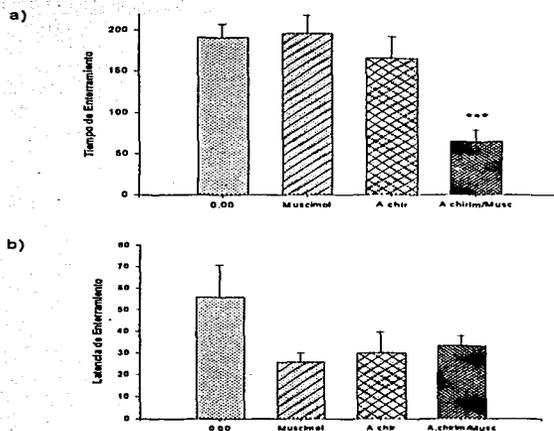


Fig. 21. Interacción entre la *Annona cherimolia* y el muscimol en el Modelo de Enterramiento Defensivo para el Tiempo de Enterramiento y la Latencia de Enterramiento. (panel a) ANOVA para TE H=14.775 d.f.3 p=0.002. (panel b) ANOVA para LE H=5.381 d.f.3 p=0.148. Prueba U de Mann Whitney *** p < 0.001.

Tabla No. 8 Resultados Enterramiento Defensivo

Tratamiento	Dosis	Número de Choques (No. de veces)		Grado del Choque		Exploración al aire (No. de veces)		Exploración al electrodo (No. de veces)	
		X	E.E.	X	E.E.	X	E.E.	X	E.E.
Diacapan	0.0, mg/kg.	2.000	0.333	3.000	0.289	12.900	3.038		
	0.25	2.429	0.429	2.711	0.168	19.857	2.064		
	0.5,	3.455	0.434	2.672	0.130	19.727	1.834		
	1.0	3.250	0.429	2.786	0.0957	17.667	1.328		
Picrotoxina	0.0, mg/kg.	3.286	0.633	3.493	0.142	28.000	2.760	4.000	0.535
	0.0625,	2.600	0.340	3.179	0.128	25.900	1.900	4.000	0.615
	0.125,	2.750	0.412	3.083	0.333	33.750	5.010	4.375	0.706
	0.25,	2.545	0.474	3.083	0.196	22.273	3.749	3.273	0.574
	0.5,	3.000	0.298	2.892	0.139	26.600	2.914	4.200	0.416
	1.0	2.111	0.633	** 3.452	0.155	38.889	4.436	5.667	1.000
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex.	0.0, mg/kg.	3.237	0.633	3.493	0.142	28.000	2.760	4.000	0.535
	25.0,	2.833	0.441	3.020 *	0.229	14.750	2.323	2.500	0.622
	50.0,	1.917	0.260	3.021	0.205	23.333	2.189	5.500	0.702
	100.0	3.417	0.514	2.834	0.217	19.632	3.046	5.000	0.577
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex. mas Picrotoxina	0.0 mg/kg.	3.286	2.367	3.493	0.142	28.000	2.760	4.000	0.535
	0.25	2.188	1.424	2.932	0.201	21.875	3.109	3.500	0.577
	50.0	2.182	1.328	3.285	0.259	25.636	2.826	3.545	0.767
	50.0+ 0.25	2.182	1.079	3.075	0.290	19.636	1.728	2.909	0.392
Muscimol	0.0, mg/kg.	3.857	0.582	2.999	0.171	11.786	2.215	5.375	1.117
	0.5,	2.500	0.428	3.166	1.181	33.700	17.212	4.500	0.719
	1.0	1.889	0.309	2.721	0.368	10.889	3.124	3.222	0.722
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex. mas Muscimol	0.0 mg/kg.	3.857	0.582	2.999	0.171	11.786	2.215	5.375	1.117
	0.5	2.500	1.428	3.166	0.181	33.700	17.212	4.500	0.719
	3.12	2.667	0.577	3.223	0.157	22.000	2.075	6.556	1.303
	3.12 + 0.5	2.625	0.596	2.937	0.222	14.625	2.259	4.625	0.822

Los datos se expresan como X +- EEM, Prueba de Mann Whitney *p< 0.05, **p< 0.01,

***p< 0.001

**Tabla No. 9 Resultados de
Anova de Enterramiento Defensivo**

Tratamiento	Anova del Número de Choques	Anova del Grado de Choque	Anova de Exploración al aire	Anova de Exploración al electrodo
Diacepán	H= 6.939 df 3 p= 0.074	H= 3.851 df 3 p= 0.278	H= 5.716 df 3 p= 0.126	
Picrotoxina	H= 6.184 df 5 p= 0.289	H= 11.197 df 5 p= 0.048	H= 12.476 df 5 p= 0.029	H= 5.292 df 5 p= 0.381
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex.	H= 5.805 df 3 p= 0.121	H= 0.043 df 3 p= 0.043	H= 8.955 df 3 p= 0.033	H= 10.850 df 3 p= 0.013
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex. Mas Picrotoxina	H= 2.344 df 3 p= 0.504	H= 2.936 df 3 p= 0.402	H= 4.139 df 3 p= 0.247	H= 2.007 df 3 p= 0.571
Muscimol	H= 7.672 df 3 p= 0.022	H= 0.707 df 2 p= 0.702	H= 2.692 df 2 p= 0.260	H= 4.175 df 2 p= 0.124
Annona cherimolia (hoja) Ext. Hex. Mas Muscimol	H= 4.200 df 3 p= 0.241	H= 0.855 df 3 p= 0.836	H= 7.958 df 3 p= 0.047	H= 3.047 df 3 p= 0.384

Discusión de Resultados

Discusión de Resultados

Los resultados del presente trabajo fueron los siguientes: El extracto hexánico de la *Ammona cherimolia* produjo un efecto ansiolítico en los dos modelos animales de ansiedad utilizados, las pruebas de enterramiento defensivo (22) y de exploración en un ambiente aversivo (5, 6). Tal efecto ansiolítico fue facilitado por el muscimol, un agonista de los receptores GABA_A-benzodiazepínicos y antagonizado con picrotoxina, un antagonista de este mismo receptor (28).

En este trabajo se utilizaron dos modelos animales de ansiedad, el de exploración en un ambiente aversivo y el de enterramiento defensivo, dado que en el caso de obtener una respuesta positiva en uno de ellos, era necesario confirmarla en algún otro paradigma. Ambos modelos han sido validados ampliamente por diferentes grupos de investigación y tal validación es tanto de tipo farmacológico como bioquímico y conductual. De acuerdo con la literatura, ambos modelos pretenden imitar un estado semejante a la ansiedad generalizada, a diferencia de otros modelos (por ejemplo el laberinto elevado en cruz) que se enfocan a otros tipos de trastornos por ansiedad (por ejemplo, la agorafobia).

En la literatura se reporta que los ansiolíticos de tipo de las benzodiazepinas, por ejemplo el diazepam, clonazepam y el clordiazepóxido, aumentan de manera dosis dependiente el número de transiciones de un compartimiento a otro en el modelo de Conducta exploratoria en un ambiente aversivo (6). Tal resultado se interpreta como un efecto ansiolítico (5, 7). Por tal motivo, en el presente trabajo se evaluó la respuesta del diazepam en esta prueba, como se esperaba, provocó un efecto ansiolítico semejante a las benzodiazepinas usadas por los autores del modelo. Para confirmar la participación del receptor GABA_A, se utilizó picrotoxina, ya que esta sustancia que ha sido reportada ampliamente como un antagonista de los receptores GABA_A (22) y fue utilizada como un control positivo para los experimentos siguientes. Por definición un antagonista es una sustancia que no provoca efecto alguno por sí solo, pero e impide la acción de un agonista (24). Para confirma que esto fuera cumplido con la picrotoxina, realizamos un experimento previo que consistió en evaluar el efecto de diferentes dosis de picrotoxina en la prueba de conducta exploratoria en un ambiente aversivo y, encontramos que la picrotoxina careció de efecto en el modelo de ansiedad a estas dosis, ya que a dosis más altas produce convulsiones.

El objetivo principal de este trabajo fue explorar y analizar el posible efecto ansiolítico de el extracto hexánico de *Ammona cherimolia*. Para esto usamos el modelo de Conducta exploratoria en un ambiente aversivo y comparamos los resultados con un control positivo, que fue el efecto ansiolítico producido por el diacepam. El extracto hexánico de la *Ammona cherimolia* provocó un efecto ansiolítico que fue significativo desde la dosis de 6.25 mg/kg. y que aumento con la dosis de 50.0 mg/kg. Las mismas dosis de la sustancia no modificaron la actividad locomotriz por lo que la ansiólisis provocada por la sustancia fue un efecto específico que no alteró el sistema motor de los animales (2, 3). Cabe destacar que estos resultados son la primera evidencia experimental del efecto ansiolítico de la *Ammona cherimolia*; hasta la fecha sólo se había contado con reportes anecdóticos de la medicina tradicional que señalaban las propiedades tranquilizantes de esta planta (8,12).

Una vez confirmadas las acciones ansiolíticas de la planta el siguiente paso fue analizar el mecanismo de acción en este modelo de ansiedad experimental. Para ello probamos el extracto hexánico de *Ammona cherimolia* con un agonista y un antagonista de los receptores GABA_A, considerando que este sistema y en particular estos receptores participan en el mecanismo de acción de muchos fármacos ansiolíticos (30). En efecto, encontramos que una dosis sub-óptima de muscimol (0.5 mg/kg.), un agonista de los receptores GABA_A, facilitó el efecto ansiolítico de una dosis sub-óptima del extracto de la planta (3.12 mg/kg.), sin provocar cambios en la actividad locomotriz. Por otro lado, el efecto ansiolítico del extracto de *Ammona cherimolia* fue antagonizado con picrotoxina en una dosis que por si misma carece de actividad en el modelo de ansiedad. La administración del extracto de la planta y del antagonista GABA_A fue simultánea con el fin de provocar una competencia entre estos dos substratos del receptor GABA_A. Por lo tanto, podemos decir que la *Ammona cherimolia* produce un efecto ansiolítico que esta mediado por la estimulación de los receptores GABA_A.

Por otro lado la literatura reporta que los ansiolíticos disminuyen de manera dosis dependiente el tiempo de enterramiento en el modelo de conducta defensiva (16, 22). Haciendo mención que este modelo explota una conducta innata de los roedores que consiste en enterrar aquellos objetos que les provocan temor. Como bien sabemos, el tiempo de enterramiento es la variable que indica directamente los niveles de ansiedad en tanto que la latencia a la conducta de enterramiento defensivo denota los cambios en la

reactividad. En nuestros experimentos encontramos que el diacepan provocó una disminución de la ansiedad que fue significativa a partir de 0.5 mg/kg, una dosis que también incrementó la latencia a la conducta de enterramiento. Esto puede interpretarse como que el diacepan indujo un efecto ansiolítico pero también una disminución de la reactividad de los animales esta conducta no se puede atribuir la ansiólisis a cambios en la capacidad motriz de los animales, ya que a estas dosis y otras más altas no modificaron el número de cuentas en la prueba correspondiente. De manera adicional evaluamos el número de choques recibidos por el animal así como la intensidad o grado de choque, y encontramos que el diacepan no modificó ninguna de estas variables así como tampoco afectó la exploración dentro de la caja de experimentación.

También se determinó el efecto de la *Annona cherimolia* en el modelo de enterramiento defensivo, en esta prueba, al igual que en el modelo explicado anteriormente, encontramos que la *A. cherimolia* tiene efectos ansiolíticos, ya que disminuye el tiempo de enterramiento de manera dosis dependiente. El efecto ansiolítico de la *Annona cherimolia* se bloqueó con un antagonista del receptor GABA_A, la picrotoxina, en tanto que una dosis sub-óptima del agonista GABA_A, muscimol facilitó el efecto ansiolítico de la *Annona cherimolia*. Cabe mencionar que la administración sola de *Annona cherimolia* y sus combinaciones con muscimol o picrotoxina no afectaron la latencia a la conducta de enterramiento o la actividad locomotriz. Las mediciones complementarias referentes a los choques eléctricos o a la actividad exploratoria dentro de la caja no se vieron afectadas por el extracto de la planta o por la combinación con el agonista o antagonista de los receptores GABA_A.

Ya que el resultado que se encontró con el extracto hexánico de las hojas de *Annona cherimolia* fue un efecto ansiolítico, podemos sugerir que la infusión con hojas de esta planta de la familia *Annonaceae* puede ser utilizada como una alternativa en el caso de padecer algún trastorno del SNC como la ansiedad (4). Como ventajas podemos mencionar que el efecto ansiolítico de la *Annona cherimolia* es semejante al producido por el diacepan, ya que en los modelos experimentales este extracto se comportó igual que las benzodiazepinas, además de que hasta el momento no se ha demostrado que la planta produzca algunos efectos secundarios del fármaco, como la tolerancia farmacológica y la

dependencia física (13, 23, 24). Sin embargo, estos efectos adversos no se descartan y quedan por investigar.

Conclusiones

Conclusiones

1) Los modelos animales de ansiedad experimental, de conducta de enterramiento defensivo y la prueba de exploración en un ambiente aversivo, resultan útiles para comprobar las propiedades terapéuticas atribuidas a ciertas plantas por la medicina tradicional.

2) El extracto hexánico de las hojas de *Annona cherimolia* tiene efectos ansiolíticos los cuales se ven reflejados en los modelos experimentales de ansiedad. Tal efecto ansiolítico es comparable con el del diazepam, el fármaco que se utilizó de referencia.

3) Las respuestas conductuales que se interpretan como un efecto ansiolítico no se deben a cambios en la actividad locomotriz, en la actividad exploratoria ni a posibles efectos analgésicos.

4) De acuerdo con las evidencias, se sugiere que efecto ansiolítico del extracto hexánico de las hojas de *Annona cherimolia* se efectúa mediante un mecanismo de acción que involucra la estimulación del sistema GABAérgico, particularmente de los receptores GABA_A.

Apéndice:

Apéndice I

Compuestos GABAérgicos utilizados en el presente trabajo

Muscimol.

Es un análogo de GABA aislado de un hongo alucinógeno llamado Amanita muscaria, es uno de los más selectivos y potentes agonista, muestra una actividad selectiva a receptores GABA_A. El Muscimol es un substrato para el transporte de GABA que se utiliza en estudios electrofisiológicos y bioquímicos (30).

Diacepan.

Indicaciones terapéuticas:

Está indicado para el alivio sintomático de la ansiedad, tensión y otros malestares asociados con el síndrome de ansiedad. También puede ser útil como adjunto al tratamiento de la ansiedad o nerviosismo con desórdenes psiquiátricos, así como en la inquietud motora y el delirium tremens. Las benzodiazepinas sólo están indicadas cuando el desorden es severo o que sujeta al individuo a estrés extremo (2, 3 y 23).

Picrotoxina.

La picrotoxina es un antagonista de los receptores GABA_A con efectos reversibles e inhibitorios. Esto se ha demostrado en el modelo animal de enterramiento defensivo en el cual el diacepan tiene efectos ansiolíticos lo que se indica con la disminución del tiempo de enterramiento en este paradigma (22).

Apéndice II

Plantas Medicinales con propiedades Sedativas, Anticonvulsivantes e Hipnóticas en la Medicina Tradicional Mexicana.

Durante muchos años se han investigado las propiedades de plantas medicinales así como también su importancia económica. A continuación se da un listado de las plantas que tienen efecto a nivel de sistema nervioso central y que son utilizadas como anticonvulsivante, sedativo e hipnótico.

Nota: se señala el uso médico como: (I) Anticonvulsivante, (II) Sedativo, (III) Hipnótico. Los estados mencionados son los mas frecuentes de localización y con (*) si se usa, (0) si no se usa.

Nombre Botánico	Familia	Nombre Popular	Parte Usada	Uso Medico I II III	Localización
<i>A. gastache mexicana</i>	Lamiaceae	Toronjil	todo	* * 0	Puebla
<i>Agave mexicana</i>	Amaryllidaceae	Maguey	hoja	* 0 0	Tabasco
<i>Allium sativum</i>	Liliaceae	ajo	bulbo	* 0 *	Morelos
<i>Aloe vulgaris</i>	Liliaceae	Zábila	hoja	0 0 *	Sinaloa
<i>Ambrosia artemisiaefolia</i>	Asteraceae	Altameta	hoja	* 0 0	México
<i>Annona sp.</i>	Annonaceae	Anona	hoja	* 0 0	Hidalgo
<i>Apium graveolems</i>	Apiaceae	apio	hoja	* * 0	México
<i>Argemone mexicana</i>	Papaveraceae	Chicalote	hoja - flores	0 0 *	Tlaxcala

Tomada de Tortoriello J. Romero O. 1992

Nombre Botánico	Familia	Nombre Popular	Parte Usada	Uso Medico I II III	Localización
<i>Aristolochia subcáusa</i>	Aristolochiaceae	Tlacopatle	raíz	* 0 0	Veracruz
<i>Artemisia ludoviciana</i>	Asteraceae	Estafiate	hoja	* * 0	Gerrero
<i>Artemisia mexicana</i>	Asteraceae	Ajenjo	tallo - hoja	0 * 0	México
<i>Bidens pilosa</i>	Asteraceae	Aceitilla	todo	0 * 0	Durango
<i>Brickellia cavanillesii</i>	Asteraceae	Prodigiosa	tallo-hoja	0 * 0	México
<i>Brosimum alicastrum</i>	Moraceae	uji	hoja	0 * 0	Michoacan
<i>Bunchosia lanceolata</i>	Malpighiaceae	Ciruelillo	raíz	0 0 *	Guanaguato
<i>Caesalpinia crista</i>	Leguminosae	Cojon de gato	hoja	0 0 *	Veracruz
<i>Calamintha macrostema</i>	Lamiaceae	Poleo	hoja	0 * *	Nuevo Leon
<i>Calea zacatechichi</i>	Asteraceae	Zacatechichi	hoja	0 * 0	Morelos
<i>Cannabis sativa</i>	Moraceae	Marihuana	hoja	0 0 *	Sinaloa
<i>Casimiroa edulis</i>	Rutaceae	Zapote blanco	hojas - fruta	0 * *	Michoacan
<i>Citrus aurantium</i>	Rutaceae	Azahar	flores	* * *	Michoacan
<i>Citrus aurantium</i>	Rutaceae	Naranja	hoja	0 * *	Michoacan
<i>Conyza flaginoides</i>	Asteraceae	Simonillo	todo	0 * 0	Zacatecas
<i>Cymbopogon citrates</i>	Poaceae	Limon	hoja	0 * 0	Sonora
<i>Cheiranthus cheiri</i>	Cruciferae	Alheli		* * 0	Veracruz
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Chenopodiaceae	Epazote	todo	* 0 *	México
<i>Chirantodendron pentadactylon</i>	Sterculiaceae	flor de manita	flor	* 0 0	Veracruz

Tomada de Tortoriello J. Romero O. 1992

Nombre Botánico	Familia	Nombre Popular	Parte Usada	Uso Medico			Localización
				I	II	III	
<i>Dorstenia contrayerba</i>	Moraceae	Contrayerba	raíz	*	0	0	San Luis Potosi
<i>Erythrina americana</i>	Leguminosae	Colorin	todo	*	0	0	México
<i>Eucalyptus sp.</i>	Myrtaceae	Gigante	hoja	*	0	0	México
<i>Euphorbia heterophylla</i>	Euphorbiaceae	Catarina	hoja - tallo	0	*	0	Michoacan
<i>Euphorbia sp.</i>	Euphorbiaceae	Golondrina	todo	*	0	0	Veracruz
<i>Ferula narthex</i>	Apiaceae	ingo de china	resina	*	0	0	Veracruz
<i>Ficus carica</i>	Oraceae	higo	hoja	0	*	0	B. C. N.
<i>Foeniculum vulgare</i>	Apiaceae	Hinijoincl o	hoja	0	*	0	Tlaxcala
<i>Galphimia glauca</i>	Malpighiaceae	cola de zorro	todo	0	*	0	Guanajuato
<i>Ganaphalium sp.</i>	Asteraceae	Gordolobo	tallo	0	*	0	Michoacan
<i>Geranium mexicanum</i>	Geraniaceae	Geranio dts	flores	*	0	0	Hidalgo
<i>Guazuma tomentosa</i>	Sterculiaceae	Guasima	hoja	*	0	0	Veracruz
<i>Haematoxylon brasiletto</i>	Leguminosae	Palo brasil	tallo	0	*	0	Zacatecas
<i>Hyptis albida</i>	Lamiaceae	Salve real	hoja	*	0	0	Veracruz
<i>Illiciu, anisatum</i>	Magnoliaceae	Anis estrella	flor	*	0	0	Yucatan
<i>Jacobina spicigera</i>	Acanthaceae	Muicle	hoja	*	*	0	Veracruz
<i>Juglans regia</i>	Juglandaceae	Nogal	hoja	0	*	0	Hidalgo
<i>Lutuca sativa</i>	Asteraceae	Lechuga	hoja	0	*	*	Jalisco
<i>Lippia callicarpaefolia</i>	Verbenaceae	Rosa castilla	flor	0	*	0	Tabasco
<i>Litsea glaucescens</i>	Lauraceae	Laurel	hoja	1	0	1	Puebla

Tomada de Tortoriello J. Romero O. 1992

Nombre Botánico	Familia	Nombre Popular	Parte Usada	Uso Medico			Localización
				I	II	III	
<i>Marrubium vulgare</i>	Lamiaceae	Manrubio	hoja - tallo	0	*	*	Hidalgo
<i>Matricaria chamomilla</i>	Asteraceae	Manzanilla	tallo - hoja	0	*	0	Guerrero
<i>Medicago sativa</i>	Leguminosae	Alfalfa	toda	0	*	0	SLP
<i>Menta piperita</i>	Lamiaceae	Yerbabuena	hoja	*	*	*	Quintana Roo
<i>Mirabilis jalapa</i>	Nyctaginaceae	Maravilla amar.	raíz - flores	*	0	0	Veracruz
<i>Myristicaceae</i>	Myristicaceae	Nuez moscada	fruta	*	*	0	Zacatecas
<i>Nicotiana glauca</i>	Solanaceae	Tabaquillo	hoja - tallo	0	1	0	México
<i>Ocimum basilicum</i>	Lamiaceae	Albahacar	hoja - tallo	*	*	0	Veracruz
<i>Origanum vulgare</i>	Lamiaceae	Oregano	hoja	*	0	0	Guerrero
<i>Papaver rhoeas</i>	Paraveraceae	Amapola	flor	0	*	0	Tabasco
<i>Parthenium hysterophorus</i>	Asteraceae	Confetillo	hoja	*	0	0	Veracruz
<i>Passiflora spp.</i>	Passifloraceae	Pasiflora	flores - hojas	0	*	*	Michoacan
<i>Pentstemon campanulatus</i>	Scrophulariaceae	Chilpa	hoja	*	0	0	Tlaxcala
<i>Perezia sp.</i>	Asteraceae	cola de zorro	todo	*	0	0	México
<i>Persea gratissima</i>	Lauraceae	Aguacate	fruta	*	0	0	Hidalgo
<i>Petroselinum sativum</i>	Monimiaceae	Boldo	todo	*	0	0	Hidalgo
<i>Physalis ixocarp</i>	Salonaceae	Tomate verde	fruta	0	*	0	Hidalgo
<i>Pinaropappus roseus</i>	Asteraceae	Escorsonera	raíz	0	*	0	México
<i>Plumbago pulchela</i>	Plumbaginaceae	Hierba del negro	hoja	0	*	0	Veracruz
<i>Plumeria sp.</i>	Apocynaceae	flor de mayo	latex	*	0	0	Veracruz

Tomada de Tortoriello J. Romero O. 1992

Nombre Botánico	Familia	Nombre Popular	Parte Usada	Uso Medico			Localización
				I	II	III	
<i>Psidium guayaba</i>	Myrtaceae	Guayaba	hoja	0	0	*	Sinaloa
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiaceae	Romero	hoja - tallo	*	*	0	Morelos
<i>Ruta chalepensis</i>	Rutaceae	ruda	hoja - tallo	*	*	*	Puebla
<i>Salvia leucantha</i>	Lamiaceae	Salvia	hoja	*	*	*	Nayarit
<i>Salvia microphylla</i>	Lamiaceae	mirto	flor	0	1	0	Durango
<i>Tagetes lucida</i>	Asteraceae	Pericon	hoja - tallo	*	*	*	Nuevo Leon
<i>Tagetes tenuifolia</i>	Asteraceae	flor de muerto	flor	*	0	0	
<i>Talauma mexicana</i>	Magnoliaceae	Magnolia	flor	*	*	0	Veracruz
<i>Taraxacum officinale</i>	Asteraceae	Diente de leon	todo	0	*	0	Michoacan
<i>Tila spp.</i>	Tiliaceae	tila	flor - hoja	*	*	*	Hidalgo
<i>Turnera diffusa</i>	Turneraceae	Damiana	flor - tallo	0	*	0	Zacatecas
<i>Valeriana spp.</i>	Valerianaceae	Valeriana	raíz - hoja	*	*	*	Durango
<i>Zanthoxylum fagara</i>	Rutaceae	Tancascle	hoja	*	0	0	Yucatan

Tomada de Tortoriello J. Romero O. 1992

Bibliografía

Bibliografía

- 1.- Aguilar A. (1994). Información Etnobotánica. Estudio Introductorio. En: Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. México. pag. 3-9.
- 2.- Ashton H., (1994). "Guidelines for the rational use of benzodiazepines", Drugs, 48 (1), 25-40.
- 3.- Baker R.H.; (1994). "Use of Benzodiazepines", Brit. Med.; 309, 412.
- 4.- Baldessarini R. (1996). Fármacos y tratamiento para trastornos psiquiátricos. Psicosis y ansiedad. En: Goodman & Gilman (Ed.), Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. McGraw-Hill Interamericana: México D.F.: novena edición. pag. 447-450.
- 5.- Blumstein L.K., Crawley J.N. (1982). Further characterization of a simple, automated exploratory model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. Pharmacol Biochem Behav 18: 37-40.
- 6.- Crawley J., Goodwin F. K. (1980). Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. Pharmacol Biochem Behav 13: 167-170.
- 7.- DSM-IV; (1994). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: Anxiety Disorders; Published by the American Psychiatric Association Washington, DC; pag. 393-444.
- 8.- Estrada Reyes R, Martínez Vázquez M, Rocha L, Heinze G, López Rubalcava C. (2001). Estudio Químico y evaluación farmacológica de las propiedades hipnóticas, ansiolíticas y anticonvulsivas de Annona cherimolia, Annona lutescens y A. globiflora. En:

Resúmenes/Abstracts IV congreso Internacional de Química. XIII Conferencia del Caribe de Química e Ingeniería Química. Palacio de Convenciones de La Habana. Revista Cubana de Química. pag. 419.

9.- Estrada Reyes R y Col. (2001). Sedative, anticonvulsive, and anxiolytic-like effects of the hexanic extract of *Annona cherimolia*. Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente". México. D.F.

10.- González Esquinca A. (1991). Las anonas medicinales de Chiapas: alcaloides. En: La revista de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

11.- Gonzalez Trujano y cols. (1998). Some pharmacological effects of the ethanol extract of leaves of *Annona diversifolia* on the Central Nervous System in Mice.

12.- Hansch C., Sammes, P.; Taylor, J.B. ; (1990). "Comprehensive Medicinal Chemistry", vol 6., Pergamon London.

13.- Hernandez L., Márquez M.C., Márquez A., Hicks J.; (1991). "Efectos teratológicos de las benzodiazepinas"; Gine. Y Obstet. De Mex., 59,195.

14.- Hindmarch I. ; Beaumont G.; Brandon S.; (1990). "Benzodiazepines: Current concepts", London

15.- Kumate J. (1993). La medicina herbolaria contemporánea. En: Secretaria de Salud (Ed.) La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana. México pag. 11-18

16.- López-Rubalcava C, Fernández-Guasti A. (1996). Farmacología básica. En: Aproximaciones de las neurociencias a la conducta. María Corsi Cabrera (Ed.), UNAM, México, D.F., pag.299-324.

- 17.- Lullman H., Mohr K.; (1992). "Atlas de Farmacología, 2da edición, Ediciones Científicas y Técnicas, S.A.; Barcelona
- 18.- M. Leboeuf. A. y col (1982). The Phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry* 21(12): 2783-2813.
- 19.- Marshall Bryan E. y Longnecker David. (1996). Anestésicos Generales. En: Goodman & Gilman (Ed.), Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. McGraw-Hill Interamericana. México D.F.. novena edición. pag. 344.
- 20.- Maza M.; Galindez M.; Martínez R.; Corte E.; J. (1982). Heterocyclic Chem. 19. 107.
- 21.- Treit D. y Pichot P. (1994). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4^a ed. Washington: American Psychiatric Association; p. 401-56.
- 22.- Pinel y col. (1982) The inhibitory effect of diazepam on conditioned defensive burying is reversed by picrotoxin. *Pharmacol Biochem Behav* 17:359-361.
- 23.- Rosenstein E. (2000). Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Ediciones PLM, S.A. de C.V. México D.F. pag. 2073-2074.
- 24.- Ross Elliot M. (1996). Farmacodinámica. Mecanismos de acción y relación entre la concentración y el efecto de los fármacos. En: Goodman & Gilman (Ed.), Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. McGraw-Hill Interamericana. México D.F.. novena edición. pag. 40-44.
- 25.- Roth H.J.; (1991). "Pharmaceutical Chemistry", Vol. 2, Ellis Horwood. Great Britain.

- 26.- Ruiz Sarabia E. y Morett Alatorre. (1997). Las anonas en el México Prehispánico. En: Las memorias del congreso internacional de Annonaceas. México (Chapingo). Pag.169-186.
- 27.- Sanfilippo B.J. (1993). La aculturación de las plantas medicinales mexicanas a la medicina europea. En: Secretaria de Salud (Ed.). La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana. México pag. 35-54.
- 28.- Smith C., Reynord C.; (1993). Farmacología, 2da edición, Editorial Médica Panamericana, Argentina.
- 29.- Sternbach L., (1979). "The benzodiazepine story", J. Med. Chem., 22(1), 1-7.
- 30.- Steven M. Paul, GABA y Glycine. En: Psychopharmacology, Floyd E. Bloom, David J. Kupfer (Eds), Raven Press, New York, pag 87-89, 92.
- 31.- Tortoriello J. Romero O. (1992). Plants used by mexican traditional medicine with presumable sedative properties: An ethnobotanical approach. Archives of Medical Research 23 (3) 111-116.
- 32.- Viesca Treviño C. (1993). La herbolaria medicinal en México prehispánico. En: Secretaria de Salud (Ed.) La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana. México pag. 19-34.
- 33.- Williams M.; (1983). "Anxiolytic": J. Med. Chem.; 26 (5), 619.
- 34.- Wong A. y col (1998). Herbal Remedies in Psychiatric Practice. Arch Gen Psychiatry; 55 Nov. pag 1033-1039