



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Evaluación del efecto antidepresivo de un extracto estandarizado de alcaloides de
Annona cherimolia (Mill).

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACO BIÓLOGO

PRESENTA:

LEDESMA VELÁZQUEZ ISMAEL

DIRECTOR: M. en C. ROSA ESTRADA REYES

ASESOR: M. en C. ARTURO EDUARDO CANO FLORES



México, D. F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres por darme la oportunidad de estudiar una carrera y brindarme todo su apoyo y amor en este largo camino, durante el cual, estuvieron siempre a mi lado.

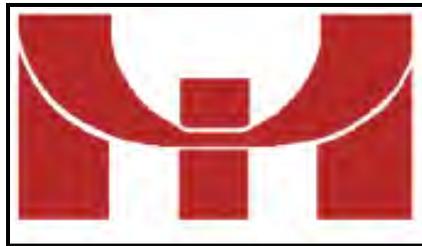
A mis hermanos por su comprensión y ayuda para concluir éste trabajo.

A mis compañeros de laboratorio, que me motivaron a seguir y concluir este trabajo ofreciéndome su amistad y compañía.

A la M. en C. Rosa Estrada, quien me dio todas las facilidades para realizar éste trabajo, además de su amistad y apoyo en los momentos difíciles, tanto personales como profesionales.

Al jurado por su valiosa crítica y tiempo.

Agradezco al Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz” por el uso de instalaciones y las facilidades otorgadas para la realización de esta tesis.



El presente trabajo se realizó en el Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”, en el laboratorio de Fitofarmacología, bajo la dirección de la M. en C. Rosa Estrada Reyes.

INDICE

	Pagina
1. Introducción	4
2. Fundamento Teórico	5
2.1. Depresión	5
2.2. Neurobioquímica de las catecolaminas	10
2.2.1. Biosíntesis	
2.2.2. Receptores para catecolaminas	
2.2.3. Degradación de las catecolaminas	
2.3. Neurobioquímica de la serotonina	16
2.3.1. Biosíntesis	
2.3.2. Receptores serotoninérgicos	
2.3.3. Degradación de la serotonina	
2.4. Bioquímica de la depresión	21
2.4.1. Noradrenalina	
2.4.2. Dopamina	
2.4.3. Serotonina	
2.5. Antidepresivos	23
2.6. Modelos animales para el estudio de la depresión	31
2.7. Familia Annonaceae	34
3. Planteamiento del problema	42
4. Objetivo	42
4.1. Objetivos particulares	
5. Hipótesis	43
6. Material y Parte Experimental	44
6.1. Estrategia de trabajo	44
6.2. Material general	45

6.2.1. Material vegetal	
6.2.2. Animales	
6.2.3. Equipo	
6.2.4. Fármacos y sustancias	
6.3. Metodología	46
6.3.1. Obtención del extracto	
6.3.2. Caracterización del extracto	
6.4. Pruebas Conductuales	48
6.4.1. Modelo de nado forzado	
6.4.2. Modelo de campo abierto	
6.4.3. Modelo de tablero con perforaciones	
6.4.4. Análisis estadístico	
7. Discusión y resultados	53
8. Conclusiones.	62
9. Bibliografía	63

1. INTRODUCCIÓN.

La depresión, es un trastorno al que en épocas pasadas se prestaba poca atención; sin embargo, en años recientes se ha convertido en una de las principales enfermedades causantes de la pérdida del mayor número de años de vida saludable. Las evidencias sobre el incremento de la depresión en el mundo, llevaron a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a modificar la forma de expresión del impacto de las enfermedades en la sociedad, para dejar de observarlas con base en el número de muertes que ocasionan; enfocándose en cambio, en la pérdida de vida saludable, traducida como el abandono del empleo o la escuela, la desintegración familiar y la violencia dentro y fuera de la familia. En nuestro país, los trastornos depresivos afectan a una gran parte de la población, teniendo un fuerte impacto sobre la vida de los individuos, la familia y la sociedad en su conjunto. La depresión se caracteriza en general, por el desgano, la retracción, la pérdida del interés por el mundo externo y la disminución de la capacidad de experimentar placer, puede llegar a ser incapacitante y en ocasiones llevar a la muerte del individuo que la padece. En la actualidad se cuenta con una amplia gama de fármacos para el tratamiento de los trastornos depresivos. Sin embargo, estos aun presentan inconvenientes, por ejemplo: una gran parte de los pacientes no responde de manera adecuada a los antidepresivos empleados en la clínica, éstos tardan alrededor de un mes en ejercer su acción terapéutica, aunado a que, sin excepción presentan efectos colaterales.

Por otro lado, en la medicina tradicional mexicana, se emplean una gran variedad de plantas para el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas se conocen algunas especies que tienen efectos sobre el Sistema Nervioso Central (SNC). Estas especies

representan una fuente potencial para la obtención de moléculas bioactivas. A este respecto, algunas especies del género *Annona* muestran un perfil etnobotánico y químico, adecuado para su estudio y evaluación farmacológica.

Por lo anterior, en el presente trabajo se evaluó el efecto antidepresivo de un extracto estandarizado de alcaloides de las partes aéreas de *Annona cherimolia* Mill (Annonaceae).

2. FUNDAMENTO TEÓRICO.

2.1. DEPRESIÓN.

La depresión es una perturbación compleja. Es un síndrome con diferentes matices sintomáticos promovido por múltiples causas, que afecta al sujeto tanto por el alto grado de sufrimiento psíquico que lo promueve como por sus secuelas personales y sociales.

El término depresión es erróneamente utilizado para describir, sentimientos de tristeza pasajeros relacionados con una situación desagradable real o imaginaria o con componentes de una estructura psicopatológica diferente; Sin embargo, la depresión es un trastorno mental que va mucho más allá.

La depresión es un síndrome, caracterizado por el decaimiento del estado de ánimo, la disminución de la capacidad de experimentar placer y de la autoestima; con manifestaciones afectivas, ideativas, conductuales, cognitivas, vegetativas y motoras con serias repercusiones sobre la calidad de vida y el desempeño socio-ocupacional.

representan una fuente potencial para la obtención de moléculas bioactivas. A este respecto, algunas especies del género *Annona* muestran un perfil etnobotánico y químico, adecuado para su estudio y evaluación farmacológica.

Por lo anterior, en el presente trabajo se evaluó el efecto antidepresivo de un extracto estandarizado de alcaloides de las partes aéreas de *Annona cherimolia* Mill (Annonaceae).

2. FUNDAMENTO TEÓRICO.

2.1. DEPRESIÓN.

La depresión es una perturbación compleja. Es un síndrome con diferentes matices sintomáticos promovido por múltiples causas, que afecta al sujeto tanto por el alto grado de sufrimiento psíquico que lo promueve como por sus secuelas personales y sociales.

El término depresión es erróneamente utilizado para describir, sentimientos de tristeza pasajeros relacionados con una situación desagradable real o imaginaria o con componentes de una estructura psicopatológica diferente; Sin embargo, la depresión es un trastorno mental que va mucho más allá.

La depresión es un síndrome, caracterizado por el decaimiento del estado de ánimo, la disminución de la capacidad de experimentar placer y de la autoestima; con manifestaciones afectivas, ideativas, conductuales, cognitivas, vegetativas y motoras con serias repercusiones sobre la calidad de vida y el desempeño socio-ocupacional.

Las alteraciones somáticas y vegetativas incluyen anorexia, pérdida de peso, estreñimiento, disminución de la libido, retardo psicomotriz y agitación. Es frecuente que existan problemas del sueño, como despertares prematuros en la madrugada, fragmentación de sueño, avances de fase en el ritmo del primer episodio de sueño, de movimientos oculares rápidos (SMOR); por ejemplo, acortamiento de la latencia hasta el primer episodio de SMOR.

A lo largo de la historia, la clasificación de la depresión ha representado un problema para los estudiosos de esta especialidad. Uno de los primeros intentos fue subdividirla en reactiva (exógena o situacional) y endógena (biológica). Sin embargo, esta clasificación ya no se utiliza porque implica problemas de tratamiento y pronóstico.

Las dos clasificaciones mas ampliamente aceptadas por la comunidad médica y científica internacional son la décima revisión de la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas de Salud (CIE-10), llevada a cabo por la OMS y la cuarta edición del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, de la American Psychiatric Association (DSM-IV). De acuerdo con el CIE-10 un episodio depresivo típico, tanto leves, moderados o graves, se caracteriza por que el sujeto sufre de un decaimiento del estado de ánimo, energía y de su actividad. Existe un deterioro de su capacidad para disfrutar, falta de interés y concentración. Con frecuencia se presentan perturbaciones del sueño y del apetito¹.

De acuerdo al DSM IV, la depresión es una alteración del estado de ánimo que se caracteriza por la presencia de sentimientos de tristeza, desesperanza o abandono, sentimientos de culpa e ideación suicida. Suele acompañarse de síntomas vegetativos como alteraciones en el sueño, el apetito o en la locomoción. Define por una parte, episodios

afectivos, de carácter depresivo (estado de ánimo deprimido o pérdida del interés o sensación de placer), o maniaco, (estado de ánimo anormal y persistentemente elevado, expansivo o irritable). Estos episodios se combinarían generando diversos patrones, constituyendo así los diferentes trastornos del ánimo².

- Episodios afectivos
 - Episodio depresivo mayor
 - Episodio maniaco
 - Episodio mixto
 - Episodio hipomaníaco
- Trastornos depresivos (con episodios depresivos)
 - Trastorno depresivo mayor
 - Trastorno distímico
 - Trastorno depresivo no especificado
- Trastornos bipolares (con episodios maníacos y depresivos)
 - Trastorno bipolar I
 - Trastorno bipolar II
 - Trastorno ciclotímico
 - Trastorno bipolar no especificado
- Trastornos del estado de ánimo debido a enfermedad médica
- Trastorno del estado de ánimo inducido por sustancias
- Trastorno del estado de ánimo no especificado.

De acuerdo con la clasificación que plantea el DSM-IV, los trastornos del estado de ánimo están divididos en trastornos depresivos, trastornos bipolares y trastornos basados en su etiología, Estos últimos son: los trastornos del estado de ánimo debido a una enfermedad médica y los inducidos por sustancias. Los trastornos depresivos se distinguen de los trastornos bipolares por el hecho de no haber historia previa de episodio maníaco, mixto o hipomaníaco. Mientras que, los trastornos bipolares implican la presencia de episodios maníacos, episodios mixtos o episodios hipomaníacos, normalmente acompañados por la presencia de episodios de depresión mayor.

El trastorno distímico se caracteriza por al menos dos años en los que ha habido más días con estado de ánimo depresivo que sin él, acompañado de otros síntomas depresivos que no cumplen los criterios para un episodio depresivo mayor.

El trastorno depresivo no especificado se incluye para definir los trastornos con características depresivas que no cumplen los criterios para un trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, trastorno adaptativo con estado de ánimo deprimido o trastorno adaptativo con estado de ánimo mixto ansioso y depresivo o con síntomas depresivos sobre los que hay una información inadecuada o contradictoria.

El trastorno de depresión mayor se caracteriza por uno o más episodios de al menos dos semanas, durante el que hay un estado de ánimo deprimido, una pérdida de interés o placer en casi todas las actividades. En los niños y adolescentes el estado de ánimo puede ser irritable en lugar de triste. El sujeto también debe experimentar al menos otros cuatro síntomas de una lista que incluye cambios en el apetito, de peso, de sueño y de la actividad psicomotora; además de falta de energía, sentimientos de culpa, dificultad para pensar, concentrarse o tomar decisiones y pensamientos recurrentes de muerte ó intentos suicidas. Para indicar la existencia de un episodio depresivo mayor, un síntoma debe ser de nueva presentación o haber empeorado claramente sí se compara con el estado del sujeto antes del episodio. Los síntomas han de mantenerse la mayor parte del día, casi cada día, durante, al menos dos semanas consecutivas. El episodio debe acompañarse de un malestar clínico significativo o de deterioro social, laboral o de otras áreas importantes de la actividad del individuo³. En algunos sujetos con episodios leves la actividad puede parecer normal, pero a costa de un esfuerzo muy importante. En la tabla 1 se resumen los diferentes criterios de diagnóstico de la depresión.

Tabla 1. Depresión aguda definida según criterios del DSM-IV y la CIE-10

	Síntomas de depresión	DSM-IV*	CIE-10**
1	Estado de ánimo deprimido la mayor parte del día casi cada día	+	+
2	Marcada disminución del interés o las sensaciones placenteras por todas o casi todas las actividades la mayor parte del día, casi todos los días	+	+
3	Pérdida de energía o cansancio casi todos los días	+	+
4	Pérdida de la confianza o de la autoestima		+
5	Sentimientos irracionales de auto reproche o culpa excesiva o inapropiada casi cada día	+	+
6	Pensamientos recurrentes de muerte o suicidio, o cualquier comportamiento suicida	+	+
7	Disminución de la capacidad de concentración o indecisión casi cada día	+	+
8	Agitación o retrasos psicomotores casi cada día	+	+
9	Insomnio o hipersomnia casi cada día	+	+
10	Cambios en el comportamiento alimentario	+	+

*Manual de diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, por sus siglas en inglés DSM-IV.

**Clasificación Estadística Internacional de Problemas de la salud CIE 10.

Estadísticamente, el índice de prevalencia de la depresión varía del 3 al 6% de la población general. Se calcula que más del 20% de la población mundial padecerá de un trastorno afectivo que requerirá tratamiento médico en algún momento de su vida. Esto implica que una de cada cinco personas que nacen padecerá depresión al menos una vez en su vida y de éstas, el 70% de los casos tendrá más de un episodio. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la depresión, es la cuarta causa de la pérdida de calidad de vida por la discapacidad que genera y para 2020 estará en el segundo lugar⁴.

La depresión es una causa relevante de mortalidad, ya que los pacientes con depresión presentan un riesgo de atentar contra su vida 30 veces mayor que el de la población general y un 15% de los pacientes internados por depresión se suicidará. También puede empeorar cualquier otra condición patológica, esto se observa sobre todo en trastornos cardiacos y neurodegenerativos⁵.

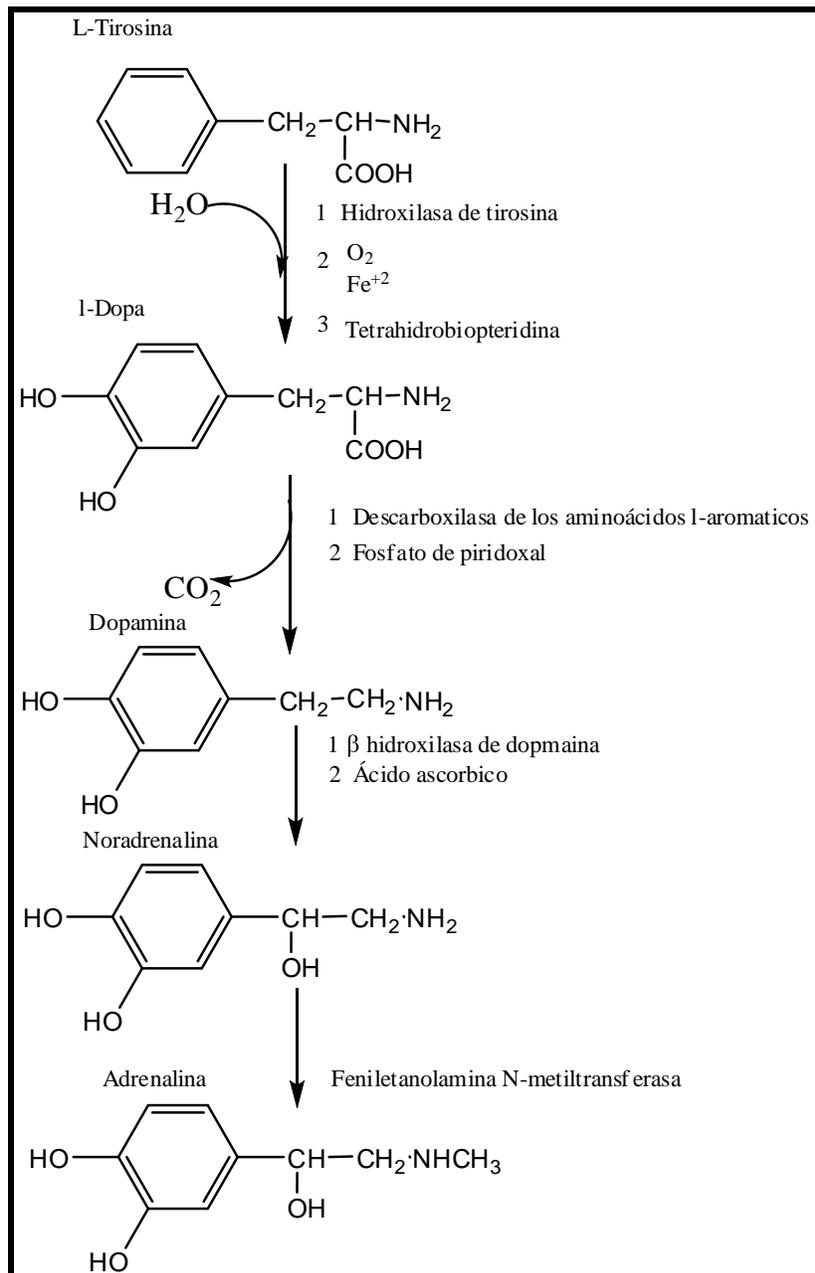
2.2. NEUROBIOQUÍMICA DE LAS CATECOLAMINAS.

Las catecolaminas que se localizan en el SNC son dopamina (DA), noradrenalina (NA) y adrenalina (ADR). Éstas deben su nombre a que en su estructura tienen un grupo catecol y un grupo amino. Tanto la NA como la DA se relacionan con diferentes funciones, tales como conducta motora, regulación del ciclo sueño-vigilia, regulación neuroendocrina, entre otras. También se les relaciona con una serie de enfermedades psiquiátricas como la depresión mayor, esquizofrenia, trastornos de ansiedad, enfermedad de Parkinson, hipercinesia, entre otras.

2.2.1. BIOSÍNTESIS.

La enzima más importante en la síntesis de catecolaminas es la hidroxilasa de tirosina (HT), la cual cataliza el primer paso en el proceso; le sigue la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos (DCAA), una enzima inespecífica que también se encuentra en las neuronas serotoninérgicas. La tercera enzima es la 2- β hidroxilasa de dopamina (HDB), la cual transforma la DA en NA, por lo que es un marcador de las neuronas que contienen noradrenalina y adrenalina. Por último, la feniletanolamina N-metiltransferasa (NMTP) convierte noradrenalina en adrenalina y es el único marcador selectivo para establecer que una neurona transmite por medio de adrenalina (Figura 1) ⁶.

Figura 1. Metabolismo de las catecolaminas



La HT es una enzima con funciones mixtas de oxidasa o monooxigenasa que cataliza la hidroxilación de tirosina para formar la L-DOPA [L-(3,4-dihidroxifenilalanina)]. Esta utiliza como cofactores al oxígeno molecular y la tetrahidrobiopterina (BH_4). La BH_4 se oxida y pierde dos hidrógenos (BH_2); cuando esta reacción ocurre, el cofactor reducido

se modifica por la reductasa de dihidropterina, la cual toma dos hidrógenos del agua para regenerar la forma original BH₄.

La HT existe como homotetrámero y cada una de sus subunidades tiene un peso molecular aproximado de 60, 000 Da. La HT se encuentra en todas la neuronas que sintetizan catecolaminas y se considera la enzima limitante de esta síntesis. Esta enzima tiene una alta afinidad por tirosina, por lo cual se encuentra saturada en condiciones fisiológicas, ya que la concentración tisular de tirosina es alta. Una evidencia reciente indica que el cofactor BH₄, se presenta en menor concentración que la tirosina; por lo cual, se cree que puede tener un papel importante en las funciones de regulación. La actividad de la HT puede inhibirse por los niveles altos de catecolaminas (inhibición por producto final).

Uno de los sucesos más importantes en la síntesis y la regulación de las catecolaminas es la fosforilación de la HT. Existe evidencia de que una proteína fosforilada dependiente de AMP_c desempeña un papel importante en esta reacción. También se sabe que la HT es sustrato de tres tipos de cinasas proteicas: cinasa A, proteincinasa CaM (cinasa B) y cinasa C. Es posible que la inhibición de HT por dopamina y noradrenalina se deba a un estímulo de los receptores presinápticos para dopamina.

La L-DOPA se descarboxila por la enzima DCAA, la cual es inespecífica, debido a que también descarboxila al 5-hidroxitriptofano, que es el precursor de la serotonina, además de otros aminoácidos. La DCCA ó también llamada dopadecarboxilasa tiene una amplia distribución en el cuerpo; se encuentra en neuronas que contienen catecolaminas o serotonina, además de estar presente en tejido no neuronal como riñones o los pericitos vasculares. En el caso de que la neurona sea doparminérgica, ésta constituye el último paso de la síntesis.

La HDB es una oxidasa que usa el oxígeno molecular para formar un grupo hidroxilo; su cofactor es el ascorbato y el grupo prostético el cobre. Esta se encuentra al interior de las vesículas que almacenan catecolaminas y la mayor parte se encuentra unida a la parte interior de las vesículas.

Existen pocas células adrenérgicas en el SNC, pero el proceso de síntesis de adrenalina es el mismo que en las glándulas suprarrenales. La NMTP cambia su grupo metilo de la *S*-adenosilmetionina (SAM) al nitrógeno molecular de la noradrenalina para formar una amina secundaria. La función de la NMTP se regula por corticosteroides. La gran actividad de esta enzima en la médula suprarrenal se refleja por la alta concentración de corticosteroides que se liberan a los senos venosos que drenan estas glándulas. La hipofisectomía disminuye los niveles de corticosteroides y reduce mucho la cantidad de ADR en las suprarrenales.

2.2.2. RECEPTORES PARA CATECOLAMINAS.

En el SNC se identifican dos subtipos de receptores noradrenérgicos, α y β . También para dopamina se proponen dos tipos de receptores D_1 y D_2 . En el telencéfalo los receptores más abundantes son los β_1 , mientras que los β_2 tienen mayor densidad en cerebelo. Existen grandes cantidades de receptores adrenérgicos β en las capas de la neocorteza, núcleo acumbens, bulbos olfatorios, sustancia negra y núcleos interpedunculares. La subpoblación de receptores β_1 predomina en las neuronas lo que puede sugerir que los β_2 se encuentran en glía o en vasos sanguíneos.

Los receptores α_1 y α_2 pueden compartir algunos componentes estructurales. Los receptores α_2 se encuentran tanto en presinapsis como en postsinapsis, mientras que los α_1 se encuentran en la postsinapsis. Los receptores α_2 de la presinapsis sirven como autorreceptores que controlan la liberación de NA.

Los receptores dopaminérgicos pueden clasificarse como D_1 y D_2 . Los primeros intervienen en la activación de adenilciclasa, mientras que los segundos participan en la inhibición de segundos mensajeros.

Los mecanismos que regulan la liberación de un neurotransmisor a nivel presináptico se relacionan, entre otras cosas, con autorreceptores sensibles a sus propios neurotransmisores y a otros neuromoduladores. Este segundo grupo de sitios de unión de alta afinidad se les llama heteroreceptores presinápticos y tienen una gran importancia en los mecanismos de liberación conjunta de varios neurotransmisores.

2.2.3. DEGRADACIÓN DE LAS CATECOLAMINAS.

Para llevar a término la actividad de las catecolaminas es necesario el proceso de recaptura neuronal, un mecanismo dependiente de sodio y consumo de energía. Sólo las neuronas noradrenérgicas cuentan con un mecanismo selectivo para noradrenalina, el mecanismo para dopamina es menos específico. Se sabe que este depende de energía, ya que puede inhibirse a bajas temperaturas. También se sabe que el proceso requiere diferentes gradientes de sodio a ambos lados de la membrana⁷.

Existen dos tipos de enzimas que inactivan y catabolizan a las catecolaminas: las monoaminoxidasas (MAO) y la catecol-o-metiltransferasa (COMT). La MAO se

encuentra en la superficie externa de la membrana mitocondrial. Esta enzima oxidativa desamina las catecolaminas en sus compuestos correspondientes, que a su vez pueden convertirse en sus ácidos respectivos o en glicol por la reductasa del aldehído. Se han identificado varias isoenzimas con diferente afinidad para sus sustratos. MAO-A desamina noradrenalina y el 5-hidroxitriptófano, por otra parte MAO-B actúa sobre una amplia gama de feniletanolaminas⁸.

La COMT se localiza en la vecindad de todas las células, actúa en las catecolaminas extracelulares, su grupo prostético contiene magnesio y transfiere un grupo metilo de su cosustrato, la *S*-adenosilmetionina (SAM), al grupo 3-hidroxi del anillo de las catecolaminas. El principal metabolito de la dopamina es el ácido 4-hidroxi-3-metoxifenilacético, el cual también se conoce como ácido homovainílico (HVA). Las terminales dopaminérgicas tienen una alta afinidad por la DA, lo cual es importante para terminar su acción. En el interior de la sinapsis la MAO transforma DA en ácido dihidroxifenilacético (DOPAC), mientras que por otro lado la dopamina extracelular se convierte en el HVA.

La noradrenalina tiene dos metabolitos principales, el ácido vainilmandélico (VMA) y el 3-metoxi-4-hidroxifeniletilenglicol (MHPG). Este último es relativamente específico del cerebro (al menos, de 20 a 50% del total del MHPG), por lo cual se usa como indicador de actividad noradrenérgica central⁹.

2.3. NEUROBIOQUÍMICA DE LA SEROTONINA

La serotonina (5-hidroxitriptamina) es un neurotransmisor del SNC y del plexo mesenterio del tubo digestivo. La fisiología y neuroquímica de la 5-hidroxitriptamina (5-HT) es compleja, ya que además de ser un neurotransmisor, tiene funciones neurohormonal local; es decir funciones paracrinas. La 5-HT está relacionada con varias funciones como el sueño y la regulación neuroendocrina, en esta última como precursor de la hormona melatonina en la glándula pineal. En el SNC de los mamíferos modula la temperatura corporal, el sueño, la presión arterial, algunas secreciones endocrinas, el apetito, la conducta sexual, aspectos motores y el dolor.

Se ha planteado la hipótesis de que, tal vez el sistema serotoninérgico module la conducta humana, en el sentido de que un descenso en su transmisión produce desinhibición o facilidad para realizar algunas actividades, por lo cual se le asocia con la conducta agresiva.

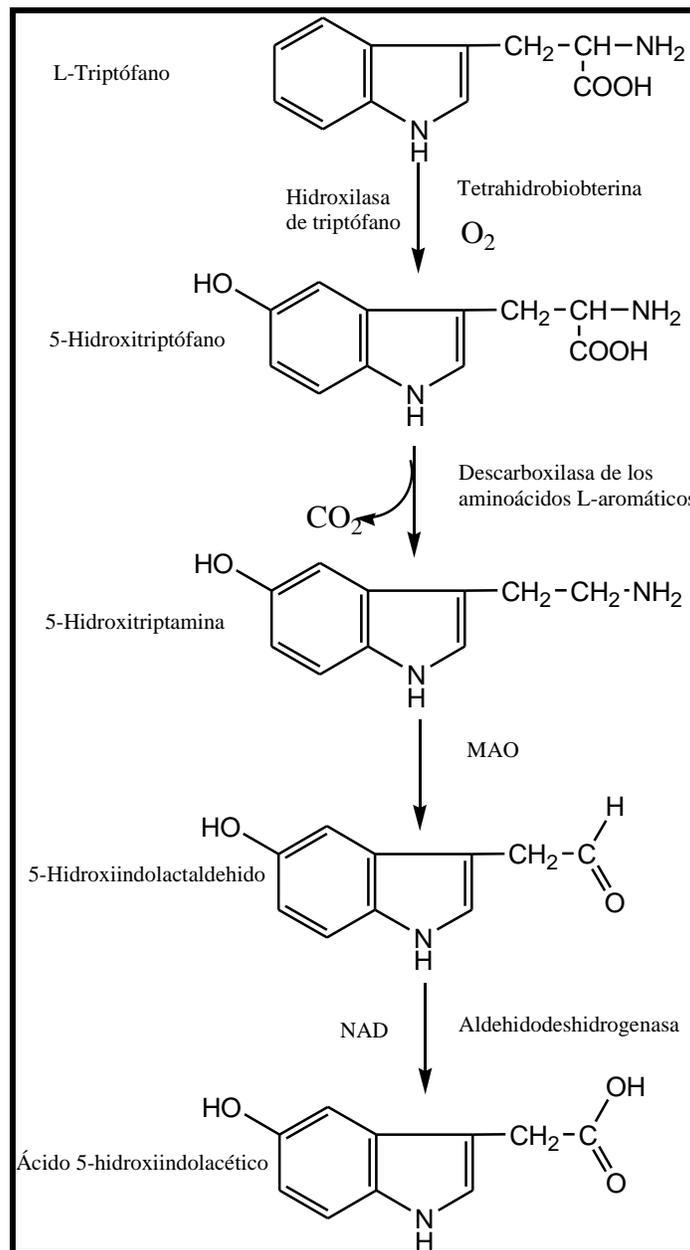
2.3.1. BIOSÍNTESIS

El precursor de la 5-HT es el aminoácido esencial triptófano, el cual entra con facilidad al SNC al cruzar la barrera hematoencefálica. La hidroxilasa de triptófano (HTr) es la primera enzima en el proceso sintético y utiliza como cofactores al oxígeno molecular y la 1-*eritro*-tetrahidropterina (THBP). Se emplea un átomo de oxígeno para formar el 5-hidroxitriptófano (5-HTr). La K_m (constante de Michaelis) de la enzima para el triptófano es de 50 a 120 μmol . La concentración del triptófano en el cerebro es cercana a 30 μmol , por

lo que el incremento en la disponibilidad de este aminoácido aumenta la síntesis de 5-HT (Figura 2).

La HTr sólo se encuentra en células que sintetizan serotonina y sus concentraciones son paralelas. La hidroxilación del triptófano es el paso limitante en la síntesis de serotonina.

Figura 2. Metabolismo de la serotonina.



El siguiente paso es la descarboxilación del 5-hidroxitriptófano por la enzima DCAA; esta reacción depende del pirodoxal-5'-fosfato. Al final de este proceso enzimático se obtiene la 5-hidroxitriptamina.

En condiciones fisiológicas la HTr no se encuentra saturada por completo. Es por ello que en este caso y a diferencia de lo que ocurre con las catecolaminas, la síntesis de 5-HT puede aumentar por las llamadas “cargas de precursor”. La disposición de L-triptófano es un factor limitante para la síntesis de 5-HT. Pero la administración de L-triptófano, ha producido alteraciones tales como la eosinofilia necrosante, entre otras complicaciones.

El almacenamiento de la 5-HT tiene muchas similitudes con el de las catecolaminas. Se considera que la 5-HT también está unida a un complejo de proteínas, a iones divalentes y a trifosfato de adenosina. Las vesículas sinápticas capturan la serotonina en forma activa.

La serotonina se libera por un mecanismo de exocitosis dependiente de calcio, el proceso se regula por autorreceptores, entre otras cosas. Existen otros neurotransmisores que coexisten con la 5-HT; las células del núcleo bulbar contienen 5-HT y sustancia P, algunas otras sustancias contienen combinaciones de leucina-encefalina, hormona liberadora de la tirotrópina (TRH) y quizás otras sustancias. Se postula la intervención de algunos otros neurotransmisores en la liberación de 5-HT, entre los cuales se incluyen a la dopamina, noradrenalina, acetilcolina y prostaglandinas¹⁰.

2.3.2. RECEPTORES SEROTONINERGICOS.

En la actualidad se han identificado cerca de 14 subtipos de receptores 5-HT, lo cual se realizó por técnicas de radioligandos en preparados homogenizados cerebrales y la nomenclatura que de esto se elaboró con una combinación de técnicas farmacológicas y de clonación.

Los subgrupos de receptores 5-HT₁ y 5-HT₂ están unidos a receptores de proteína G e incluyen múltiples isoformas de la misma clase. Los receptores 5-HT₁ se subdividen en cinco subtipos (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} y 5-HT_{1F}). Los receptores 5-HT_{1A} tienen una alta afinidad por la espiperona mientras que los de tipo 5-HT_{1B} tienen una afinidad baja por este mismo ligando. El tercer subtipo, 5-HT_{1C}, se identificó en los plexos coroideos y la corteza de varias especies. En estudios con ligandos radiactivos se apoya la asociación entre los receptores 5-HT_{1A} y los mecanismos de segundos mensajeros acoplados a la adenilciclasa. A este tipo de receptores se le atribuyen algunas funciones neurofisiológicas como la inhibición de las neuronas de rafe. Estos se encuentran en una alta densidad en hipocampo. Otras funciones relacionadas con estos receptores son: eyaculación, respuesta hipotensora, termorregulación, agresión y ansiedad entre otra.

Los receptores 5-HT₂ se subdividen en 5-HT_{2A} y 5-HT_{2B}, de los cuales dado mayor los 5-HT_{2A}, son tal vez los más mejor caracterizados, éstos tienen una alta densidad en la corteza prefrontal; por lo cual, se ha propuesto que estimulan el recambio de los fosfoinositidos.

Los receptores 5-HT₃ están acoplados a canales iónicos con estructura similar a la subunidad α de los receptores nicotínicos, se encuentran en una alta densidad en el *nucleus tractus solitarii* y en el área postrema por lo cual se cree participan en la reacción emética.

Mientras que, los receptores del 5-HT₄ al 5-HT₇ se han identificado mediante clonación molecular y caracterizados bioquímicamente, pero su papel en la depresión es todavía desconocido.

2.3.3. DEGRADACIÓN DE LA SEROTONINA.

Al término de su actividad, la serotonina se retira por un mecanismo de recaptura de las terminales presinápticas, este sistema es de alta afinidad, baja capacidad y gran especificidad. Depende de sodio y de la temperatura, además de ser saturable.

Una vez que la serotonina se localiza de nuevo en la terminal presináptica, el trabajo catabólico se realiza a través de la MAO y en específico por la MAO-A. El primer metabolito que se obtiene es el 5-hidroxiindolacetaldehído, este puede oxidarse hasta formar el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) que es el producto final del catabolismo de la 5-HT, el cual tiene una distribución similar en el SNC a la serotonina.

Los cuerpos celulares que contiene serotonina se localizan en particular en los núcleos del rafe, de donde envían proyecciones a casi todo el SNC. Del núcleo del rafe dorsal (B-7) parten fibras a la neocorteza, corteza piriforme, bulbo olfatorio, neostriado, tálamo, amígdala, hipocampo, sustancia negra y *locus coeruleus*. Del núcleo central superior (B-8) salen proyecciones a la corteza cerebral, hipocampo, núcleo supraquiasmático, área hipotalámica anterior, área medial preóptica, los núcleos arqueados

y de las astas dorsales de la médula espinal. El núcleo de rafe oscuro (B-2) y los núcleos de rafe pálido (B-1) que contienen la sustancia P, se proyectan a las células de la columna intermediolateral y a las astas ventrales de la médula espinal.

2.4. BIOQUÍMICA DE LA DEPRESIÓN.

2.4.1. NORADRENALINA.

La hipótesis catecolaminérgica de los trastornos afectivos se propuso en la década de los sesentas. De forma muy simple esta hipótesis propone que, algunas formas de depresión presentan una deficiencia funcional de NA. Por otro lado, la manía se relaciona con un incremento de la misma.

La evidencia en la que se basan estas proposiciones son farmacológicas e indirectas: a) la iproniacida (inhibidor de la MAO) mejora la depresión y bloquea la destrucción de NA; b) la imipramina bloquea la recaptura de la NA y mejora la depresión; c) la reserpina impide el almacenamiento de catecolaminas, por lo cual aumenta su destrucción y se reduce su disponibilidad, a nivel de la hendidura sináptica. En personas susceptibles la reserpina produce cuadros clínicos de depresión que no se pueden diferenciar de pacientes que sufren depresión mayor.

La cuantificación de metabolitos de la NA en los líquidos corporales dan las siguientes evidencias. El 3-metoxi-4-hidroxifeniletilenglicol (MHPG) es uno de los principales metabolitos centrales de NA. En pacientes con depresión se encuentra una menor cantidad de MHPG en el líquido cefalorraquídeo.

La diferencia que existe entre los niveles de MHPG se utiliza como predictor de respuesta a los antidepresivos. Pacientes con niveles bajos de MHPG responde mejor a los fármacos que bloquean la recaptura de la NA en forma más selectiva (por ejemplo, imipramina, desimipramina, nortriptilina, maprotilina), mientras que algunos pacientes con niveles altos de MHPG responden mejor a la amitriptilina. No obstante, aún no se comprueba en todos los casos la utilidad clínica del MHPG para predecir una mejor respuesta a cierto tratamiento.

2.4.2. DOPAMINA.

Aunque gran parte de la investigación en este campo se centra sobre la NA, también existen muchas evidencias de alteraciones en el sistema de la DA en la depresión; algunos pacientes deprimidos muestran mejoras cuando se les administran precursores de esta como la L-dopa. En cuanto a las estrategias para cuantificar metabolitos de DA en líquido cefalorraquídeo o periféricos, se encontró que su principal metabolito, el ácido homovainílico (HVA), se encuentra en cantidades bajas, lo cual se correlaciona con una buena respuesta a los antidepresivos. Sin embargo, no se encuentran diferencias entre pacientes deprimidos y voluntarios sanos cuando se intente explorar el sistema dopaminérgico.

2.4.3. SEROTONINA.

Las evidencias preliminares sugieren que la disminución de la actividad de la 5-HT, en realidad puede aumentar la vulnerabilidad para la depresión o de hecho causarla. Algunas de las alteraciones encontradas, en pacientes deprimidos, sobre este sistema son:

a) Decremento en la disponibilidad del triptófano cerebral para el metabolismo hacia 5-HT.

b) Menor frecuencia de descarga en las neuronas 5-HT secundaria a la hipersensibilidad del autorreceptor; aumento en la recaptura.

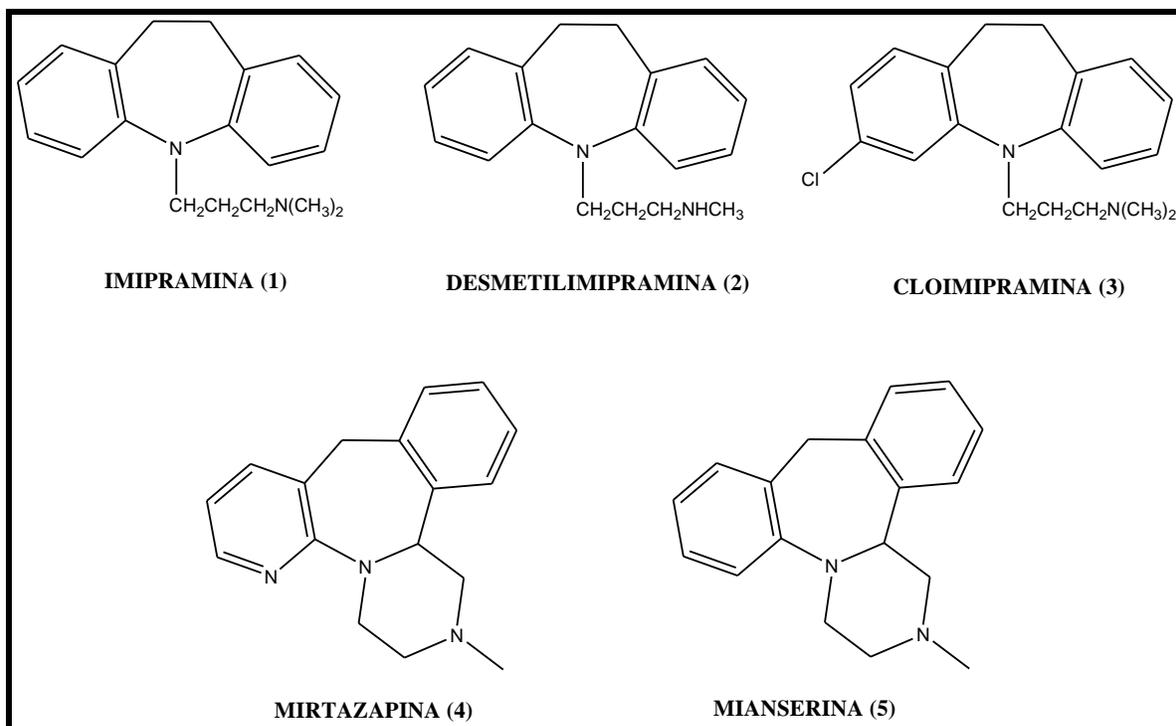
c) Disminución en la respuesta del receptor postsináptico.

En un comienzo, la investigación del principal metabolito de la serotonina en líquido cefalorraquídeo, el 5-HIAA produjo resultados contradictorios. Se correlaciona la reducción de este con algunas sintomatologías y se propone que guarda una relación con los ideas e intentos suicidas. Por otro lado, se señalan niveles bajos de triptófano plasmático en pacientes deprimidos.

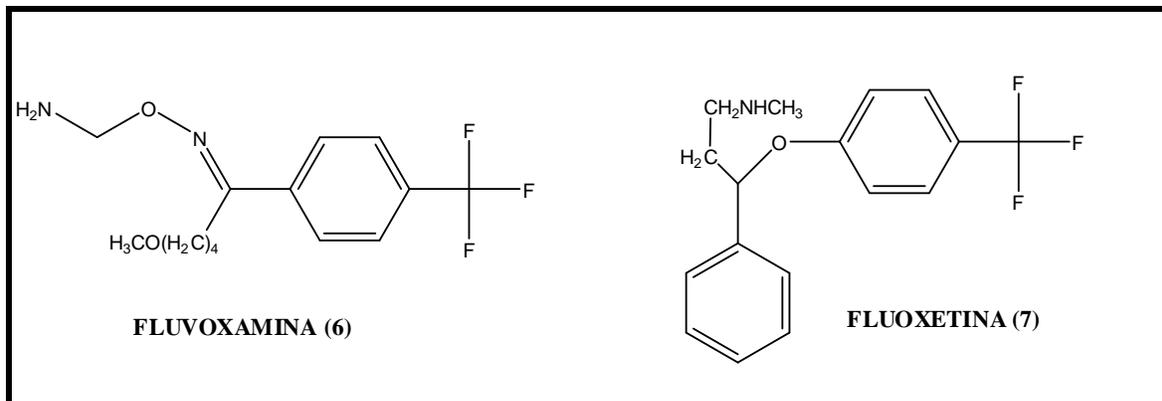
2.5. ANTIDEPRESIVOS

El arsenal de antidepresivos empleados en la clínica, es una amplia variedad de moléculas que en su mayoría actúan incrementando la concentración de uno o más neurotransmisores, inhibiendo su recaptura, evitando su metabolismo o estimulando su liberación. Ejemplo de estos son la imipramina (**1**), el cual fue el primer fármaco antidepresivo de la serie denominada antidepresivos tricíclicos. Estos fármacos son

inhibidores de la recaptura de neurotransmisores, y algunos son capaces de bloquear prevalentemente el ingreso de noradrenalina a las neuronas noradrenérgicas como la desmetilimipramina (2), otros son más eficaces en bloquear el ingreso de serotonina que de noradrenalina como la cloimipramina (3) y algunos, como la imipramina, que actúa preferentemente sobre la recaptura de noradrenalina que sobre la de serotonina.



Después de los tricíclicos se diseñaron nuevas generaciones de antidepresivos, entre los que destacan los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina, por tener un blanco más específico y menos efectos secundarios, ejemplos de estos son la fluvoxamina (6) y fluoxetina (7).



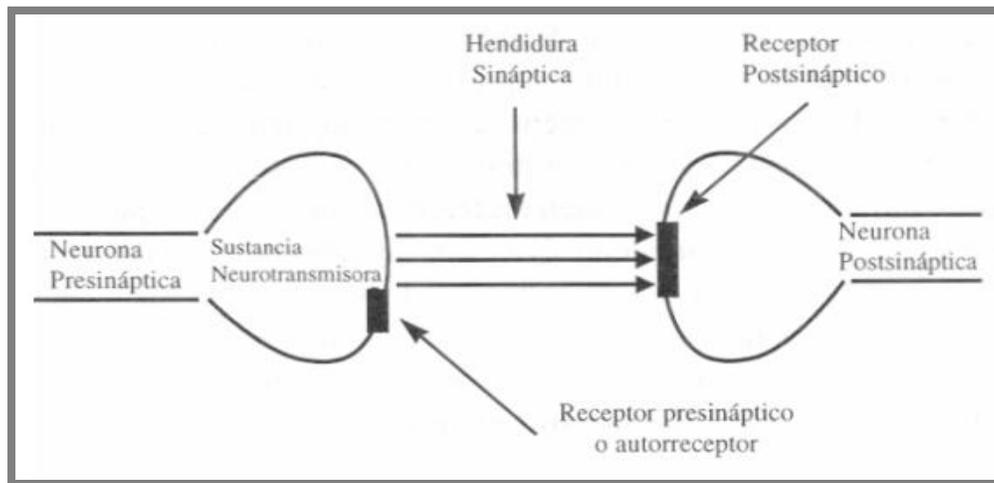
Sin embargo, todos los antidepresivos suelen provocar efectos secundarios tales como: ansiedad, sedación, insomnio, psicosis, diarrea, disminución del apetito sexual, entre otros^{11, 12}. Además, se calcula que cerca del 60% de los pacientes deprimidos no responde satisfactoriamente al tratamiento antidepresivo, lo cual induce a que su curso evolucione hacia la cronicidad y la recurrencia, es decir, recuperación incompleta del episodio con síntomas residuales¹³.

La clasificación basada en el mecanismo de acción del fármaco ha quedado un tanto eclipsada porque toma como referencia el efecto neuroquímico. Sin embargo, el conocimiento de los distintos mecanismos de acción resulta indispensable para entender cómo se produce la modificación neuroquímica.

El mecanismo de acción representa la vía por la que el fármaco opera para obtener el efecto neuroquímico propio, traducido casi siempre en la activación de un sistema neurotransmisor o de varios. Pues bien, la activación de un sistema neurotransmisor puede obtenerse por alguna de estas vías:

1. Aumento de la síntesis o de la liberación del neurotransmisor (NT). El incremento de la síntesis del NT se produce principalmente por un aumento de la sustancia precursora,

mientras que, el aumento de su liberación se debe a la desensibilización del receptor inhibitor presináptico, también denominado autorreceptor; el cual, se encuentra anclado en el cuerpo de la neurona presináptica y dendritas, ejerciendo de esta forma su acción autorreguladora sobre la liberación del neurotransmisor. La mianserina (5) se distingue por facilitar un incremento en la concentración de noradrenalina, mediante el bloqueo del receptor presináptico y entre los más modernos, la mirtazapina (4) sobresale en este sentido por desarrollar una acción bloqueadora sobre los autorreceptores de la noradrenalina y la serotonina provocando el incremento de la liberación de ambos neurotransmisores. Se trata, por tanto, en ambos casos de una acción inhibitora que se traduce en un aumento de la liberación de la sustancia neurotransmisora, ver esquema 1.



Esquema 1. Función de los receptores presinápticos.

2. Aumento del tiempo de contacto de la sustancia neurotransmisora con el receptor postsinápticos mediante los siguientes mecanismos:

2.1. Inhibición de su recaptura.

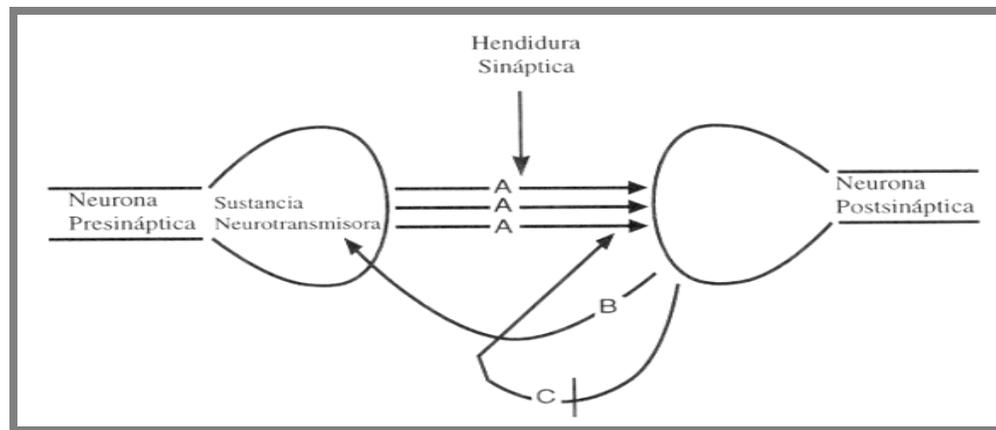
2.2. Inhibición de la desintegración del neurotransmisor.

2.3. Aumento de la sensibilidad de los receptores postsinápticos.

2.4. Aumento de la densidad o número de los receptores postsinápticos.

Los mecanismos sustantivos de los que se valen preferentemente la mayor parte de los fármacos antidepresivos son los que modifican la sustancia neurotransmisora, mientras que la acción sobre los receptores postsinápticos ocupa casi siempre un lugar secundario.

2.1. El incremento en el tiempo de contacto de la sustancia neurotransmisora con el receptor postsináptico a causa de la inhibición de su recaptura por parte de la neurona presináptica ver esquema 2.



Esquema 2. Con la letra A representamos la acción de la sustancia neurotransmisora sobre el receptor postsináptico. La B se refiere a la recaptura del neurotransmisor por la neurona presináptica, con lo que se da fin a su acción sobre el receptor postsináptico. La C indica que la recaptura del neurotransmisor se ha bloqueado con lo que se facilita la prolongación de su contacto con el receptor postsináptico mecanismo de acción propio de los antidepresivos denominados inhibidores de la recaptura de noradrenalina o de serotonina.

2.2. La inhibición de la destrucción de neurotransmisor, es debido a la inhibición de la actividad de la MAO, que interviene en la desintegración de los principales neurotransmisores. Dentro de estos fármacos se incluyen los IMAO (inhibidores de la monoaminoxidasa).

La utilización de los IMAO se ha mantenido restringida porque su efecto clínico es inconstante y difícil de controlar, además su administración conlleva ciertos riesgos; los cuales, pueden evitarse no asociándolos con algunos productos de extenso consumo (queso, habas, vinos, café) y con otros fármacos antidepresivos. Si no se respeta esta incompatibilidad puede aparecer el "efecto queso", en forma de una crisis aguda de hipertensión arterial con riesgo de muerte, provocada por la acumulación de tiramina¹⁴.

Los nuevos fármacos IMAO actúan sobre un sitio específico de la enzima MAO, por lo que se hallan libres del riesgo de provocar una crisis hipertensora. Pero la eficacia ha descendido en ellos casi en la misma medida que su seguridad resulta elevada.

Los neurotransmisores sobre los que actúan la mayoría de los antidepresivos son: la noradrenalina o norepinefrina (NA), la dopamina (DA, precursora de la noradrenalina), la serotonina o 5-hidroxitriptamina (5HT) y la acetilcolina (ACH). Sin embargo, la hiperactividad colinérgica se asocia con la depresión endógena y la administración de agonistas (estimulantes) colinérgicos implica la aparición de sintomatología depresiva.

Los antidepresivos tricíclicos, ejercen una acción antagónica importante sobre la acetilcolina, por medio del bloqueo de los receptores postsinápticos colinérgicos muscarínicos. Esta acción representa a la vez un factor terapéutico, que permite que estos fármacos produzcan efectos especialmente eficaces frente a las depresiones más severas, aunque, causan de efectos secundarios como: boca seca, visión borrosa, estreñimiento, retención de orina, entre otros.

Los antidepresivos más utilizados son los que actúan a través de la inhibición de la recaptura de un neurotransmisor, con lo que consiguen prolongar la acción de este sobre el receptor postsináptico. Por ello, la clasificación respecto al efecto neuroquímico se centra en los medicamentos que actúan a través de la inhibición de la recaptura (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de antidepresivos inhibidores de la recaptura de neurotransmisores.

A. Inhibidores de la recaptación de noradrenalina	1. Selectivos noradrenérgicos	Maprotilina Nomifensina Amoxapina Reboxetina Amineptino y bupropion (estas dos sustancias activan también la función de la dopamina mediante el bloqueo de su recaptación).
	2. Preferenciales noradrenérgicos	Desipramina Viloxacina
B. Inhibidores de la recaptación de serotonina	3. Selectivos serotoninérgicos globales	Fluvoxamina Fluoxetina Paroxitina Sertralina Citaloprán (el más selectivo de todos)
	4. Selectivos serotoninérgicos, con bloqueo de los receptores 5HT _{2Y} 5HT ₃	Tradozone Nefazodone
	5. Preferenciales serotoninérgicos	Clomipramina
C. Inhibidores mixtos de la recaptación de serotonina y noradrenalina	6. Serotoninérgicos y noradrenérgicos	Imipramina Amitriptilina Nortriptilina Doxepín Venlafaxina
D. Antidepresivos atípicos	7.- Inhibidor de los autorreceptores noradrenérgicos y serotoninérgicos	Mirtazapina

En la **Tabla 1** se ilustra la agrupación de los antidepresivos en siete grupos, de acuerdo a su efecto sobre los neurotransmisores.

2.6. MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE LA DEPRESIÓN.

Los modelos animales pueden definirse como la preparación experimental que se desarrolla en una especie con el propósito de estudiar los fenómenos que ocurren en otra especie distinta. En el caso de los modelos animales de las enfermedades humanas, se busca desarrollar síndromes en los animales que simulen la fisiopatología anormal humana. Es muy claro que existe una gama de diferencia entre el modelo animal y la enfermedad en el ser humano. Sin embargo, gracias a los modelos de conducta animal podemos estudiar y entender mejor las bases biológicas que subyacen a dicha enfermedad⁷.

En el caso de las enfermedades psiquiátricas, esto resulta un poco más complejo, porque no se trata de estudiar tan sólo los aspectos físicos, como el crecimiento de un tumor, el desarrollo de fiebre o la inducción de diabetes, en este caso donde existe un componente central subjetivo como la mente, es necesario estudiar el estado “mental” del animal basándonos en la observación de la conducta del mismo. Aunque los modelos, por definición, no son el estado real, pueden tener un valor heurístico y predictivo. En este grupo de enfermedades se incluye a la depresión o “desesperanza aprendida”, la hipomanía y la manía. Los modelos animales en esta área proliferaron en virtud de dos situaciones, hay una serie de teorías sobre la depresión que incluyen aspectos como el estrés y la separación, los cuales son factibles de reproducir en los animales. En segundo lugar, en la depresión existen diversos signos vegetativos que pueden reproducirse y medirse en los animales. De manera que, que un modelo útil de depresión deberá:

- 1) Reproducir las características conductuales y patológicas del trastorno depresivo.

2) Permitir el estudio de los mecanismos que subyacen a la depresión y que no son factibles de estudiarse directamente en humanos.

3) Permitir una evaluación confiable de los fármacos antidepresivos, así como ayudar a identificar propiedades antidepresivos de los mismos¹⁵.

También se ha descrito, que para ser satisfactorio del todo, un modelo animal de depresión debe tener similar etiología, bioquímica, sintomatología y tratamiento que la depresión humana.

Debido a que la etiología y la bioquímica de la depresión humana siguen siendo objeto de estudio, ya que aún no se han comprendido del todo, la mayoría de los modelos animales de depresión se basan en la sintomatología y el tratamiento de esta¹⁶. Uno de los modelos animales de depresión más utilizados para determinar la actividad antidepresiva de nuevos fármacos es el modelo de nado forzado, el cual fue descrito por primera vez por Porsolt y col. en 1977, este modelo ha demostrado ser confiable para evaluar un amplio espectro de fármacos antidepresivos; así como, sustancias con potencial efecto antidepresivo¹⁷⁻¹⁹.

En este modelo, se induce un estrés agudo en el roedor, forzándolo a nadar en un recipiente cuyas dimensiones no le permiten escapar; produciendo en el sujeto de experimentación una conducta de inmovilidad; la cual, es revertida por el tratamiento con diversos fármacos antidepresivos. De esta manera, un aumento en la conducta de inmovilidad es interpretado como una disminución de la motivación del individuo para buscar una salida al problema, en lo general se acepta que un incremento en la conducta de inmovilidad reproduce uno de los síntomas principales de la depresión clínica.

Así mismo, se ha sugerido que la disminución de la inmovilidad podría deberse a un incremento en la actividad locomotriz del animal. Sin embargo, la actividad locomotriz puede incrementarse con sustancias estimulantes del SNC como las anfetaminas (Tabla 2), pero no con los fármacos antidepresivos²⁰. En contra parte, los depresores del SNC disminuyen la actividad locomotriz e incrementan la inmovilidad durante la prueba. Por lo cual, se considera un buen antidepresivo, a aquel que disminuye la inmovilidad, sin modificar la actividad locomotriz del roedor.

Tabla 2. Efecto de diversos fármacos sobre la conducta de inmovilidad en nado forzado y en la actividad locomotora.

Tipo de actividad	Nombre del fármaco	Inmovilidad en el nado forzado	Actividad locomotora
Antidepresiva	Imipramina	↓	1
	Desmetilimipramina	↓	1
	Cloimipramina	↓	1
	Buspirona	↓	1
	Ipsapirona	↓	1
	Gepirona	↓	2
	Tandospirona	↓	2
	Setralina	↓	2
	Fluoxetina	↓	2
	Fluvoxamina	↓	2
Sin actividad	Valproato de sodio	↓	2
	Diazepam	=	2
	Ketanserina	=	3
	Ritanserina	=	3
Falso positivo	Anfetaminas	↓	4
	Tropano	↓	5

Los fármacos antidepresivos disminuyen la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado y no modifican o, en su caso disminuyen la actividad locomotora. (↓ disminuye la inmovilidad; = no modifica la inmovilidad).

1 No la modifica ó a dosis alta la disminuye.

2 No la modifica.

3 Disminuye.

4 Incrementa.

5 Incrementa en dosis alta.

2.7. FAMILIA ANNONACEAE.

La familia Annonaceae que se caracteriza por crecer en los trópicos comprende cerca de 130 géneros y aproximadamente 2,3000 especies^{21, 22}. Siendo una familia botánica muy extensa es común que varias especies hayan sido usadas a lo largo de distintas épocas y lugares. Hoy en día los usos de especies de Anonáceas cubren un rango muy variado. Desde la industria perfumera hasta la comercialización de sus frutos²³. Aunado a lo anterior se ha demostrado que diferentes compuestos sintetizados por estas especies poseen propiedades farmacológicas interesantes. En México existen un total de 22 especies de *Annonas* distribuidas, en Guerrero, Yucatán, Michoacán, Morelos y Chiapas principalmente (Tabla 3).

Varias especies de *Annonas* han sido intensamente utilizadas en la medicina tradicional (Tabla 4). Por ejemplo en México el jugo de *Annona purpurea* se ha utilizado para aliviar fiebres y escalofríos. En otros sitios se recomienda para el alivio de la ictericia. El cocimiento de la corteza usado contra la disentería y un te de la corteza interna se utiliza para aliviar edemas²⁴. La *Annona chrysophylla* es utilizada por tener propiedades analgésicas, la corteza y la raíz son utilizadas como remedio contra la mordeduras de víboras y contra el cáncer. Investigaciones sobre esta especie han demostrado que posee actividad antitumoral y antibiótica. Así mismo las especies de *A. reticulata*, *A. cherimolia* y *A. squamosa* son usadas en la medicina tradicional como remedio para diversas enfermedades²⁵.

Tabla 3. Especies del género *Annona* presentes en México

<i>Annona squamosa</i>	<i>A. cherimolia</i>
<i>A. montana</i>	<i>A. glabra</i>
<i>A. muricata</i>	<i>A. bullata</i>
<i>A. atemoya</i>	<i>A. senegalensis</i>
<i>A. densicoma</i>	<i>A. crassiflora</i>
<i>A. purpurea</i>	<i>A. reticulata</i>
<i>A. coricea</i>	<i>A. glauca</i>
<i>A. diversifolia</i>	<i>A. globiflora</i>
<i>A. scleroderma</i>	<i>A. holoserica</i>
<i>A. spp</i>	<i>A. spraguei</i>
<i>A. macrophyllata</i>	<i>A. lutescens</i>

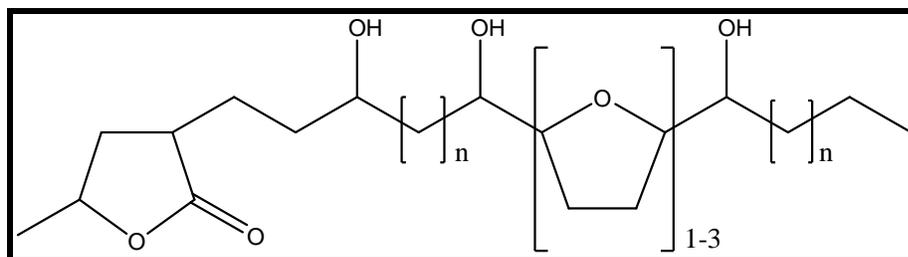
La actividad farmacológica que presenta esta familia es muy diversa. Es así, que se ha comprobado, que algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana son una fuente potencial de productos con actividad sobre Sistema Nervioso Central (SNC). Ejemplo de estas son algunas especies del género *Annona*, como; la *Annona muricata* y la *Annona diversifolia* las cuales son usadas como sedantes o por sus propiedades tranquilizantes²⁶.

Tabla 4. Algunas especies de *Annonas* utilizadas en la terapéutica tradicional²⁷.

Especie	Nombre común	Usos
<i>Annona cherimolia</i> Mill.	Anona, chirimoya, pox o chirimoya	En México usan la cáscara (epicarpio) en cocimiento ‘contra la pulmonía’, las semillas pulverizadas se usan como insecticida y son venenosas.
<i>Annona glabra</i> L.	Yucatán, x-max, coecho o palo de corcho	Según Gaumer, esta planta tiene propiedades expectorantes y se usa como remedio en las primeras fases de la tuberculosis y contra la ictericia. Es la misma planta que se llama corcho en Veracruz, Tabasco, Michoacán y Guerrero, palo de corcho o max, en Yucatán.
<i>Annona muricata</i> , L.	Tak-ob o Guanabana.	El fruto se dice que cura la disentería, las hojas curan la pérdida del espíritu. Es ampliamente distribuida en la República mexicana.
<i>Annona ssp.</i>	Anona de monte	“Cura las cámaras de sangre”, su raíz es ponzoñosa y según se refiere aquel que tomase la raíz en polvo, tardará en morir el tiempo que ocupó en secarla al sol.

Con respecto a los constituyentes químicos, estas especies producen metabolitos secundarios con una gran diversidad estructural, entre los que se cuentan, aceites esenciales volátiles, fijos y metabolitos de tipo terpenoide. Un grupo de metabolitos secundarios importantes en esta familia son las acetogeninas; las cuales son policétidos de más de 30 átomos de carbono, y se han descrito aproximadamente 300 estructuras diferentes. Además han mostrado actividad citotóxica, inmunosupresora, pesticida e insecticida, por lo cual, han sido objeto de amplios estudios, ejemplo de estas son la 4-deoxyannoreticulina, *cis*-4-deoxyannoreticulina y la (2, 4-*cis*) y (2, 4-*trans*)-esquamocinona²⁸⁻³¹. Además, a estos policétidos, se les atribuye la toxicidad que presentan algunas *Annonas*.

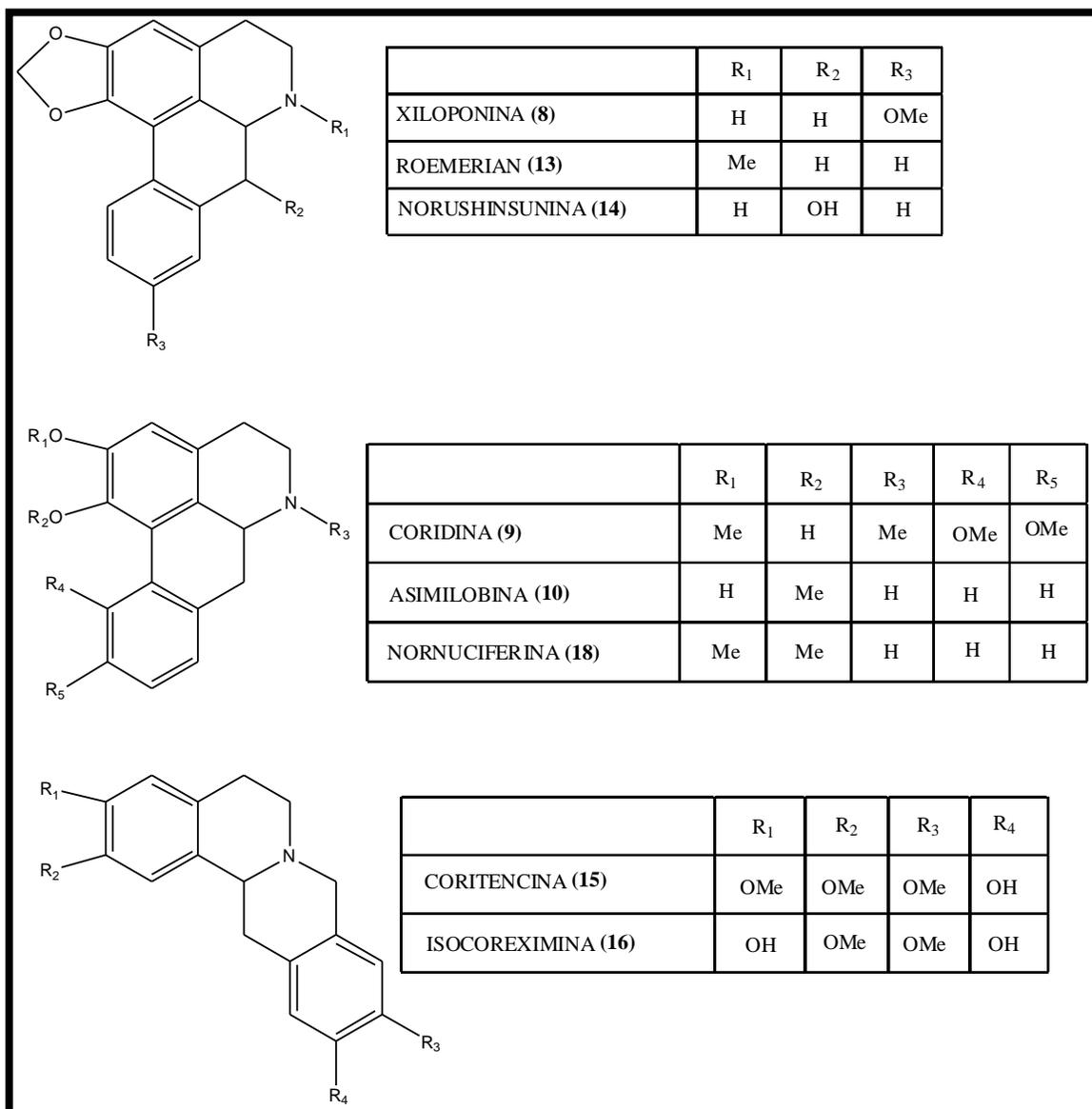
Figura 3. Ejemplo de la estructura de las acetogeninas



Otro grupo importante de metabolitos secundarios presentes en los diferentes géneros de Annonáceas son los alcaloides; benzilisoquinolínicos, aporfínico, oxoaporfina, berberinas, entre otros^{32, 33}, a los cuales se les ha encontrado un sin fin de actividades farmacológicas³⁴⁻³⁸. Así por ejemplo, se ha descrito que los alcaloides aporfínicos: xilopina (**8**), coridina (**9**), asimilobina (**10**), oxonantenina (**11**) y lirioidenina (**12**), poseen actividad vaso relajante³⁹. Por otro lado, se ha descrito la actividad vasodilatadora y relajante de los alcaloides aporfínicos; lirioidenina, roemerina (**13**) y norushinsunina (**14**), aislados de *A. cherimolia*^{40, 41}, la actividad citotóxica de coritencina (**15**) e isocoreximina (**16**), aisladas de esta misma especie⁴² y la actividad ansiolítica de un extracto hexánico⁴³. Algunos alcaloides de tipo isoquinolínico como la anonaina (**17**), nornuciferina (**18**) y asimilobina aislados de *Annona muricata*, *A. glabra* y *A. montana* han mostrado afinidad por los receptores 5-HT_{1A}; receptores implicados en los trastornos depresivos^{44, 45}. También ha descrito que anonaina, a pesar de unirse pobremente a receptores a dopamina D₁ y D₂, inhibe la recaptura de dopamina, la cual también está implicada en los trastornos depresivos, e incluso se sugiere en estos trabajos que una modificación estructural de los

alcaloides del tipo de anonaina podrían generar un nuevo antidepresivo con gran afinidad para inhibir la recaptura de dopamina⁴⁶⁻⁴⁸.

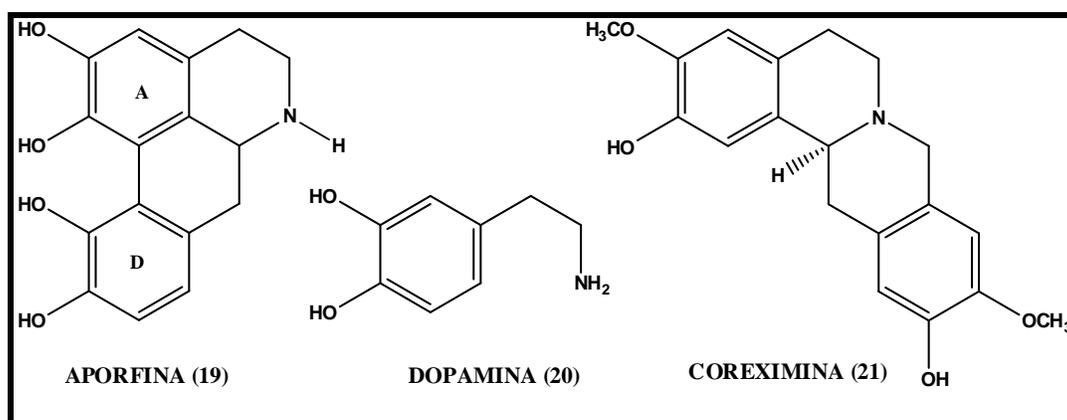
Figura 4. Ejemplo de la estructura de algunos alcaloides.



Es interesante notar las similitudes estructurales que existen entre la dopamina (20) y los alcaloides aporfínicos (19) y berberínicos, las cuales se ponen en evidencia en diversos estudios, en los que se ha analizado la unión de algunas aporfinas a receptores dopaminérgicos y en estudios teóricos sobre la relación estructura-actividad de los

alcaloides de tipo aporfina y berberina y los receptores de dopamina, los cuales proponen que el anillo D de las aporfina, junto con los carbonos C-7, C-6a y el átomo de N en la posición 6, son indispensables para la interacción con los receptores de la dopamina, (Figura 5), el grupo hidroxilo en el C-11 es necesario para una alta afinidad por el receptor, mientras que, un grupo hidroxilo o un átomo de fluor en el C-2 solo enriquece ésta afinidad, en el caso de los alcaloides de tipo tetrahidroprotoberberínicos, en especial coreximina (**21**), presentan alta afinidad por los receptores D₁ y D₂⁴⁹.

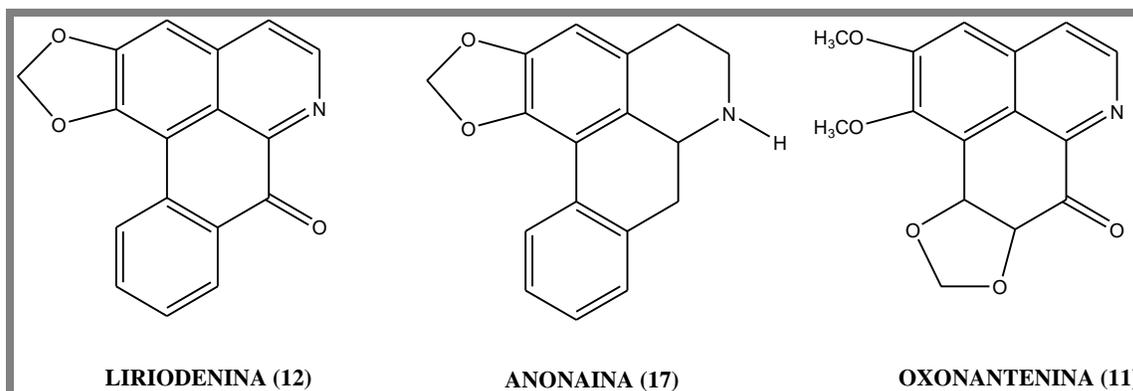
Figura 5. Aporfina, dopamina y coreximina.



En un estudio publicado recientemente, se evaluó la participación de liriodenina (**12**) y anonaina (**17**) aislados de *Magnolia obovata* (Figura 6), en la biosíntesis de dopamina y en su recaptura, en éste estudio se determinó que anonaina inhibe la actividad de las enzimas tiroxina hidroxilasa y la ácido, L-amino descarboxilasa; enzimas esenciales para la síntesis de dopamina, en este mismo estudio se demostró que anonaina reduce los niveles intracelulares de AMP cíclico, pero no modifica las concentraciones de Ca²⁺ intracelular⁵⁰. Estos resultados en su conjunto ponen en evidencia el posible efecto antidepresivo de los alcaloides de tipo aporfínicos. Finalmente, es importante mencionar

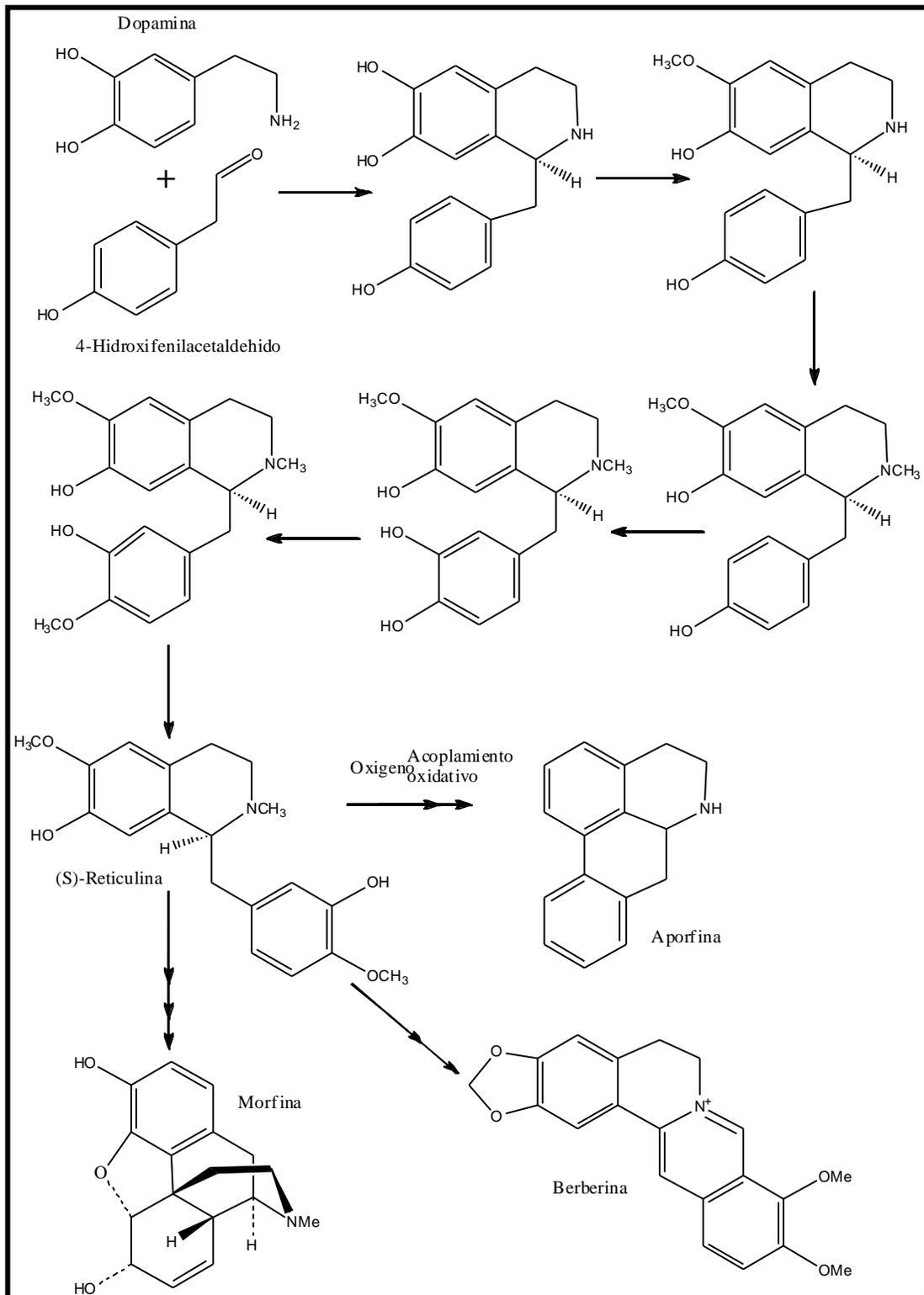
que no se han descrito estudios en modelos animales sobre los posibles efectos antidepresivos de este tipo de alcaloides.

Figura 6. Liriodenina y anonaina



Una de las formas de clasificación de los alcaloides es basándose en el aminoácido precursor de su biosíntesis. La gran mayoría de los alcaloides que sintetizan las anonas provienen del aminoácido precursor tirosina⁵¹⁻⁵³. Es interesante resaltar que la tirosina es el precursor de la síntesis de las catecolaminas en los mamíferos; como la dopamina, la cual, es un neurotransmisor que se produce en las glándulas adrenales y en el tejido nervioso, más aun, los procesos de biosíntesis de la dopamina son completamente iguales, tanto en plantas, como en mamíferos. Además, como se ilustra en la figura 7, la dopamina es un producto intermedio en la biosíntesis de los alcaloides. Puede ser debido a esto, que los alcaloides poseen una gran diversidad de efectos sobre todo a nivel central en los mamíferos, incluido el hombre, algunos ejemplos son la morfina, codeína, papaverina, noscapina, tubocurarina y la mezcalina, entre otros.

Figura 7. Síntesis de alcaloides.



3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La depresión es una enfermedad que tiene un fuerte impacto en la calidad de vida del individuo que la padece, de sus familiares y la sociedad en general. Por otro lado, el uso de plantas medicinales es una alternativa de la población para paliar éstos padecimientos. Sin embargo, existe escasa información sobre la farmacología y principios activos de estas plantas, que validen su uso tradicional. Por lo anterior, resulta importante el estudio químico y evaluación farmacológica en sistemas vivos, de especies con actividad en el sistema nervioso central, las cuales son fuente potencial de moléculas bioactivas con características interesantes para el futuro desarrollo nuevos fármacos antidepresivos.

Con base en lo anterior, resulta evidente la importancia de los estudios en sistemas vivos, que aporten conocimiento formal, al uso tradicional de plantas con acción sobre el SNC y a la obtención de moléculas bioactivas, que ya han mostrado tener actividad *in vitro* en los sistemas de neurotransmisión involucrados en los trastornos depresivos.

4. OBJETIVO.

Evaluar el efecto antidepresivo de un extracto estandarizado de alcaloides de *Annona cherimolia* en el modelo de nado forzado en ratón.

4.1. OBJETIVOS PARTICULARES

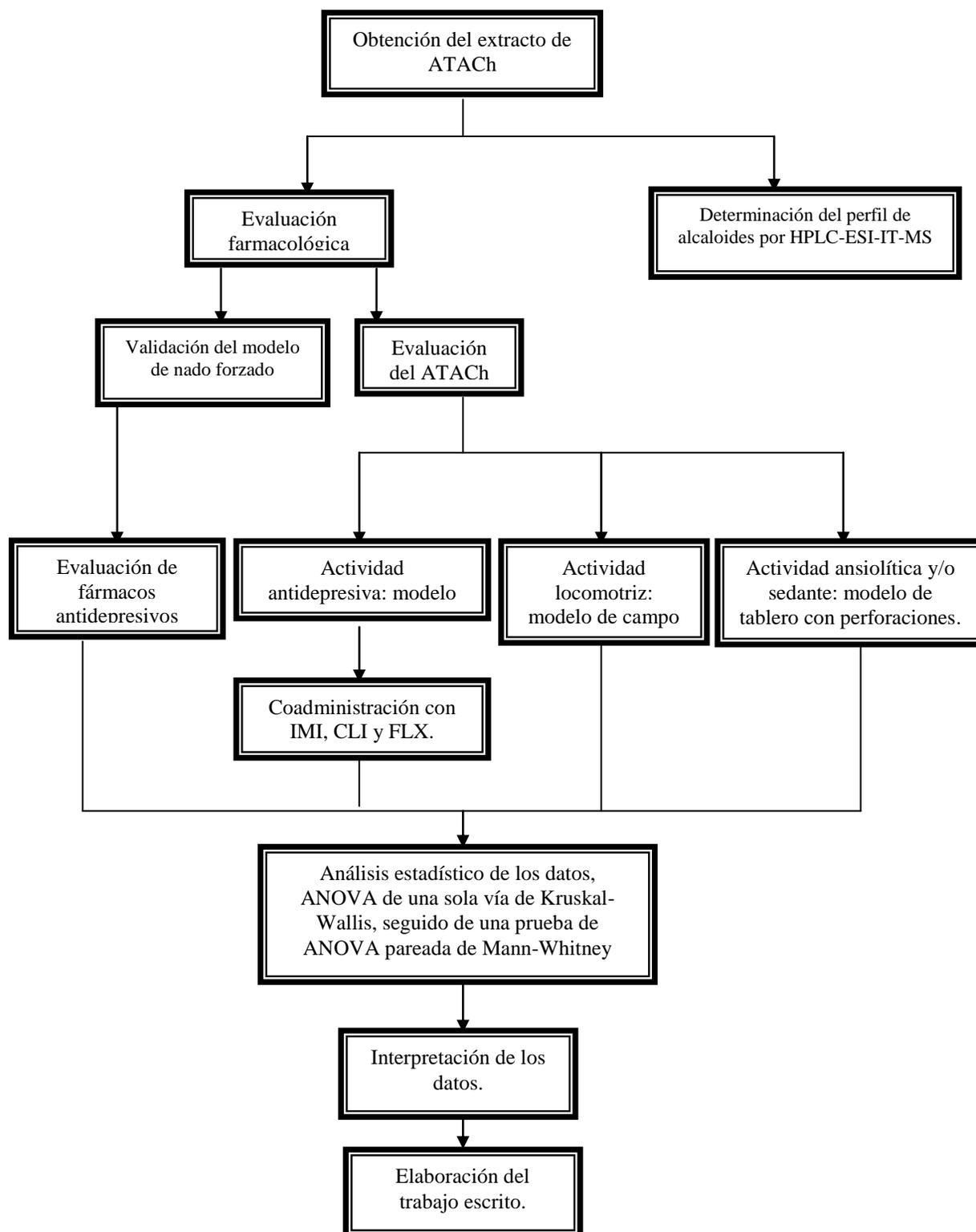
- Validar el modelo de nado forzado en ratón, estableciendo las condiciones adecuadas para la realización de las pruebas en el laboratorio de fitofarmacología.
- Descartar efectos no específicos del extracto tales como: efectos sedante, ansiolítico y/o ansiogénico, mediante el uso del modelo de campo abierto y el tablero con perforaciones.
- Proponer un posible mecanismo de acción del extracto de alcaloides.
- Determinar el perfil de alcaloides del extracto mediante al análisis de HPLC-ESI-IT-MS.

5. HIPÓTESIS.

Se ha descrito que *A. cherimolia* produce alcaloides de tipo aporfina y berberina, los cuales han demostrado tener actividad *in vitro* sobre la recaptura de dopamina y sobre los receptores serotoninérgicos, los cuales intervienen en la bioquímica de los procesos depresivos, entonces es factible que un extracto de alcaloides de *A. cherimolia* ejerza un efecto antidepresivo en la prueba de nado forzado en ratones.

6. MATERIAL Y PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Estrategia de trabajo:



6.2. Material general:

- Vasos de precipitados y material de vidrio de laboratorio
- Balanza granataría MCA OHAUS Triple Mod. 710
- Cilindro de cristal de 21cm de alto y 14cm de diámetro
- Caja de acrílico 53 x 43 cm y 21 cm de altura
- Caja de plexiglás de 60 x 60 cm, con paredes de 10 cm de alto.

6.2.1. Material vegetal: El espécimen de *Annona cherimolia* utilizado en este estudio, se colectó en septiembre de 1999 en Metepec, Puebla, fue identificada por la Dra. N. Diego de la Facultad de Ciencias de la UNAM y depositado en el Herbario de la Facultad de Ciencias, UNAM, con número de registro: 584162.

6.2.2. Animales: Se utilizaron ratones Swiss Webster macho de 6-8 semanas de edad y 25-30 g de peso, los cuales fueron proporcionados en el Bioterio en el Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”. Los animales fueron resguardados en un cuarto con temperatura controlada entre 20-22 °C. Los animales se colocaron en grupos de 8 por caja, con libre acceso a agua y comida, manteniendo un ciclo luz/ oscuridad invertido de (12h /12h). Los animales de prueba fueron habituados en el cuarto de experimentación durante una semana previa a los ensayos, para permitir su adaptación al nuevo ambiente y disminuir su estrés.

El uso y cuidado de los animales se llevaron a cabo siguiendo los lineamientos internacionales establecidos en la guía internacional de uso y cuidado de animales de

laboratorio⁵⁴ y con la aprobación del comité interno de ética del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”.

6.2.3. Equipo:

- Rotavapor büchi R-200
- HPLC Waters 600
- Detector de arreglo de diodos Waters 996 Bruker Esquiere 6000

6.2.4 Fármacos y sustancias: fueron administrados por vía intraperitoneal (ip) en un volumen de 10mg/kg de peso. Utilizando como vehículo solución salina (0.9 %) o suspendidos con 1 % de Tween 80 según fue necesario. Imipramina (IMI), Cloimipramina (CLI), Fluoxetina (FLX) y Diazepam (Dz) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA).

6.3. Metodología

6.3.1 Obtención del extracto: Las partes aéreas secas y molidas se maceraron con hexano, y posteriormente con metanol. Ambos extractos se filtraron por separado y los disolvente se evaporaron a presión reducida, el extracto metanólico se resuspendió en metanol, se trató con una solución 1N de ácido clorhídrico y se extrajo con cloroformo (3veces), la fase acuosa se alcalinizó con una solución 1N de NH₄OH, hasta un pH= 8 y se extrajo nuevamente con cloroformo, finalmente la solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Al evaporar el disolvente se obtuvo el extracto crudo de alcaloides totales de *A. cherimolia* (ATACh). La presencia de alcaloides se verificó

inicialmente, mediante cromatografía en capa fina empleando las pruebas de Dragendorff y Mayer para alcaloides, y se caracterizó posteriormente.

6.3.2. Caracterización del extracto.

Una alícuota del extracto de ATACH se analizó mediante la técnica de HPLC-ESI-IT-MS/MS, utilizando un HPLC Waters 600 con una columna de Supelcosil LC-NH₂, 5µm, 250.0 x 4.6mm, acoplado a un detector de arreglo de diodos Waters 996 Brucker Esquiere 6000. El análisis se realizó a 25 °C. La fase móvil fue una mezcla de acetonitrilo/agua (1:1) con un flujo de 1.0ml/min y a una longitud de onda de 220nm. La identidad de los productos identificados fue confirmada por coinyección, con muestras auténticas. El espectro de barrido total de masas se adquirió en fase de iones positiva, en un intervalo de 50-1000 uma, con un tiempo de barrido de 2 s por ciclo.

El perfil del extracto se muestra en la tabla 5, en donde se representa el tiempo de retención (TR), la fórmula, y la abundancia relativa expresada en (% de Área) y el ión molecular expresado como M+H.

Tabla 5. Perfil de extracto de alcaloides

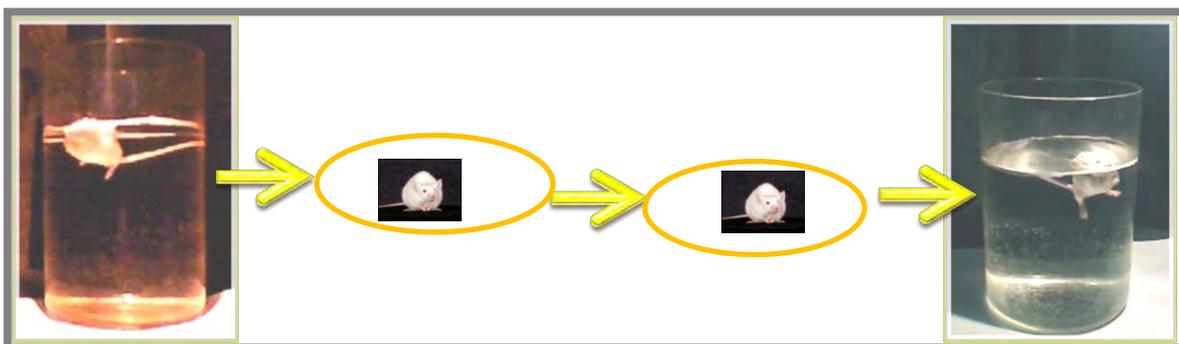
	Compuesto	Fórmula	TR (min)	% de Área	M +H (uma)
1	No identificado	-----	3.1	30.59	346
2	Anonaina	C ₁₇ H ₁₅ O ₂ N	3.6	33.99	267
3	No identificado	C ₁₇ H ₁₅ O ₃ N	5.1	2.28	282
4	Liriodenina	C ₁₇ H ₉ O ₃ N	5.38	22.38	276

6.4. PRUEBAS CONDUCTUALES

6.4.1. Modelo de nado forzado: el aparato consta de un cilindro de 21 cm de alto con un diámetro de 14 cm, el cual es llenado a una altura de 15 cm con agua a $24 \pm 1^\circ$ C. Esta prueba consiste en dos etapas, la primera es nombrada sesión de entrenamiento, en la cual el animal es introducido en el recipiente durante 15 minutos, al inicio de esta etapa el animal nada vigorosamente, hasta que; “aprende” que no hay posibilidad de escapar y entonces sólo realiza los movimientos necesarios para mantenerse a flote (inmovilidad). Una vez terminada la prueba el animal es retirado del tanque, se seca con una franela y se deposita en una caja con una fuente de calor hasta que recupera su temperatura normal. En la segunda parte del experimento, 24 h después del entrenamiento, el animal es sometido a la prueba durante 5 minutos y se registra el tiempo de inmovilidad, utilizando sólo el tiempo de inmovilidad registrado durante los 3 primeros minutos en las pruebas estadísticas (Figura 8).

En este modelo una disminución del tiempo de inmovilidad con respecto a los controles es considerado como un efecto antidepresivo. Todos los experimentos fueron video-grabados para realizar un análisis posterior de la conducta.

Figura 8. Modelo de nado forzado en ratones



6.4.1.1. Protocolo de administración en la prueba de nado de forzado:

El protocolo de administración de ATACH y los diferentes fármacos se llevó a cabo de la siguiente forma:

Tabla 6. Protocolo de administración aguda del ATACH y antidepresivos.

ENTRENAMIENTO (15 minutos)	Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Latencia de Adm.
	IMI	12.5	30 minutos
		25.0	
		32.0	
		50.0	
	CLI	12.5	30 minutos
		25.0	
		32.0	
		50.0	
	FLX	20.0	60 minutos
		40.0	
	ATACH	5.0	60 minutos
10.0			
20.0			

Tabla 7. Protocolo de administración múltiple y coadministración ATACH

ENTRENAMIENTO (15 minutos)	Tratamiento (mg/kg)	Latencia de Adm. (horas)		
		1 Adm.	2 Adm.	3 Adm.
	ATACH+IMI	1 Adm.	2 Adm.	3 Adm.
	5.0 + 12.5	---	1	0.5
	10.0 + 12.5	---	1	0.5
	ATACH+CLI	1 Adm.	2 Adm.	3 Adm.
	5.0 + 12.5	---	1	0.5
	5.0 + 25.0	---	1	0.5
	10.0 + 12.5	---	1	0.5
	10.0 + 25.0	---	1	0.5
	FLX+ATACH	1 Adm.	2 Adm.	3 Adm.
	20.0 + 20.0 + 10.0	24	6	1
	ATACH	1 Adm.	2 Adm.	3 Adm.
	5.0	24	6	1
	10.0	24	6	1
	20.0	24	6	1
	FLX	1 Adm.	2 Adm.	3 Adm.
	20	24	6	1
	40	24	6	1

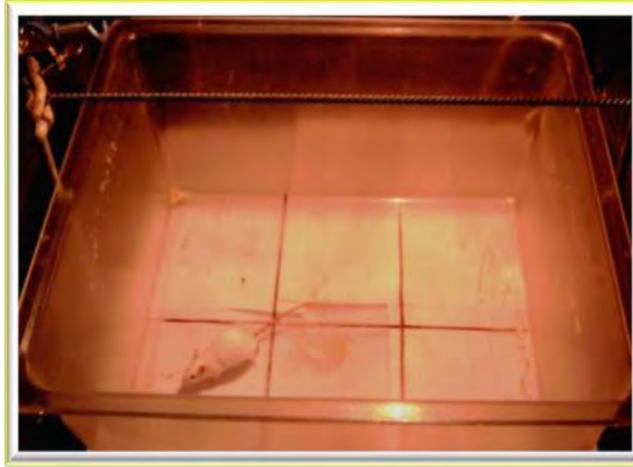
En cada prueba, se utilizó un grupo como control, este grupo recibió el mismo esquema de tratamiento que los grupos experimentales, pero en lugar del fármaco o extracto se administró solo con el vehículo.

Tanto el esquema de tratamiento y la latencia de administración de los antidepressivos utilizados, se determinó tomando en consideración su mecanismo de acción. Se ha descrito imipramina ejerce un efecto con una administración aguda, mientras que, fluoxetina requiere de dos o tres dosis antes de la prueba para presentar su efecto, esto debido posiblemente a una serie de cambios o adaptaciones en los receptores en el cerebro^{16, 55-63}.

Después de la prueba de nado forzado, se evaluó inmediatamente la actividad locomotriz de los animales en el modelo de campo abierto para eliminar efectos inespecíficos.

6.4.2. Modelo de campo abierto: En este se evalúa la actividad ambulatoria, este consiste en una caja de acrílico 53 x 43 cm y 21 cm de altura, está dividida en 6 cuadrantes iguales. Al inicio de la prueba, el animal es colocado en el centro de la caja y se registra el número de transiciones que realiza de un cuadrante a otro (figura 9).

Figura 9. Modelo de campo abierto



6.4.3. Modelo de tablero con perforaciones: el aparato consiste en una caja de plexiglás de 60 x 60 cm, con paredes de 10 cm de alto (sin superficies reflejantes), cuyo piso posee 4 perforaciones equidistantes, de 2 cm de diámetro. Al inicio de la prueba el ratón se coloca en el centro del aparato y se observa cuidadosamente durante 5 minutos, se registra la conducta exploratoria del animal, como; el número de veces que introduce la cabeza en cualquiera de las perforaciones (NA), el tiempo total de exploración, como; el tiempo total en que el ratón mantiene la cabeza dentro de alguna de las perforaciones (TA) y el número de veces que se para en sus patas posteriores (NP). La disminución de estas variables con respecto al control, es considerada como un efecto sedante, un aumento en estas variables sin modificar la actividad locomotriz es considerado como un efecto ansiolítico, mientras que una disminución de las mismas, acompañado de un aumento en la actividad locomotriz puede ser considerado como un efecto ansiogénico.

La prueba se realizó una hora después de la administración de una dosis de 0.0, 5.0, 10.0 o 20.0 mg/kg ATACH ó 30 min después de la administración de diazepam (Dz; grupo control positivo), Después de cada prueba la caja se limpió cuidadosamente con una

solución limpiadora especial, para eliminar rastros que pudieran afectar el comportamiento del siguiente animal en prueba.

Figura 10. Modelo de tablero con perforaciones.



6.4.4. Análisis Estadístico: los experimentos de nado forzado, se realizaron con poblaciones de 15 a 16 ratones, se expresaron como el valor promedio \pm el error estándar medio, mientras que en las evaluaciones en campo abierto y hole-board se utilizaron poblaciones de 8 a 10 animales.

Para el análisis de los resultados obtenidos se realizó la comparación estadística entre los grupos control y los grupos experimentales, mediante un análisis de varianza de una sola vía de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba pareada de Mann-Whitney. (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ y *** $P < 0.001$). Todos los análisis estadísticos y gráficos se realizaron en el programa Sigmaplot 2.0 y Sigmaplot 2.0 respectivamente.

7. DISCUSIÓN Y RESULTADOS.

La depresión es una enfermedad que afecta alrededor del 13-20% de la población, en general (Licino y Wong, 1999), éste es un trastorno psiquiátrico complejo; lo cual, hace difícil la investigación en humanos, de manera que los modelos animales de depresión son una herramienta valiosa para la investigación de moléculas bioactivas de interés⁶⁴. Uno de los modelos de depresión más empleado, es tal vez, el modelo de nado forzado (MNF), en el cual una reducción de la conducta de inmovilidad es considerada como un efecto antidepressivo: A pesar de su amplio uso, este modelo es sensible a las condiciones particulares de evaluación y a la cepa de ratones empleada, por lo que previo a la evaluación del extracto de ATACH, se establecieron las condiciones de administración y dosis, utilizando para este propósito fármacos antidepressivos empleados en la clínica, los cuales dieron validez y sirvieron como referencia positiva de los tratamientos experimentales.

La administración aguda de los antidepressivos imipramina (IMI) y cloimipramina (CLI), reduce significativamente la conducta de inmovilidad de forma dependiente de la dosis ($H = 43.966$, $gl = 4$, $P \leq 0.001$ y $H = 30.662$, $gl = 4$, $P \leq 0.001$ respectivamente), como se representa en las figuras 11 y 12; mientras que la administración aguda de fluoxetina, inhibidor selectivo de la recaptura de la serotonina, no redujo la conducta de inmovilidad a ninguna de las dosis probadas, observándose un aumento en la inmovilidad a la dosis de 40 mg/kg de peso, lo anterior está de acuerdo con lo descrito para fármacos antidepressivos ISRS; los cuales requieren periodos de 2 a 3 semanas para presentar su efecto, se ha sugerido que esto es debido a un proceso de adaptación de los receptores de serotonina en el cerebro. Debido a esto se decidió llevar a cabo la administración repetida

de fluoxetina, los resultados de este experimento mostraron que FLX produjo una reducción estadísticamente significativa de la conducta de inmovilidad ($H = 23.734$, $gl = 2$, $P \leq 0.001$), a dosis de 20 y 40 mg/kg. Comprobando de esta forma el efecto antidepresivo de FLX.

Los resultados anteriores permitieron validar el modelo de nado forzado, para las condiciones particulares del laboratorio y ponen en evidencia la utilidad predictiva del este modelo, para la evaluación de sustancias con potencial actividad antidepresiva.

Figura 11. Validación del modelo de nado forzado.

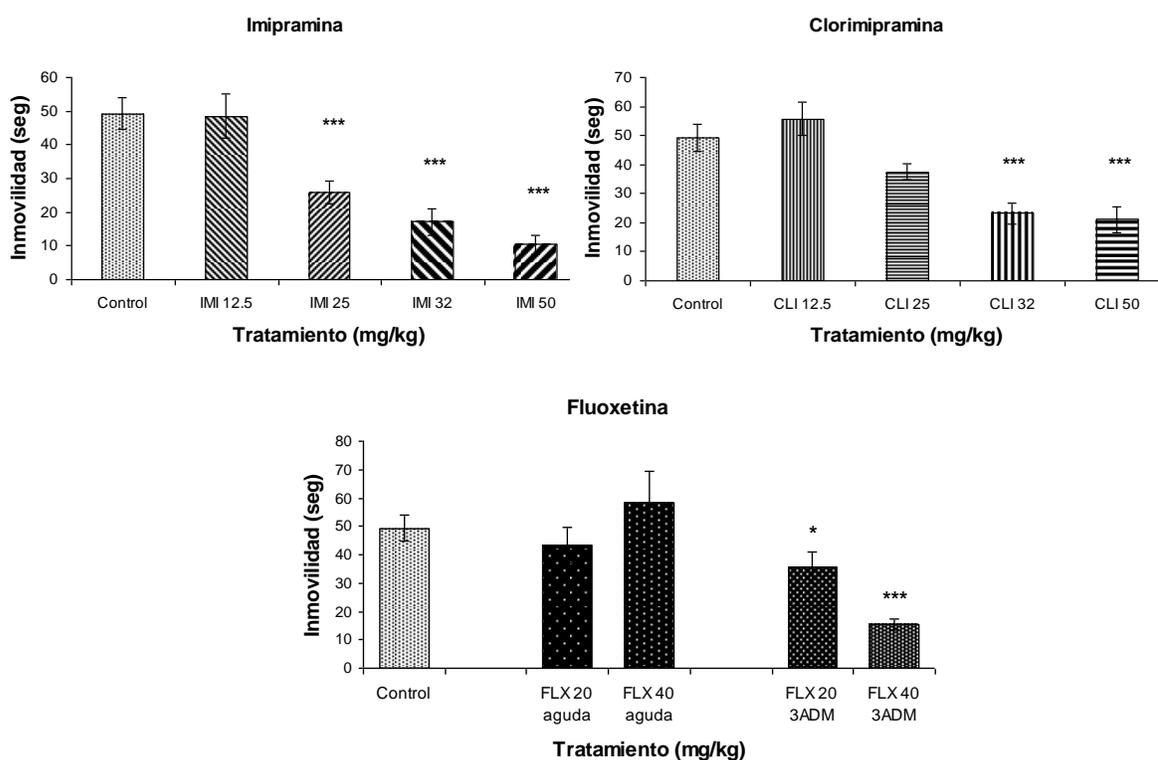


Figura 11. Los resultados se expresan como la media \pm EEM del tiempo de inmovilidad a los tres minutos en la prueba de nado forzado. En las abscisa se indica el tratamiento individual de cada uno de los antidepresivos empleados, IMI, CLI y FLX. * $P < 0.05$ y *** $P < 0.001$ significativamente diferente del control.

Figura 12. Curso temporal modelo de nado forzado.

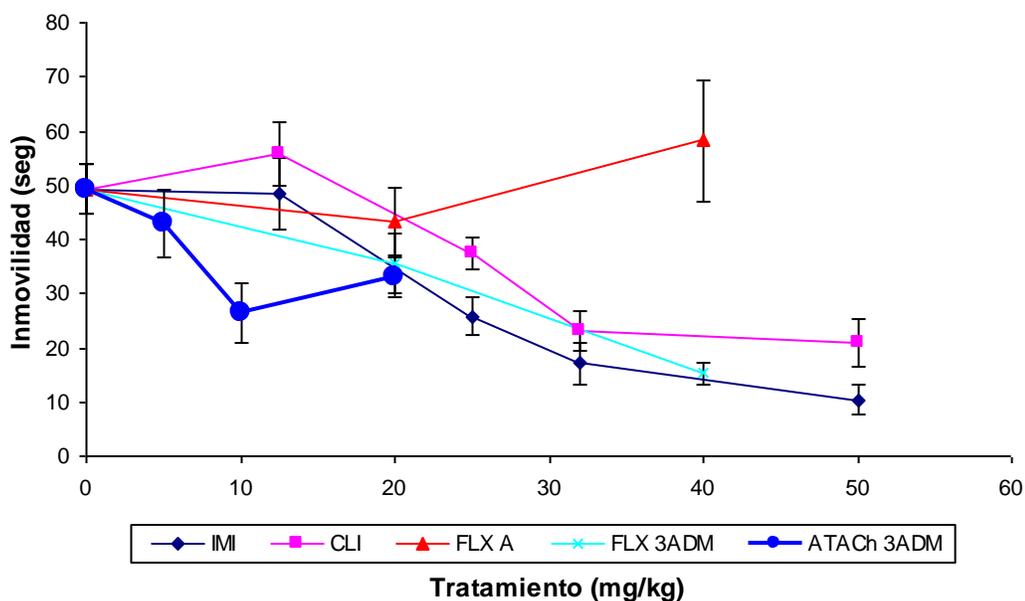


Figura 12. Los resultados se expresan como la media \pm el error estándar medio, en la prueba de nado forzado. En las abscisas se indica la dosis, de cada tratamiento. IMI, CLI, FLX A (fluoxetina dosis aguda), FLX 3ADM (fluoxetina triple administración) y ATCh (alcaloides totales de *A. cherimolia* triple administración).

Una vez, establecidas las condiciones adecuadas del modelo se determinó la actividad antidepresiva del extracto de alcaloides de *A. cherimolia* (ATCh). Como se representa en la figura 13, la administración aguda ATCh, a las dosis de 5, 10 y 20 mg/kg, no produjo cambios significativos en la conducta de inmovilidad con respecto al control, observándose únicamente una reducción en la conducta de inmovilidad a la dosis de 10 mg/kg de peso ($H = 5.879$, $gl = 3$, $P = 0.118$), lo cual fue un indicativo de un posible efecto antidepresivo; por lo cual, se prosiguió a realizar una administración repetida.

Figura 13. Resultados del ATACH en la prueba de nado forzado

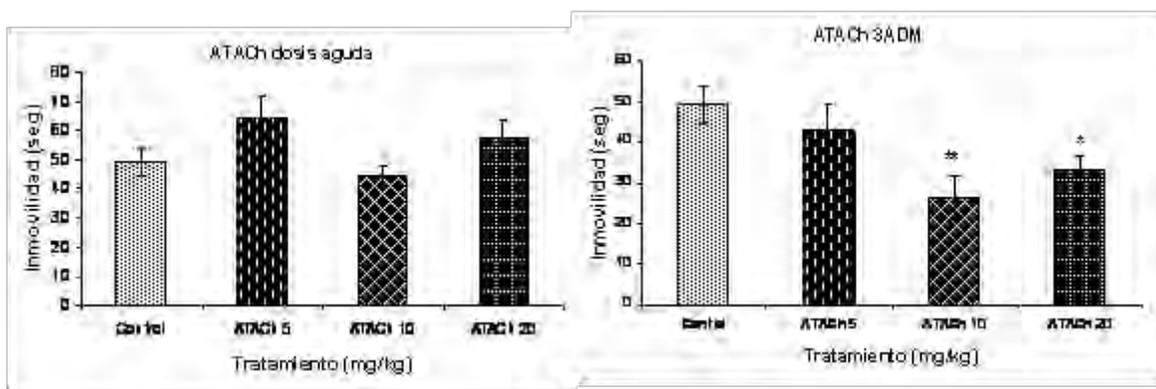


Figura 13. Los resultados se expresan como la media \pm el EEM del tiempo de inmovilidad en segundos a los tres primeros minutos de la prueba de nado forzado. En las abscisas se indica el tratamiento individual de ATACH en los dos esquemas de administración. * $P < 0.05$ y ** $P < 0.01$ significativamente diferentes del control.

Los resultados de la triple administración ó administración repetida (3ADM) de ATACH, se representan en la fig. 13, donde se observa una reducción significativa en el tiempo de inmovilidad con respecto al control, a la dosis de 10mg/kg y 20mg/kg ($H = 9.717$, $gl = 3$, $P = 0.021$) y una disminución no significativa a la dosis de 5mg/kg. Lo cual indica que ATACH ejerce un efecto antidepresivo.

Con la finalidad de descartar efectos inespecíficos de ATACH, inmediatamente después de la prueba de nado forzado se evaluó la actividad locomotriz de los sujetos experimentales en el modelo de campo abierto. Como se representa en la figura 14 ATACH no modificó la actividad ambulatoria de los animales ($H = 3.453$, $gl = 3$, $P = 0.327$), estos resultados confirman que el ATACH, ejerce su efecto antidepresivo en ratones sin alterar la actividad locomotriz.

Figura 14. Actividad locomotriz

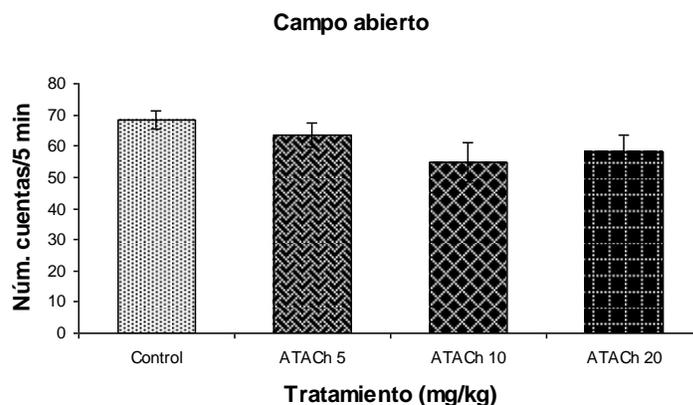


Figura 14. Los resultados se expresan como la media \pm EEM de las transiciones realizadas en 5 minutos de la prueba de campo abierto. En las abscisas se muestran las dosis individuales de ATACH.

Adicionalmente, se evaluaron los efectos de ATACH, en el modelo de ansiedad y/o sedación (Hole-board), ya que se ha descrito en la literatura que la mayoría de los fármacos antidepresivos producen estados de ansiedad o sedación. Los resultados muestran que ATACH no produce estados de ansiedad, ni sedación, a ninguna de las dosis probadas como se representa en la figura 15. El extracto de ATACH no produjo cambios estadísticamente significativos en todas las variables evaluadas en comparación con el grupo control, y el grupo empleado como control positivo (Dz; 4 mg/kg).

Figura 15. Modelo de Hole-board

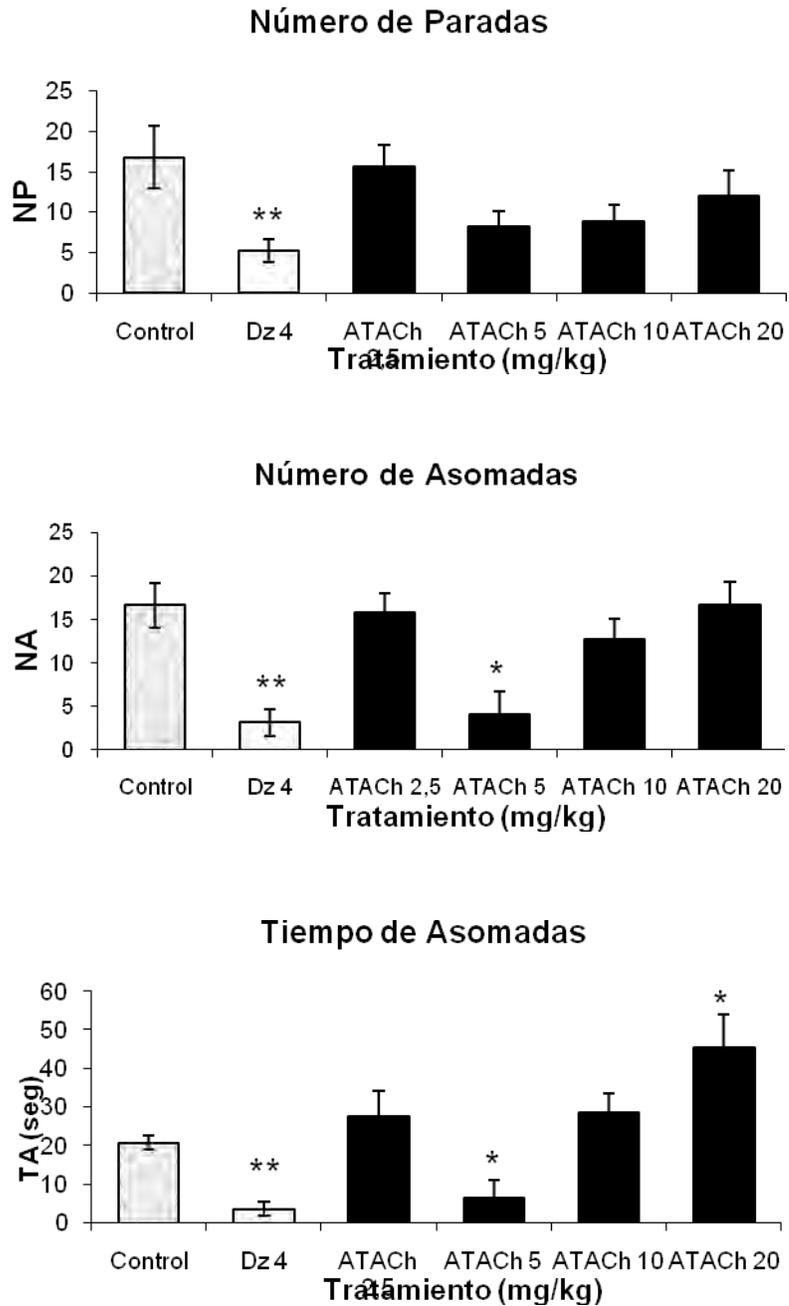


Figura 15. Los resultados están expresados como la media \pm EEM de los efectos medidos en las pruebas de “hole-board”. En las abscisas se indican las dosis individuales de ATACH así como la de diazepam. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significativamente diferente del vehículo.

Los resultados obtenidos en todos los paradigmas, en su conjunto muestran que el ATACH ejerce un efecto antidepresivo, sin producir efectos colaterales como ansiedad, sedación ó alteraciones en la actividad locomotriz.

Con el fin de determinar un posible efecto de sinergismo de ATACH y antidepresivos utilizados en la clínica, se realizaron experimentos de coadministración con dosis subóptimas de ATACH en combinación con dosis no efectivas de IMI y CLI. Como se representa en la tabla 8, la administración de 5 y 10 mg/kg de ATACH en combinación con 12.5 mg/kg de IMI produjo un decremento de aproximadamente 15% ($p = 0.386$) y 60% ($p \leq 0.001$) en la conducta de inmovilidad, respectivamente ($H = 18.266$, $gl = 2$., $P \leq 0.001$). Mientras que la coadministración de las mismas dosis de ATACH en combinación con 25.0 mg/kg CLI, produjo una reducción conducta de inmovilidad de aproximadamente 30 % ($p= 0.031$) y 50 % ($p= 0.001$) respectivamente ($H = 15.831$, $gl = 4$, $p=0.003$).

Por último, es importante resaltar que la coadministración de ATACH y FLX no produjo ningún efecto sobre el tiempo de inmovilidad, lo cual indica que no hay un efecto de sinergismo entre FLX y ATACH.

Tabla 8. Resultados de la coadministración de ATACH con diferentes antidepresivos.

		Duración del tiempo de inmovilidad (%)		
Fármaco	Dosis (mg/kg)	Fármaco solo	+ ATACH 5 (mg/kg)	+ ATACH 10 (mg/kg)
Imipramina	0,0	100,00%		
	12,5	98,37% NS	85,69% NS	41,27% ***
Cloimipramina	0	100,00%		
	12,5	113,06% NS	101,79% NS	107,08% NS
	25,0	76,00% NS	70,33% *	53,23%***
Fluoxetina	0,0	100,00%		
	20,0	123,00% NS	-	137,23% NS

Resultados de la duración del tiempo de inmovilidad, expresado en porcentaje de respuesta. *P<0.05, ***P<0.001, NS =No Significativo.

Es interesante mencionar IMI ejerce un efecto sinérgico mayor con ATACH a una dosis 2 veces menor que CLI, la cual a pesar de reducir significativamente la conducta de inmovilidad en la coadministración con ATACH, no logra superar el efecto que ejerce la combinación de ATACH y IMI. Los datos sugieren que el efecto antidepresivo inmediato de CLI se debe a que inhibe, aunque en menor medida, la recaptura de NA, lo cual propone que el efecto ejercido por ATACH involucra preferentemente el sistema noradrenérgico. A pesar de no haber presentado actividad en el esquema de coadministración con FLX, no se puede descartar la participación del sistema serotoninérgico u otros involucrados en la depresión, ya que los diversos sistemas reguladores del cerebro el serotoninérgico, el dopaminérgico y el adrenérgico interactúan y se regulan entre sí. Los resultados obtenidos están acorde con los resultados descritos en ensayos *in vitro*, ya que en los mecanismos y

las rutas de las neuronas noradrérgicas se encuentra involucrada la dopamina, como un metabolito precursor de la síntesis de NA, además de que los receptores de ambas catecolaminas se encuentran íntimamente ligados, ya que es bien sabido que el tratamiento a largo plazo de imipramina produce una desensibilización de los receptores D₂, esto debido a su inespecificidad al igual que clorimipramina.

Por otro lado, diversos estudios *in vitro* han mostrado que algunos alcaloides de tipo aporfina y berberina interactúan con los sistemas de neurotransmisión serotoninérgicos, y dopaminérgicos, los cuales están implicados en los trastornos depresivos, por lo que resultan blancos terapéuticos de este tipo de trastornos, por ejemplo, anonaina, nornuciferina y asimolobina aislados de *Annona muricata*, *A. glabra* y *A. montana* se unen a receptores 5-HT_{1A}, además, anonaina, inhibe la recaptura de dopamina a pesar de tener baja afinidad por receptores D₁ y D₂.

A este respecto, el análisis químico, mediante HPLC-ESI-MS, de ATACH, mostró la presencia de los alcaloides aporfinicos, anonaina y liriodenina; como productos principales de este extracto activo. Sin duda, anonaina y liriodenina contribuyen a los efectos antidepresivos ejercidos por ATACH en ratones. Sin embargo, es necesario realizar la evaluación farmacológica de estos metabolitos secundarios para comprobar esto.

8. CONCLUSIONES

1. El extracto de alcaloides totales de *Annona cherimolia* ejerce un efecto antidepresivo en el modelo de nado forzado en ratón, sin producir efectos colaterales como ansiedad o sedación.

2. El extracto de alcaloides totales de *Annona cherimolia* presenta sinergismo con imipramina y cloimipramina, lo cual indica que el extracto, comparte con estos antidepresivos, las vías bioquímicas mediante las cuales ejercen su efecto.

3. El extracto de alcaloides de *A. cherimolia* no enriquece el efecto de fluoxetina, lo cual sugiere fuertemente que el mecanismo de acción de éste extracto es preferentemente a través de la inhibición de la recaptura de noradrenalina.

4. Es necesario realizar experimentos para determinar exactamente los mecanismos de acción que subyacen al efecto antidepresivo que posee el extracto de alcaloides totales de *A. cherimolia*.

5. El presente trabajo es una aportación al estudio de búsqueda de productos bioactivos a partir de fuentes naturales.

9. BIBLIOGRAFÍA.

1. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems ICD 10. World Health Organization. **1992**.
(<http://www.who.int/classifications/icd/en/>).
2. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. DSM-VI American Psychiatric Association. Ed Masson. S.A. Barcelona España **1998**, pp. 340-349.
3. Michael G. Gelder et al, Tratado de psiquiatría. **2004** Tomo 1 pp. 81
4. Organización Mundial de la Salud. Salud Mental: nuevos conocimientos, nuevas esperanzas. *Informe sobre la salud en el mundo*. **2001**.
(http://www.who.int/whr/2001/en/whr01_es.pdf).
5. Rojtenberg SL, Lista A, Suárez M. Depresión y antidepresivos. Argentina: *Editorial Panamericana*, **2001**: pp. 1-15.
6. Elhwuegi AS. Central monoamines and their role in mayor depression. *Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. **2004**; 28: 435-451.
7. Salin RJ. Bases Bioquímicas y Farmacológicas de la neuropsiquiatría. México: *McGraw-Hill Interamericana*, **1997**: pp. 95-124.
8. Goodale EP, Tucker VL. El papel de la norepinefrina y de la dopamina en la depresión. *Revista de Toxicomanías*. **2007**; 50: 19-22.
9. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. The biochemical basis of neuropharmacology, 6th ed. Oxford University Press 1991, pp. 233-251.
10. Meek JL, Neff NH. Tryptopan 5-hidroxilase: approximation of half-life and rate of axonal transport. *J Neurochem*. **1972**; 6: 1519-1525
11. Kandel ER, Shawarts JH, Jessell TM. Principios de Neurociencias. Madrid *McGraw-Hill/Interamericana*. **2001**: pp. 1200-1232.

-
12. Augustine GJ, Purues D. Invitación a las Neurociencias. *Editorial Panamericana*. **1997**: pp. 125-135.
 13. Marcus RN, Mcquade RD, Carson WH, *et al.* The efficacy and safety of aripiprazole as adjunctive therapy in major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol* **2008**; 28: 156-165.
 14. Stahl MS. *Essential Psychopharmacology*. United States of America: *Cambridge University Press*, **2000**: pp. 199-296.
 15. Lal H, Emmett-Iglesby MW. Animal models. *Neuropharmacology* **1983**; 22: 1423-1411.
 16. Borsini F, Meli A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology* **1988**; 94: 147-160.
 17. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* **1977**; 266: 730-732.
 18. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch int Pharmacodyn* **1977**; 229: 327-336.
 19. Cryan JF, Page ME, Lucki I. Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test. *Europ J Pharmacol* **2002**; 436: 197-205.
 20. Rodríguez JF, Contreras MC. Los fármacos antidepresivos y la conducta de inmovilidad en el modelo de nado- forzado: participación de los sistemas de neurotransmisión. *Arch Neurocién*. **2000**; 5: 74-83.
 21. Annonaceae, In *Flowering Plant Families*, UH Botany.
(<http://www.botany.hawaii.edu/Faculty/Carr/fpfamilies.htm>).
 22. Fries R. E. Contributions to the knowledge of Annonaceae in the northern South America *Ark. Bot.* 1949; 1(6): 329-347.

-
23. BIO 216: Vascular Plants Family Summaries. Superorden Magnoliane; In Dicot. Families I (<http://www.albion.edu/fac/boil/sakean/dicotsi.htm>).
24. Morton, J. Soncoya In: Fruits of Warm Climates. Miami, Florida. 1987, pp 80-83.
25. Morton, J. Cherimoya In: Fruits of Warm Climates. Miami Florida. 1987, pp 90-101.
26. Tortoriello J, Romero O. Plants used by Mexican traditional medicine with sedative properties: ethnobotanical approach. *Archives of Medical Research* **1992**; 23: 111-116.
27. Martínez M. Las plantas medicinales de México. Ediciones Botas. México 1990. 96-98.
28. Cortes D, Myint SH, Dupont B, Davoust D. Bioactive acetogenins from seeds of *Annona cherimolia*. *Phytochemistry* **1993**; 32: 1475-1482.
29. Craig D, Feras Q, Zhe-Ming G, McLaughlin L. Mono-THF ring annonaceous acetogenins from *Annona squamosa*. *Phytochemistry* **1998**; 47:803-809.
30. Liaw CC, Chang FR, Chen YY, Chiu HF, Wu MJ, Wu YC. New Annonaceous Acetogenins from *Rollinia mucosa*. *J. Nat. Prod.* **1999**; 62: 1613-1617.
31. Warmerdam E, Tranoy I, Renoux B, Gesson JP. Study of butyrolactones related to sub-type 3 Annonaceous acetogenins. Structure revision of Itrabin, Jetein, Laherradurin and Otivarin. *Tetrahedron Letters* **1998**; 39: 8077-8080.
32. González Esquinca AR. Las anonas medicinales de Chiapas: Alcaloides. *Revista de investigación de Ciencias y Artes de Chiapas. Universidad de Ciencias y Artes del Estado de Chiapas* **1996**; parte1: 1-9.
33. Oguntimein BO. The terpenoids of *Annona reticulata*. *Fitoterapia* **1987**; 58: 411-413.

-
34. Chag FR, Wei JL, Teng CM, Wu YC. Two New 7-dehydroaporphine Alkaloids and Antiplatelet Action Aporphines From the Leaves of *Annona purpurea*. *Phytochemistry*. **1998**, 49: 2015-2018.
35. You M, Wickramaratne DB, Silva GL, Chai H, Chagwedera TE. (-)-Roemerine, an Aporphine Alkaloid from *Annona senegalensis* that Reverses the Multidrug-resistance Phenotype with Cultured Cells. *Journal of Natural Products*. **1995**, 58: 598-604.
36. Paulo MQ, Barbosa-Filho JM, Lima EO, Maia RF, Kaplan MA. Antimicrobial Activity of Benzylisoquinoline Alkaloids from *Annona salzmanii*. *Ethnopharmacology*. **1992**, 36: 39-41.
37. Sonnet P, Jacobson M. Tumor Inhibitors. II Cytotoxic Alkaloids from *Annona purpurea*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **1971**, 60: 1254-1256.
38. Warthen D, Gooden EL, Jacobson M. Tumor Inhibitors. Liriodenine, a Cytotoxic alkaloids from *Annona grabla*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **1969**, 58: 637-638.
39. Wu YC, Chang, FR, Chao YC, Teng CM. Antiplatelet and vasorelaxing actions of aporphinoids from *Cassytha filiformis*. *Phytotherapy Research*. **1998**, 12: 539-541.
40. Chuliá S, Cavé DM, Cortés D, Noguera MA, D'Ocón MP. Relaxant activity of three aporphine alkaloids from *Annona cherimolia* on isolated aorta of rat. *J. Pharm. Pharmacol*. **1995**, 47: 647-650.
41. Chuliá S, Noguera MA; Ivorra MD, Cortés D, D'Ocón MP. Vasodilator effects of liriodenine and norushinsunine, two aporphine alkaloids isolated from *Annona cherimolia*, in rat aorta. *Pharmacology*. **1995**; 50: 380-387.

-
42. Martínez M, De la Cueva D, Estrada R, González M, Ramírez T, Heinze G. Bio-guided isolation of the cytotoxic corytenchine and isocoreximine from roots of *Annona cherimolia*. *Fitoterapia* **2005**; 76: 733-736.
43. Lopéz C, Piña B, Estrada R, Heinze G, Martínez M. Anxiolytic-like actions of the hexane extract from leaves of *Annona cherimolia* in two anxiety paradigms: Possible involvement of the GABA/benzodiazepine receptor complex. *Life Sciences* **2006**; 78: 730-737.
44. Hasrat JA, De Bruyne T, Vauquelin G, De Backer JP, Vlietinck AJ. Isoquinoline derivatives isolated from the fruit of *Annona muricata* as 5-HT_{1A} receptor agonists in rats: unexploited antidepressive (lead) products. *J Pharm Pharmacol* **1997**; 49: 1145-1149.
45. Hasrat JA, Pietes L, De Backer JP, Vauquelin G, Vlietinck AJ. Screening of medicinal plants from Suriname for 5-HT_{1A} ligands: Bioactive isoquinoline alkaloids from the fruit for *Annona muricata*. *Phytomedicine* **1997**; 4: 133-140.
46. Bermejo A, Protais P, Blázquez MA, Rao KS, Zafra-polo MC, Cortes D. Dopaminergic isoquinoline alkaloids from roots of *Xilopia papuana*. *Natural Product Letters* **1995**; 6: 57-62.
47. Cortes D, Figadere B, Saez J, Protais P. Displacement activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids at striatal ³H-SCH 23390 and ³H-raclopride binding sites. *Journal of Natural Products* **1992**; 55: 1281-1286.
48. Protais P, Arbaoui J, Bakkali EH. Effects of various isoquinoline alkaloids on in vitro ³H-Dopamine uptake by rat striatal synaptosomes. *Journal of Natural Products* **1995**; 58: 1475-1484.

-
49. Cabedo N, Protais P, Cassels BK, Cortes D. Synthesis and Dopamine receptor selectivity of the Benzyltetrahydroisoquinoline, (R)-(+)-nor-Roefractine. *Journal of Natural Products* **1998**; 61: 709-712.
50. Lee JJ, Jin MC, Kim KY, Ryu SY, Lim CS, Lee MK. Effects of anonaine on dopamine biosynthesis and L-dopa-induced Cytotoxicity in PC12 cells. *Molecules* **2008**; 13: 475-487
51. Dewick MP. Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. John Wiley & Sons. **1997**, pp 270-307.
52. Zenk MH, Juenger M. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*. **2007**; 68: 2757-2772.
53. Guinaudeau H, Leboeuf M, Cave A. Aporphine Alkaloids, *Lloydia*. **1975**; 38: 277-300.
54. Institute of Laboratory Animal Resources. Guide for the care and use of Laboratory animals. *National Academy Press* **1996**.
55. Chen Y, Kong LD, Xia X, Kung HF, Zhang L. Behavioral and biochemical studies of total furocomarins from seeds of *Psoralea corylifolia* in the forced swimming test in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. **2005**; 96: 451-459.
56. Yu ZF, Kong LD, Chen Y. Antidepressant activity of aqueous extracts of *Curcuma longa* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. **2002**; 83: 161-165.
57. Sun MK, Alkon DL. Open space swimming test to index antidepressant activity. *Journal of Neurosciences Methods*. **2003**; 126: 35-40.
58. Sánchez M, Bonkanka CX, Prado B, Rabanal RM. Antidepressant activity of some *Hypericum reflexum* L. fil. extracts in the forced swimming test in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. **2007**; 112: 115-121.

-
59. Harkin A, Kelly JP, McNamara M, Connors JT. Activity and onset action of reboxetine and effects of combination with sertraline in an animal model of depression. *European Journal of Pharmacology*. **1999**; 364: 123-132.
60. Bourin M, Colombel MC, Malinge M, Bradwejn J. Clonidine as a sensitizing agent in the force swimming test for revealing antidepressant activity. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*. **1991**; 16: 199-203.
61. Tizabi Y, Overstreet DH, Rezvani AH, Kling MA. Antidepressant effects of nicotine in an animal model of depression. *Psychopharmacology*. **1999**; 142: 193-199.
62. Takeda H, Tsuji M, Inazu M, Egashira T, Matsumiya T. Rosmarinic acid and caffeic acid produce antidepressive-like effect in the force swimming test in mice. *European Journal of Pharmacology*. **2002**; 449: 261-267.
63. Chen Y, Wang HD, Xia X, Kung HF, Kong LD. Behavioral and biochemical studies of total of furocoumarins from seeds of *Psoralea corylifolia* in the chronic mild stress model of depression in mice. *Phytomedicine*. **2007**; 14: 523-529.
64. Licino J, Wong M-L. The role of inflammatory mediator in the biology of major depression: central nervous system cytokines modulate the biological substrate of depressive symptoms, regulate stress-responsive system, and contribute to neurotoxicity and neuroprotection. *Molecular Psychiatry*. **1999**; 4: 317-327.