UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DEL EXTRACTO METANÓLICO DE SEMILLAS DE *Erythrina americana* Mill. (COLORÍN)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A

JOSUÉ DANIEL BÁRCENAS CORREA

DIRECTORA DE TESIS

DRA. MARÍA EUGENIA GARÍN AGUILAR

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MÉXICO, 2024

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	M. en C. David Segura Cobos
VOCAL	M. en C. Patricia Jácquez Ríos
SECRETARIO	Dra. María Eugenia Garín Aguilar
SUPLENTE	Dr. Gustavo Valencia del Toro
SUPLENTE	Dra. Elizabeth Alejandrina Guzmán Hernández

Este trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Farmacobiología (L-514) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, bajo la dirección de la Dra. María Eugenia Garín Aguilar.

El estudio contó con el apoyo del Laboratorio de Cultivos Celulares de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI), del Instituto Politécnico Nacional, cuyo responsable es el Dr. Gustavo Valencia de Toro. La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) del extracto metanólico de semillas desengrasadas de *E. americana*, se realizó en el Laboratorio de Fitoquímica del Programa de Botánica del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, con el apoyo del Dr. Ramón Marcos Soto Hernández y el M. en C. Rubén San Miguel Chávez.

El proyecto recibió el apoyo financiero de la Unidad de Morfología y Función de la FES-Iztacala.

A G R A D E C I M I E N T O S A C A D É M I C O S

Al pueblo de México que, mediante sus aportaciones, ha financiado mi estancia en la Universidad Nacional Autónoma de México lo que me permitió formarme como profesionista y transformarme como persona. Me hubiera gustado poder aportar aún más; pido disculpas por lo que no pude lograr. Les agradezco de corazón por todo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de formar parte de la institución educativa más grande del mundo y la más importante de nuestro país. **A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala**, por cobijarme, fungir como mi segundo hogar por muchos años y permitirme conocer personas muy valiosas.

A la Dra. María Eugenia Garín Aguilar y al Dr. Gustavo Valencia del Toro, por su confianza, paciencia, sus invaluables enseñanzas y por convertirse en grandes guías durante todo este tiempo.

A la Dra. Elizabeth Alejandrina Guzmán Hernández, al Mtro. David Segura Cobos y a la Mtra. Patricia Jácquez Ríos, por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis. Todas sus aportaciones han hecho de este escrito un trabajo de calidad, gracias.

Al Dr. Ramón Marcos Soto Hernández y al M. en C. Rubén San Miguel Chávez, por brindarme el apoyo, tiempo y espacio para trabajar en el Laboratorio de Fitoquímica del COLPOS.

A G R A D E C I M I E N T O S P E R S O N A L E S

A mis padres, por su apoyo, amor y sacrificio a lo largo de mi formación académica. Sin ustedes, este logro no habría sido posible. Les agradezco por todo lo que han hecho por mí. Los amo y aprecio infinitamente.

A mi familia, hermanos, abuelos, tíos, primos, sobrinos, porque cada uno de ustedes contribuyó de manera única para obtener este logro. Los amo profundamente y valoro cada momento que compartimos juntos.

A mis amigos de la licenciatura en Biología, especialmente a Caro, Alfonso, Samuel, Lalo, Andy, Ari, Itzel, Larissa, Andrea, Leslie, Melanie, Tere, Vero y Alicia la estancia sin ustedes no hubiera sido lo mismo.

A mis grandes amigos Leo y **Gustavo** por su cariño incondicional, su ánimo constante y su apoyo durante todo este tiempo. Su compañía hizo que este proceso fuera más llevadero y enriquecedor. A Víctor, José Alberto, Daniel, Adolfo y Diego, por su amistad y apoyo.

A **Israel**, por tu cariño, apoyo y comprensión incondicional durante todo este proceso. Tu compañía ha sido fundamental para mi bienestar y éxito.

A mis amigos del CCH Azcapotzalco: Lilí, Jessy, Karlita, Jenny, Karen, Dafne, Daniel, Ana, Dianita, Melissa y Daniela. Gracias por los bonitos momentos que hemos pasado juntos.

A mis amigos de la licenciatura en Bioquímica Diagnóstica, Ale, Josué G., Paty, Ana, Gaby, Larissa, Marisela, Dominik, Eduardo, Monserrat, Diana, Memo, Josué Y., Zaira, Roberto, Fabiola y los que me faltaron.

A mis amigos y compañeros de Laboratorio de Farmacobiología L-514: Larissa, Itzel, Ari, Yarumi, Héctor, Sandra, Dany, Tere, Andy, Augusto, Caro, Fany, Abraham, Diego, Evelyn, Eréndira, Naomi, Aurora, Ángeles, Melissa y Ely. Siempre es un placer trabajar con personas tan dedicadas y responsables como ustedes, espero que nuestros caminos se crucen otra vez. Gracias por hacer de mi estancia en el laboratorio una de las mejores experiencias en mi vida. Los quiero mucho.

A mis nuevos amigos y compañeros de la Escuela de Código: Aylín, Pedro, Aldo, Arely, Carlos, Abelardo, Mariana, Diana y los que me faltaron.

A mi perrita Chochito, por su alegría y amor inquebrantable. Gracias por ser mi fiel compañera durante cada noche de desvelo.

A los sujetos experimentales que hicieron posible esta investigación

Dedicada a

Sixto Correa Fabela

Í N D I C E

ÍNDICE DE FIGURAS viii
ÍNDICE DE CUADROS ix
ABREVIATURAS x
RESUMEN xi
I. INTRODUCCIÓN 1
II. MARCO TEÓRICO 4
II.1 ANSIEDAD 4
II.1.1. Epidemiología 4
II.1.2. Neuroquímica de la ansiedad 7
II.1.2.1. Estructuras cerebrales 7
II.1.2.2. Sistemas de neurotransmisión 9
II.1.2.2.1 Acetilcolina 9
II.1.2.2.2. Ácido glutámico 10
II.1.2.2.3. Dopamina 10
II.1.2.2.4. Noradrenalina 11
II.1.2.2.5. Serotonina 12
II.1.2.1.6 Colecistoquinina 12
II.1.2.2.7. Ácido gamma-aminobutírico 13
II.1.3. Modelos animales en el estudio de la ansiedad 13
II.1.3.1. Laberinto en Cruz elevado (Elevated Plus Maze Test) 16
II.1.4. Tratamientos para la ansiedad 17
II.1.4.1. Psicoterapia 17
II.1.4.2. Farmacoterapia 18
II.1.4.2.1. Antidepresivos 18
II.1.4.2.1.1. Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina 19
II.1.4.2.1.2. Inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina 19
II.1.4.2.1.3. Inhibidores de la monoaminooxidasa 19
II.1.4.2.2. Azapironas 20
II.1.4.2.3. β-Bloqueadores 21
II.1.4.2.4. Benzodiazepinas 21
II.1.4.3. Búsqueda de nuevos tratamientos para los trastornos de ansiedad 22
II.1.4.3.1. Plantas medicinales usadas en el tratamiento de la ansiedad 22
III. ANTECEDENTES 24
III.1. Antecedentes experimentales con el género *Erythrina* 24
III.2. Antecedentes experimentales con la especie *Erythrina americana* 31
IV. JUSTIFICACIÓN 33
V. PREGUNTA CIENTÍFICA 33
VI. HIPÓTESIS 33
VII. OBJETIVOS 34
VII.1. Objetivo general 34
VII.2. Objetivos particulares 34
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS 35
VIII.1. Material vegetal 35

VIII.1.1. Extracción 35
VIII.1.2. Ensayo Fitoquímico 35
VIII.1.2.1. Detección cualitativa de metabolitos secundarios 35
VIII.1.2.2. Cromatografía líquida de alta resolución (High Performance Liquid Chromatography) 36
VIII.1.2.2.1. Preparación de la muestra 36
VIII.1.2.2.2. Ácidos fenólicos 36
VIII.1.2.2.3. Flavonoides 37
VIII.1.2.2.4. Terpenoides 37
VIII.1.2.2.5. Alcaloides 37
VIII.1.2.3. Determinación de la capacidad antioxidante 38
VIII.5. Evaluación farmacológica 39
VIII.5.1. Sujetos de estudio 39
VIII.5.2. Toxicidad aguda (LD_{50}) 39
VIII.5.3. Laberinto en Cruz Elevado (Elevated Plus Maze Test) 41
VIII.5.3.1. Descripción del aparato 41
VIII.5.3.2. Procedimiento 42
VIII.5.4. Campo abierto (Open Field Test) 44
VIII.5.4.1. Descripción del aparato 44
VIII.5.4.2. Procedimiento 45
VIII.5.5. Análisis estadístico 45
IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 46
IX.1. Material vegetal 46
IX.1.1. Datos de herbario de la planta *E. americana* 46
IX.1.2. Rendimiento de los extractos 47
IX.1.3. Detección cualitativa de metabolitos secundarios 48
IX.1.4. Cromatografía líquida de alta resolución 50
IX.1.4.1. Ácidos fenólicos 50
IX.1.4.2. Flavonoides 54
IX.1.4.3. Terpenoides 57
IX.1.4.4. Alcaloides 60
IX.1.5. Capacidad antioxidante 63
IX.1.6. Toxicidad aguda 66
IX.1.7. Laberinto en Cruz Elevado (EPMT) 69
IX.1.8. Campo Abierto (OFT) 73
X. CONCLUSIONES 77
XI. PERSPECTIVAS 77
XII. GLOSARIO 78
XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Regiones cerebrales implicadas en la modulación de la ansiedad. (Modificado de Craske *et al*., 2017)	8
Figura 2	Esquema del aparato usado en el Test Laberinto en Cruz Elevado (Elevated Plus Maze) (Modificado de Nelson, 2002)	41
Figura 3	Esquema del aparato usado en el Test de Campo Abierto (Open Field) (Elaborado por Bárcenas-Correa)	44
Figura 4	Ejemplar de *Erythrina americana* Mill. depositado en el Herbario IZTA	46
Figura 5	Cromatograma de HPLC de Ácidos Fenólicos realizado a ExtoMeOH	53
Figura 6	Cromatograma de HPLC de Flavonoides realizado a ExtoMeOH	56
Figura 7	Cromatograma de HPLC de Terpenoides realizado a ExtoMeOH	59
Figura 8	Cromatograma de HPLC de Alcaloides realizado a la Fracción de Alcaloides libres por Hidrólisis de ExtoMeOH	60
Figura 9	Cromatograma de HPLC de Alcaloides realizado a la Fracción de Alcaloides Libres en Metanol de ExtoMeOH	61
Figura 10	Capacidad antioxidante del Extracto metanólico de Semillas de *E. americana*	63
Figura 11	Media ±ESM del porcentaje de Entradas a los Brazos Abiertos sobre el comportamiento de los sujetos (n=9) durante la prueba de Laberinto en Cruz Elevado. Letras iguales indican la ausencia de diferencias significativas entre los grupos después de la prueba post hoc de Duncan ($p< 0.05$)	69
Figura 12	Media ±ESM del porcentaje de Tiempo de Permanencia en los Brazos Abiertos sobre el comportamiento de los sujetos (n=9) durante la prueba de Laberinto en Cruz Elevado. Letras iguales indican la ausencia de diferencias significativas entre los grupos después de la prueba post hoc de Duncan ($p< 0.05$)	70
Figura 13	Media ±ESM del total de cruces de los grupos (INT, VEH, DZP y ExtoMeOH) sobre el comportamiento de los sujetos durante la prueba de Campo Abierto. Letras iguales indican la ausencia de diferencias significativas entre los grupos después de la prueba post hoc de Duncan ($p< 0.05$)	74
Figura 14	Media ±ES M del total de levantamientos sobre el comportamiento de los sujetos (n=9) durante la prueba de Campo Abierto. Letras iguales indican la ausencia de diferencias significativas entre los grupos después de la prueba post hoc de Duncan ($p< 0.05$)	75

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Resumen de los principales criterios de diagnóstico para Trastornos de Ansiedad (TA) de acuerdo con el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales (DSM-5)	5
Cuadro 2	Principales modelos utilizados en el estudio de la ansiedad	14
Cuadro 3	Volúmenes contenidos en tubos problema para prueba de capacidad antioxidante	38
Cuadro 4	Etapas del método de Lorke (1983); dosis administradas y número de muertes vs número total de sujetos por dosis	40
Cuadro 5	Datos de herbario de *Erythrina americana*	46
Cuadro 6	Rendimiento de los extractos obtenidos de *E. americana*	47
Cuadro 7	Resultados del análisis preliminar fitoquímico del extracto metanólico de las semillas de *Erythrina americana*	49
Cuadro 8	Análisis cuantitativo de los ácidos fenólicos presentes en ExtoMeOH	50
Cuadro 9	Análisis cuantitativo de los flavonoides presentes en ExtoMeOH	54
Cuadro 10	Análisis cuantitativo de los Terpenoides presentes en ExtoMeOH	57
Cuadro 11	Análisis cuantitativo de los Alcaloides presentes en FALH	60
Cuadro 12	Análisis cuantitativo de los Alcaloides presentes en FALM	61
Cuadro 13	Primera etapa de la prueba. Administración de las 3 dosis en función del peso	66
Cuadro 14	Primera etapa del test: registro de mortalidad	67
Cuadro 15	Segunda etapa del test: registro de mortalidad 24 h después de la administración de tratamientos	68

A B R E V I A T U R A S

5-HT	Serotonina
ACh	Acetilcolina
APA	American Psychiatric Association
BZD	Benzodiazepinas
CCK	Colecistoquinina
DA	Dopamina
DPPH	2,2-Difenil-1-Picrilhidracil
DZP	Diazepam
EBA	Entrada Brazo Abierto
EBC	Entrada Brazo Cerrado
EPM	Elevate Plus Maze
ExtoMeOH	Extracto metanólico de semillas desengrasadas de *Erythrina americana*
FALH	Fracción de Alcaloides Liberados por Hidrólisis ácida
FALM	Fracción de Alcaloides Libres en Metanol
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
ICR	Institute of Cancer Research
IMAO	Inhibidores de la monoaminooxidasa
INT	Intacto
ISRS	Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
LD_{50}	Dosis Letal Media
MAO	Monoaminooxidasa
NA	Noradrenalina
OFT	Open Field Test
PBA	Permanencia Brazo Abierto
PBC	Permanencia Brazo Cerrado
VEH	Vehículo
WHO	World Health Organization

RESUMEN

Erytrhina americana Mill. es una especie endémica mexicana utilizada en la medicina tradicional por sus efectos tranquilizantes. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto ansiolítico del extracto metanólico de semillas desengrasadas de *E. americana* (ExtoMeOH). El extracto metanólico de las semillas previamente desengrasadas, se obtuvo por extracción con metanol en Soxhlet. Posteriormente, se realizó el análisis preliminar fitoquímico (APFQ) y una cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la identificación de ácidos fenólicos, flavonoides, terpenoides y alcaloides. Además, se determinó la capacidad antioxidante (IC_{50}) del ExtoMeOH con el método del radical libre 2,2-Difenil-1-Picrilhidracilo (DPPH). En todas las pruebas farmacológicas se emplearon ratones macho ICR (CD-1). La toxicidad aguda del ExtoMeOH (10-5000 mg/kg) se estimó siguiendo el método descrito por Lorke. El efecto ansiolítico se evaluó usando el modelo de Laberinto en Cruz Elevado. Los animales se distribuyeron al azar en grupos independientes (n=9) para recibir ExtoMeOH (10, 20, 40, 60 ó 80 mg/kg i.g.), el fármaco ansiolítico Diazepam (1 mg/kg i.p.), vehículo (NaCl 0.9 % i.g.) y se incluyó un grupo sin tratamiento (INT). Para descartar el posible deterioro motor ocasionado por los tratamientos, se evaluó la actividad motora de los sujetos en el modelo de Campo Abierto. El APFQ detectó la presencia de alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, quinonas, azúcares reductores y glucósidos cardiacos y el HPLC identificó ácidos fenólicos: gálico, clorogénico, vainillínico, p-hidroxibenzoico, cafeico y p-cumárico; flavonoides: apigenina, floretina, florizidina, miricetina y naringenina; terpenoides: ácido ursólico, carnosol, estigmasterol, α-amirina y β-sitosterol; y alcaloides: erisodina, β-eritroidina, erisopina y erisovina. En el ensayo de capacidad antioxidante, la concentración inhibitoria media (IC_{50}) del ExtoMeOH fue de 3.405 mg/mL. El ExtoMeOH no resultó tóxico aun en dosis de 5 000 mg/kg. Las dosis de 40 y 60 mg/kg del ExtoMeOH tuvieron efecto ansiolítico semejante al Diazepam sin deteriorar la actividad motora horizontal de los animales. El efecto ansiolítico observado, puede estar mediado por la interacción química de los componentes identificados en el ExtoMeOH. Este estudio evidenció el potencial de *Erythrina americana* como fuente de agentes ansiolíticos y proporciona un soporte científico del uso empírico de esta planta como tratamiento efectivo en padecimientos relacionados con la ansiedad. Este es el primer reporte de actividad ansiolítica con *E. americana*.

I. INTRODUCCIÓN

Los padecimientos relacionados con desórdenes neuropsiquiátricos (trastornos mentales y neurológicos) han sido identificados como un problema de salud pública; estos se encuentran entre las primeras causas de morbilidad a nivel mundial (Murray *et al*., 2013). Un trastorno mental se describe como una alteración clínicamente significativa del estado cognitivo, la regulación emocional o el comportamiento del individuo que refleja una disfunción de los procesos psicológicos, biológicos o del desarrollo que subyacen en su función mental; habitualmente van asociados a un estrés significativo o a discapacidad, ya sea social, laboral o de otras actividades importantes (American Psychiatric Association, 2014).

En México, la ansiedad y la depresión son las formas de psicopatología más frecuentes (Virgen *et al*., 2005). Los trastornos de ansiedad son todos aquellos que comparten características de miedo y ansiedad excesivos, así como alteraciones conductuales asociadas. Se diferencian entre sí según el tipo de objeto o situaciones que inducen el miedo, la ansiedad o las conductas evitativas, y según la cognición asociada (American Psychiatric Association, *op.cit*.). La ansiedad se ha definido como la tensa e inquieta anticipación de un evento impreciso pero amenazante, la sensación de suspenso incómodo (Rachman, 2004); un estado de ánimo orientado hacia el futuro en el que se dispone a hacer frente a situaciones potencialmente aversivas (Barlow, 2002).

Actualmente, son reconocidas dos grandes líneas de tratamiento en padecimientos relacionados con la ansiedad: la psicoterapia y la farmacoterapia. Esta última se basa en el uso de antridepresivos (inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, ISRS; inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina, ISRSN; inhibidores de la monoaminooxidasa, IMAO), azapironas, β-bloqueadores y benzodiacepinas. No obstante, su administración conlleva efectos antagónicos, generalmente, del tipo patológico (nocivo, tóxico, farmacológico, etc.) (Farach *et al.*, 2012).

Si bien, el uso de ansiolíticos ha sido efectivo en el tratamiento general de los trastornos de ansiedad, es necesario descubrir y/o desarrollar nuevos fármacos con mayor o similar eficacia que los actuales, pero con menos efectos adversos. A nivel mundial, hay un interés creciente por el uso de plantas medicinales para la prevención y tratamiento de muchas enfermedades. La población en general percibe el uso de hierbas medicinales como seguro debido a su origen natural, su eficacia y su largo uso en la medicina tradicional. Sin embargo, muchas de ellas se utilizan en la medicina popular sin considerar su toxicidad (Alonso-Castro *et al*., 2015). Las importantes propiedades demostradas a un amplio número de plantas han incrementado el interés por conocerlas desde el punto de vista químico y farmacológico (Osti-Castillo *et al.*, 2010). La búsqueda de una nueva farmacoterapia a partir de plantas medicinales en el tratamiento de enfermedades psiquiátricas ha progresado significativamente en la última década; gran número de extractos vegetales con potencial psicoterapéutico han sido evaluados en una extensa variedad de modelos animales (Zhang, 2004).

El género *Erythrina* (Familia Fabaceae) comprende 115 especies distribuidas a través de las regiones tropicales del mundo, 25 de ellas se encuentran en México (Neill, 1988), algunas son ampliamente utilizadas de manera empírica para tratar diferentes afecciones (fiebre, dolor agudo, diarrea, cólicos, inflamación, entre otras). Especies de este género se emplean en la medicina tradicional para el tratamiento de distintos desórdenes del sistema nervioso central destacando sus propiedades narcóticas, sedativas e hipnóticas entre otras (Araujo-Júnior *et al*., 2012).

Erythrina americana Miller especie endémica de México, ha demostrado en diversos ensayos preclínicos tener efecto sobre el sistema nervioso central: disminución de la conducta agresiva (Garín-Aguilar *et al*., 2000; García-Mateos *et al.*, 2000); y la participación de compuestos aislados en la consolidación de la memoria (Garín-Aguilar *et al*., 2009; Ruiz-López, 2012).

E. americana conocida en algunos estados como “colorín” o “pichoco” en Veracruz o “pemoche” cultivado en San Luis Potosí, es utilizada de manera empírica por los indígenas de la zona huasteca en la preparación de infusiones con las flores

inmaduras para combatir el insomnio (Alcorn, 1984 citado en Garín-Aguilar *et al*., 2009). En la biblioteca de la Medicina Tradicional Mexicana se menciona su uso popular en los estados de Guerrero, Michoacán, Morelos y Puebla; donde generalmente emplean la corteza del tallo en la preparación de infusiones para el tratamiento de padecimientos relacionados con el dolor, insomnio y ataques (enfermedad reconocida por la presencia de convulsiones).

Hasta el momento de la revisión bibliográfica, no existen estudios que evalúen experimentalmente el efecto ansiolítico de la especie *E. americana*, a pesar de que existen reportes empíricos de su uso. Esta carencia plantea un vacío en el conocimiento actual sobre las propiedades terapéuticas de esta planta. Por lo que en este estudio se planteó evaluar el efecto ansiolítico del extracto metanólico de semillas desengrasadas de *E. americana* Miller. Este enfoque experimental permitirá esclarecer el efecto de esta especie en el contexto de la ansiedad, ofreciendo así una base científica que respalde o refute los informes empíricos previos y siente las bases para futuras líneas de investigación.

II. MARCO TEÓRICO

II.1. ANSIEDAD

La *ansiedad* o *estado de ansiedad*, se define como el conjunto de respuestas adaptativas esenciales para la supervivencia que son emitidas por diferentes especies animales frente a un peligro real o potencial. Este estado, con importancia evolutiva, corresponde a un complejo sistema de alerta que aparece cuando el individuo detecta un peligro o amenaza o ante la presencia de estímulos ambiguos, innatos o aprendidos (Becerra-García *et al*., 2007; Darwin, 1998; Pérez de la Mora, 2003). Partiendo de lo anterior, se entiende que la ansiedad es un mecanismo orientado hacia el futuro, que en condiciones normales advierte protege y prepara al individuo de situaciones aversivas mediante una serie de reacciones cognitivas, fisiológicas y conductuales. No obstante, cuando se sobrepasa la capacidad adaptativa del sujeto, evocando falsas alarmas y/o percibiendo constantemente amenazas magnificadas que provoquen elevados niveles de ansiedad, se desencadena un trastorno patológico que interfiere en las funciones físicas, psicológicas y conductuales (Barlow, 2002; American Psychiatric Association, 2014; Cambra & Camarillo, 2015).

II.1.1. Epidemiología

A nivel mundial, cerca del 30% de las enfermedades son del tipo mental y neurológico (Murray *et al*., 2013). La ansiedad es el trastorno mental más común, afecta a más de 264 millones de personas, representando el 3.6% de la población mundial. La prevalencia de la ansiedad varía según la región del mundo; en Europa, la prevalencia es del 4.4%, mientras que en América es del 3.7%, Asia cuenta con la prevalencia más baja con un 2.8% (WHO, 2022).

En México, según la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica de 2005, los trastornos de ansiedad son las psicopatologías más comúnmente diagnosticadas, impactando aproximadamente el 12-15% de la población en algún momento de sus vidas. La ansiedad muestra una prevalencia más alta en las mujeres que en los hombres y tiende a manifestarse durante la niñez o la adolescencia, persistiendo en la edad adulta, una etapa crítica en términos de

relaciones afectivas, desempeño laboral y participación social (Medina-Mora, 2005, Virgen *et al*., 2005). Esta información se ve respaldada por datos más recientes proporcionados por la Encuesta Nacional de Bienestar Autorreportado en 2021, donde se revela una prevalencia de ansiedad en México del 14.3%. Estos datos remarcan la persistencia e importancia de los trastornos de ansiedad en la población mexicana, lo que demuestra la necesidad de una atención continua y efectiva en el ámbito de la salud mental para abordar este problema de manera integral y garantizar el bienestar emocional de la sociedad (INEGI, 2021).

El Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales V (DSM-V), referente mundial en salud mental, describe a los trastornos de ansiedad como aquellos que comparten características de miedo y ansiedad excesivos, así como alteraciones conductuales relacionadas. Se pueden diferenciar entre sí según el objeto, situación y cognición asociada; actualmente se reconocen siete principales categorías tal y como se muestra en el **Cuadro 1**.

Cuadro 1. Resumen de los principales criterios de diagnóstico para Trastornos de Ansiedad (**TA**) de acuerdo con el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales (DSM-5) (American Psychiatric Association, 2014; Tortella-Feliu, 2014).

Diagnóstico	Características
TA por separación	Miedo o ansiedad excesivos, persistentes y asociados a la separación o rompimiento del vínculo con una persona. Se consideran al menos tres aspectos clínicos mínimos para su diagnóstico, se incluyen: preocupación, malestar psicológico subjetivo, sedentarismo y asilamiento, presencia de pesadillas o síntomas físicos posteriores al evento.
Mutismo selectivo	Inhibición y/o incapacidad de la expresión oral frente a una situación social específica. De carácter persistente, se presenta en individuos que en condiciones cómodas y relajadas suelen expresarse libremente.
Fobia específica	Temor intenso y ansiedad persistentes que surgen como respuesta a la exposición a un objeto o situación específica (estímulo fóbico).

TA social	Miedo o ansiedad intensos que aparecen en relación a una o más situaciones sociales en las que el sujeto se expone. Esta conducta generalmente conlleva a comportamientos de evitación y aislamiento.
Trastorno de angustia	Aparición inesperada y recurrente de ansiedad exagerada (crisis de angustia), generalmente se presentan episodios menores a un mes. En ocasiones llega a ocurrir durante el sueño incrementando la inquietud y preocupación.
Agorafobia	Temor excesivo e irracional que surge por la exposición a lugares abiertos y/o desconocidos. Muy similar al TA social.
TA generalizada	Ansiedad y preocupación excesivas persistentes con dificultad de controlar. Algunos de los síntomas característicos son: alteraciones del sueño, dificultad para concentrarse, fatigabilidad, inquietud, irritabilidad y tensión muscular.
TA inducido por sustancias	Presencia repentina de crisis de angustia y ansiedad. Estos síntomas son derivados de los efectos secundarios fisiológicos directos por el consumo de alguna droga o fármaco.
TA por enfermedad	Ansiedad, crisis de angustia, irritabilidad y miedo que surgen como consecuencia fisiopatológica directa de algún padecimiento subyacente.
TA especificados	Se caracterizan por la presencia de síntomas clínicos de algún TA; sin embargo, solo cumplen con algunos criterios de diagnóstico. Se detalla la razón específica del incumplimiento de los criterios.
TA no especificados	Se caracterizan por la presencia de síntomas clínicos de algún TA; sin embargo, solo cumplen con algunos criterios de diagnóstico Debido a la falta de información se desconocen las causas del episodio (ingreso a urgencias médicas).

Para el estudio de la ansiedad en el área de las neurociencias se han propuesto teorías de tipo neuroquímico y genético, por lo tanto, se asume que la ansiedad tiene un sustrato neural que puede diferir de acuerdo al tipo de ansiedad (Cruz-Morales *et al*., 2003).

II.1.2. Neuroquímica de la ansiedad

II.1.2.1 Estructuras cerebrales

La ansiedad es un fenómeno neurofisiológico complejo que involucra una red de centros nerviosos en el Sistema Nervioso Central (SNC) que participan tanto en su producción como en su modulación. No existe una región única responsable de la integración de la ansiedad, sino que se trata de un proceso que implica múltiples estructuras cerebrales interconectadas (Pérez de la Mora, 2003).

Históricamente, estas estructuras cerebrales implicadas en la regulación de las emociones se han asociado con el "sistema límbico". El sistema límbico incluye la corteza límbica, que a su vez comprende la corteza insular y la corteza cingulada (**Figura 1**). Con base en la información vertida por Pérez de la Mora (2003) y Martin *et al*. (2009), entre las regiones cerebrales destacadas en la respuesta de ansiedad se encuentran:

- **Corteza cerebral**: Esta región es fundamental en la percepción y el procesamiento de estímulos relacionados con la ansiedad. Recoge información de los órganos de los sentidos y diversos receptores.
- **Septo lateral**: Produce una serie de neurotransmisores que están involucrados en la regulación de la ansiedad. Su activación puede reducir la ansiedad, mientras que su inactivación puede aumentarla.
- **Amígdala**: Es una estructura crítica en la respuesta de ansiedad. Su deterioro puede llevar a una disminución de la ansiedad.
- **Hipocampo**: Aunque está más asociado con la memoria, también desempeña un papel en la respuesta de ansiedad.
- **Hipotálamo**: Algunas porciones del hipotálamo participan en la modulación del sistema nervioso autónomo, que está involucrado directamente en la respuesta ansiosa.
- **Sustancia gris periacueductal**, **núcleo del rafe dorsal** y ***Locus coeruleus***: Estas áreas también tienen influencia en la ansiedad y su regulación.

La información relacionada con la ansiedad es recopilada por los órganos de los sentidos y diversos receptores, que luego informan al SNC. Este impulso viaja a

través de vías nerviosas específicas hacia regiones especializadas de la corteza cerebral, pasando a veces por el tálamo y/o la amígdala para su procesamiento previo. La información procesada y codificada se envía luego a las regiones cerebrales encargadas de integrar la respuesta de ansiedad (Pérez de la Mora, 2003; Gómez-Restrepo *et al*., 2018). Los síntomas relacionados con trastornos emocionales y de ansiedad se originan principalmente debido a una alteración en el equilibrio de la actividad en las áreas emocionales del cerebro en lugar de las áreas cognitivas superiores, como se ha señalado previamente (Martin *et al*., 2009).

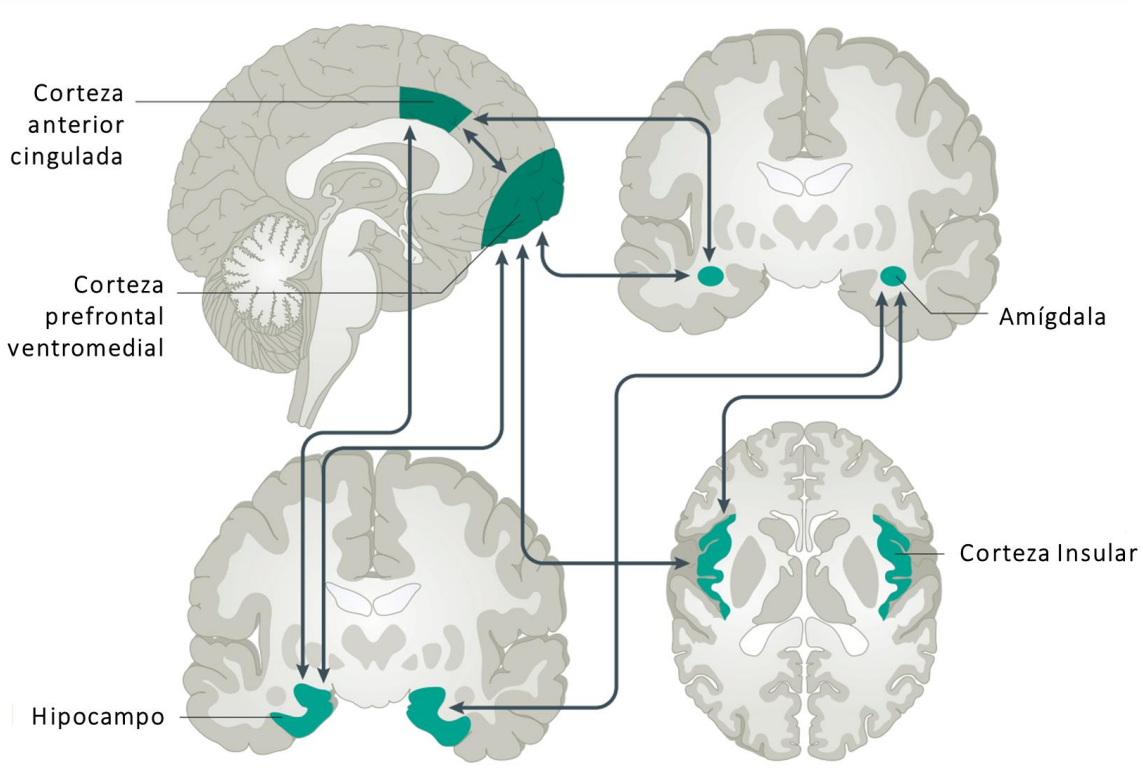

Fig. 1. Regiones cerebrales implicadas en la modulación de la ansiedad. (Modificado de Craske *et al*., 2017).

II.1.2.2. Sistemas de neurotransmisión

Para entender el mecanismo fisiológico de tipo neuroquímico de la ansiedad, se han propuesto diferentes modelos explicativos que se basan en modificaciones de varios sistemas de neurotransmisión (Pérez de la Mora, 2003).

Los neurotransmisores son sustancias químicas que las neuronas utilizan para comunicarse entre sí. Se liberan de una neurona presináptica, se difunden a través de la sinapsis (espacio entre dos neuronas) y se unen a receptores específicos de una neurona postsináptica. Esta unión provoca una respuesta en la neurona receptora, que puede ser excitatoria o inhibitoria (Anand & Charney, 2000).

La acción de los neurotransmisores depende del tipo y características de cada uno, algunos de ellos son: acetilcolina, ácido glutámico, noradrenalina, serotonina, colecistoquinina y el ácido gamma-aminobutírico. Este último destaca por poseer, dentro de su sistema GABAérgico, receptores específicos para las benzodiacepinas; fármacos con efectos ansiolíticos, anticonvulsivos, amnésicos, hipnóticos y sedantes (Nemeroff, 2003; Pérez de la Mora, 2003; Gómez-Jarabo *et al*., 2012).

La modulación de la ansiedad es consecuencia del trabajo conjunto de las neuronas presentes en los sitios nerviosos que participan en este proceso; a través de su disparo, seguido y en conjunto de la liberación de neurotransmisores, permiten al sujeto prepararse y/o responder de manera adaptativa ante una amenaza.

II.1.2.2.1 Acetilcolina

La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor que se sintetiza en las neuronas colinérgicas, por acción de las enzimas colinoacetilasa. Esta enzima une un grupo acetil a la colina, un aminoalcohol que se encuentra en todas las células del cuerpo (Gómez-Jarabo *et al*., 2012).

La ACh está involucrada en la respuesta al estrés y la ansiedad. La acetilcolina ayuda a preparar el cuerpo para una respuesta de "lucha o huida". En situaciones estresantes, la liberación de ACh aumenta la frecuencia cardíaca, la

presión arterial y la respiración. También aumenta la atención y la concentración (Guzmán-Gutiérrez & López-Muñoz, 2010; López-Valdés, 2020).

Los niveles bajos de ACh se han relacionado con síntomas de ansiedad, como la inquietud, la irritabilidad y la dificultad para concentrarse. Estudios con animales, han demostrado que la administración de fármacos que aumentan los niveles de ACh, reduce los niveles de ansiedad. Investigaciones con humanos, han evidenciado que los pacientes con trastornos de ansiedad tienen niveles más bajos de acetilcolina en el cerebro que los individuos sanos (Zeng & Li, 2020).

II.1.2.2.2. Ácido glutámico

El ácido glutámico es un aminoácido no esencial que se encuentra en todas las células del cuerpo. Es el neurotransmisor excitatorio más abundante en el cerebro y desempeña un papel importante en la función cognitiva, incluidos la memoria, el aprendizaje y la atención (Wang & Wu, 2019). La ansiedad se asocia con un aumento de la actividad en el sistema nervioso central, incluido el aumento de la liberación de neurotransmisores excitatorios (Bergink *et al*., 2004; Guzmán-Gutiérrez & López-Muñoz, 2010).

Investigaciones preclínicas con animales han permitido demostrar que la administración de fármacos que bloquean los receptores de ácido glutámico reduce los niveles de ansiedad. Por el contrario, la administración de fármacos que estimulan los receptores de ácido glutámico aumenta los niveles de ansiedad (Li & Xu, 2019).

Estos hallazgos sugieren que el ácido glutámico desempeña un papel en la regulación de la ansiedad. Los niveles altos de ácido glutámico pueden contribuir a la aparición de síntomas de ansiedad**.**

II.1.2.2.3. Dopamina

La dopamina (DA) se sintetiza a partir del aminoácido L-tirosina en las neuronas dopaminérgicas. Se encuentra en todo el cerebro, pero se concentra principalmente en el área tegmental ventral, la sustancia negra y el núcleo accumbens (Gómez-Jarabo *et al*., 2012).

La DA está implicada en la regulación de la atención y la concentración, además de participar en los procesos de memoria. Los niveles altos de DA se han relacionado con síntomas de ansiedad, como la inquietud, la irritabilidad y la dificultad para concentrarse (Guzmán-Gutiérrez & López-Muñoz, 2010; López-Valdés, 2020).

Investigaciones con animales, han demostrado que la administración de fármacos que bloquean los receptores de DA reduce los niveles de ansiedad; fármacos antipsicóticos como la clozapina y la risperidona reducen los niveles de ansiedad en animales sometidos a estrés. Estudios con humanos, han evidenciado que los pacientes con trastornos de ansiedad tienen niveles más altos de DA en el cerebro en comparación con individuos sanos (Zeng & Li, 2020).

II.1.2.2.4. Noradrenalina

La noradrenalina (NA) es un neurotransmisor perteneciente a la familia de las catecolaminas. Es liberada por las neuronas noradrenérgicas, por lo que se encuentran en todo el cerebro y la división simpática del sistema nervioso autónomo, principalmente en el *Locus coeruleus* (Charney & Deutch, 2003). La NA ayuda a preparar el cuerpo para una respuesta de "lucha o huida". En situaciones estresantes, la liberación de NA aumenta la frecuencia cardíaca, la presión arterial y la respiración (Bremner, 2006). Los niveles altos de NA se han relacionado con síntomas de ansiedad, como la inquietud, la irritabilidad y la dificultad para concentrarse. Los receptores adrenérgicos pueden tener efectos tanto excitadores como inhibidores, aunque generalmente la liberación de noradrenalina tiende a producir excitación al inducir despolarización neuronal (Carlson, 2014).

Una de las principales funciones de las neuronas noradrenérgicas es aumentar el estado de alerta o vigilancia. Estudios en animales han demostrado que la administración de fármacos que bloquean los receptores de noradrenalina reduce los niveles de ansiedad (Hahn & Liberzon, 2006).

II.1.2.2.5. Serotonina

La serotonina es un neurotransmisor de tipo indolamina, sintetizado en las neuronas serotonérgicas del tronco encefálico y en las células enterocromafines del intestino delgado (Carlson, 2014). Los niveles bajos de 5-HT se han relacionado con una variedad de trastornos de ansiedad, incluyendo el trastorno de ansiedad generalizada, el trastorno de pánico, el trastorno de ansiedad social y el trastorno obsesivo-compulsivo (Simpson & Nutt, 2005).

La 5-HT, actúa en el cerebro regulando las respuestas al estrés y la ansiedad; ayuda a mantener el equilibrio entre la activación y la inhibición del sistema nervioso central. Los niveles bajos de 5-HT pueden conducir a una mayor activación del sistema nervioso central, lo que puede provocar síntomas de ansiedad. Estudios preclínicos con animales han demostrado que la administración de 5-HT o de fármacos que aumentan los niveles de 5-HT reducen los niveles de ansiedad. Por el contrario, la administración de fármacos que bloquean los receptores de 5-HT aumentan los niveles de ansiedad. Se ha confirmado que los niveles bajos de 5-HT pueden contribuir a la aparición de trastornos de ansiedad (Blier & Montigny, 1994; Anand & Charney, 2000).

II.1.2.2.6 Colecistoquinina

La colecistoquinina (CCK) es una hormona secretada en el intestino delgado en respuesta a la ingesta de alimentos ricos en grasas y proteínas. Tiene una amplia variedad de funciones donde se incluyen: la estimulación de la liberación de enzimas pancreáticas y biliares, la contracción de la vesícula biliar y la regulación del apetito (Chen *et al*., 2019).

Recientemente, se ha demostrado la implicación del péptido CCK en la ansiedad. Estudios en animales han demostrado que la administración de CCK aumenta los niveles de ansiedad, mientras que la administración de antagonistas de la CCK reduce los niveles de estos. Sin embargo, el mecanismo fisiológico por los que la CCK modula la ansiedad no están completamente claros, pero se ha planteado que está relacionado con la activación del sistema nervioso autónomo y

la liberación de neurotransmisores como la noradrenalina y la serotonina (Kimura & Nakamura, 2017; Liu *et al*., 2018).

II.1.2.1.7. Ácido gamma-aminobutírico

El ácido gamma-aminobutírico (GABA) es un neurotransmisor inhibidor sintetizado en las neuronas GABAérgicas que se encuentran en todo el cerebro. La unión de GABA a sus receptores en las neuronas provoca una disminución de la actividad neuronal, lo que ayuda a inhibir la ansiedad (Guzmán-Gutiérrez & López-Muñoz, 2010; López-Valdés, 2020).

Los niveles bajos de GABA pueden provocar una mayor sensibilidad al estrés, dificultar la concentración y la consolidación de la memoria. Se le ha relacionado directamente con el trastorno de ansiedad generalizada, el trastorno de pánico y el trastorno de estrés postraumático (Martin et *al*., 2009).

Numerosas investigaciones preclínicas con animales han demostrado que la administración de fármacos que aumentan los niveles de GABA reducen los niveles de ansiedad; fármacos antiepilépticos como el valproato y la lamotrigina reducen los niveles de ansiedad en roedores sometidos a estrés. Los estudios clínicos con humanos también han evidenciado que los niveles de GABA están relacionados con la ansiedad; individuos con trastornos de ansiedad tienen niveles más bajos de GABA en el cerebro que los reportados para pacientes sanos (López-Valdés, 2020; Zeng & Li, 2020).

II.1.3. Modelos animales en el estudio de la ansiedad

Diversas disciplinas científicas han evidenciado que la estructura y función cerebral se encuentran evolutivamente vinculadas en diferentes especies. La relación establecida durante el proceso evolutivo entre los mamíferos ha favorecido el uso de modelos animales para el estudio del comportamiento humano (Darwin, 1998; Gómez *et al*., 2002). Se estima que la investigación preclínica en el área de la ansiedad utiliza cerca de 30 modelos animales que permiten observar y cuantificar conductas de diversa índole dependientes al tratamiento con compuestos ansiolíticos y/o ansiogénicos.

Estos modelos se pueden clasificar como respuestas condicionadas y no condicionadas (Cárdenas & Navarro, 2002; Gómez *et al*., 2002). Ver **Cuadro 2**.

Los modelos de respuesta condicionada recurren a conductas específicas dependientes de estímulos estresantes generalmente dolorosos. Este tipo de modelos facilitan al experimentador el control de los niveles de conducta basal; sin embargo, a menudo se requiere que los sujetos sometidos a experimentación tengan un entrenamiento previo. Otras limitaciones son las posibles modificaciones en los parámetros y las variantes de cada modelo (Polanco *et al*., 2011; Vijender *et al*., 2013).

Los modelos de respuesta no condicionada engloban paradigmas basados en la etología e involucran las reacciones espontáneas y/o naturales ante estímulos de estrés independientes de dolor e incomodidad explícita. Estos modelos cuentan con las ventajas de poseer validez etológica, son más económicos, cuentan con sensibilidad bidireccional, son independientes de entrenamiento previo, no recurren a procedimientos que impliquen la exposición a estímulos dolorosos y no requieren privación de alimento o agua (Cárdenas & Navarro, 2002; Polanco *et al*., 2011).

Cuadro 2. Principales modelos utilizados en el estudio de la ansiedad. (Tomado de Rodgers, 1997 en Gómez *et al*., 2002).

Modelos animales en el estudio de la ansiedad	
Respuestas condicionadas	***Respuestas no condicionadas***
1. Pruebas de conflicto Prueba de Geller-Seifter Prueba de Voguel	1. Pruebas exploratorias **Laberinto Elevado en Cruz** Transiciones luz/oscuridad **Campo Abierto**
2. Otras Evitación activa/pasiva Supresión condicionada a la ingesta de líquidos. Respuesta emocional condicionada. Vocalizaciones ultrasónicas condicionadas.	2. Pruebas sociales Vocalizaciones ultrasónicas inducidas por separación. Interacción social.
	3. Otras Hiponeofagia. Conducta defensiva de enterramiento.

De acuerdo con Cruz-Morales, *et al* (2002) estos modelos deben cumplir de forma general con los siguientes criterios:

1. *Validez*: Debe tomar como base alguna característica única y/o predominante de la patología, por ejemplo, el condicionamiento de miedo en la producción de conductas de ansiedad o evitación.
2. *Similitud conductual*: Debe reproducir las mismas características conductuales mostradas en la psicopatología humana.
3. *Analogía bioquímica*: La manifestación patológica debe estar relacionada directamente con el sustrato neuronal en términos de estructura, interacciones farmacológicas y reacciones bioquímicas.
4. *Valor predictivo terapéutico*: La implementación del modelo podría sugerir y/o esclarecer el uso de un fármaco.
5. *Especificidad de los criterios en función de la problemática abordada*: Es decir, que se induzca y/o presente la misma sintomatología.

II.1.3.1. Laberinto en Cruz Elevado (Elevated Plus Maze Test)

El Laberinto en Cruz Elevado (Elevated Plus Maze Test) es uno de los modelos de ansiedad más populares en la actualidad. Está ubicado en el grupo de pruebas basadas en el estudio de conductas incondicionadas o espontáneas. Tiene como fundamento los estudios sobre conducta exploratoria en callejones abiertos y cerrados realizados por Montgomery (1995) donde se estableció que la exposición de los sujetos a estímulos novedosos provoca comportamientos de evitación. Partiendo de lo anterior, Handley & Mithani (1984) fabricaron un laberinto elevado con cuatro brazos dispuestos en X, dos brazos abiertos y dos opuestos con paredes. Las adecuaciones posteriores han permitido su implementación en especies como ratas, ratones, gerbos (Pellow *et al*., 1985; Lister, 1987). La prueba aprovecha el comportamiento natural de exploración espontánea a nuevos ambientes por parte de los sujetos; el desplazamiento y permanencia en áreas cerradas y oscuras es favorecido debido a que existe una tendencia de evitar espacios abiertos y elevados, principalmente cuando están iluminados. Este conflicto de aproximación-evitación genera una serie de comportamientos vinculados con el aumento en los indicadores de estrés fisiológico en relación con el miedo y que resultan en un comportamiento ansioso (Bailey & Crawley, 2009; Green & Hodges, 1991).

Cárdenas & Navarro (2002) al referirse al Laberinto elevado en cruz señalan que este aparato goza de “validez ecológica” debido al uso de estímulos naturales capaces de inducir ansiedad en seres humanos. Es decir, este modelo garantiza que las teorías y los hallazgos se apliquen a comportamientos humanos reales. Se asume que la exposición a los brazos abiertos produce una combinación de miedos en el roedor donde se incluyen: el miedo a un ambiente no familiar, el miedo a un espacio abierto e iluminado y el miedo a una situación de equilibrio en una superficie relativamente estrecha y elevada. Se ha teorizado que estos miedos podrían ser análogos a la agorafobia y el vértigo. En contraste, los brazos cerrados del laberinto están diseñados con paredes altas que proporcionan seguridad contra posibles amenazas.

El aparato se compone por dos brazos abiertos (**BA**), dos cerrados (**BC**), un área central y se encuentra elevado por encima del suelo. El sujeto de prueba se coloca en el centro del aparato, permitiéndole la libre exploración del área por un periodo de tiempo determinado (Polanco *et al*., 2011).

Los parámetros principales para considerar son los espaciotemporales: número de entradas y tiempo dedicado en los brazos, generalmente se expresan como el porcentaje o proporción del total de entradas y relación de tiempo dedicado en todos los brazos, respectivamente. Los indicadores generales de ansiedad son el aumento en la entrada y el tiempo dedicado en los brazos abiertos. Es decir, cuanto menor sea la ansiedad existirá mayor exploración en estos brazos. Lo anterior se ha explicado en términos del conflicto de permanecer en los brazos más protegidos y con pocos estímulos (**BC**) que explorar los brazos potencialmente amenazadores y con mayor cantidad de estímulos (**BA**) (Handley & Mithani, 1984; Lister, 1987; Polanco, 2010).

II.1.4. Tratamientos para la ansiedad

Los tratamientos para la ansiedad son intervenciones terapéuticas y estrategias diseñadas para ayudar a las personas que experimentan trastornos de ansiedad a manejar sus síntomas y mejorar su calidad de vida. Los tratamientos para la ansiedad pueden incluir una combinación de enfoques terapéuticos, cambios en el estilo de vida y, en algunos casos, farmacoterapia (NIMH, 2022).

La elección del tratamiento para la ansiedad depende de varios factores, incluyendo el tipo y la gravedad de la ansiedad, las preferencias del paciente y la opinión del profesional de la salud. En algunos casos, puede ser necesario combinar la psicoterapia y la farmacoterapia para obtener los mejores resultados (WHO, 2022).

II.1.4.1. Psicoterapia

De acuerdo con la Asociación Americana de Psiquiatría (2022), la psicoterapia es un proceso colaborativo en el que un terapeuta o profesional de la salud mental ayuda al paciente a comprender y cambiar los pensamientos, las emociones y los

comportamientos que contribuyen a la ansiedad. Los tipos de psicoterapia más utilizados para tratar la ansiedad incluyen:

a) *Terapia cognitivo-conductual*: Se centra en ayudar a las personas a identificar y cambiar los pensamientos y comportamientos que contribuyen a la ansiedad (Hofmann *et al*., 2012).
b) *Terapia de exposición*: Ayuda a las personas a enfrentar sus miedos de manera gradual y segura (Foa *et al*., 2006).
c) *Terapia de aceptación y compromiso*: Permite a las personas a aceptar sus pensamientos y emociones ansiosos y a centrarse en vivir una vida plena (Hofmann *et al*., 2010).

II.1.4.2. Farmacoterapia

La farmacoterapia es un enfoque de tratamiento que utiliza medicamentos para tratar los diferentes tipos de trastornos de ansiedad y sus síntomas. Implica la prescripción y el uso de medicamentos específicos para mejorar la calidad de vida del individuo. Actualmente se reconocen varios tipos de medicamentos donde se incluyen: antidepresivos, inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina, Inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina, inhibidores de la monoaminooxidasa, azapironas, β-bloqueadores y benzodiazepinas (Farach *et al.*, 2012).

La elección del medicamento y la dosis dependerán del tipo de trastorno, la gravedad de los síntomas y las necesidades individuales del paciente. Cabe destacar que, la farmacoterapia a menudo se combina con la psicoterapia para un enfoque integral en el tratamiento de la ansiedad.

II.1.4.2.1. Antidepresivos

Los antidepresivos son una clase de medicamentos diseñados para tratar los trastornos del estado de ánimo, como la depresión mayor y algunos tipos de ansiedad. Actúan de diferentes maneras, dependiendo de su clase. La mayoría de los antidepresivos se enfocan en aumentar la disponibilidad de neurotransmisores como la serotonina, la noradrenalina y la dopamina en el cerebro (Delgado, 2004; Nierenberg & DeCecco, 2007).

II.1.4.2.1.1. Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina

Los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) son un tipo de medicamentos que se utilizan para tratar la depresión, los trastornos de ansiedad y otras afecciones del estado de ánimo. Los ISRS funcionan inhibiendo la recaptura de serotonina por las células nerviosas, promoviendo un aumento en los niveles de serotonina en el cerebro (WHO, 2023).

Algunos ejemplos comunes de ISRS incluyen: fluoxetina, sertralina, paroxetina, citalopram y escitalopram. Los ISRS suelen ser bien tolerados, pero pueden causar algunos efectos secundarios, como: náuseas, diarrea, estreñimiento, sedación, insomnio, disminución del apetito, aumento de la sudoración, disfunción sexual, entre otros (Chávez-León *et al*., 2008).

II.1.4.2.1.2. Inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina

Los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina y noradrenalina (ISRN) son una clase de medicamentos que se utilizan en el tratamiento de trastornos del estado de ánimo, como la depresión mayor, el trastorno de ansiedad generalizada, el trastorno de ansiedad social y el trastorno de dolor crónico, entre otros (Mayo Clinic, 2023).

Los ISRN actúan sobre tanto la serotonina como la noradrenalina, inhibiendo la recaptura de estos neurotransmisores por parte de las células nerviosas, lo que lleva a un aumento en la disponibilidad de 5-HT y NA en el espacio sináptico (Trivedi *et al*., 2006). Ejemplos de algunos fármacos de este tipo son: venlafaxina, duloxetina y desvenlafaxina. Su uso puede llevar a efectos secundarios que incluyen: reacciones alérgicas, náuseas, sudoración excesiva, insomnio o somnolencia, boca seca, estreñimiento o diarrea, aumento de la presión arterial, mareos o vértigo, dificultades sexuales, irritabilidad y dolor de cabeza, por mencionar algunos (Chávez-León *et al*., 2008).

II.1.4.2.1.3. Inhibidores de la monoaminooxidasa

Los inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAO) son un tipo de fármaco antidepresivo que actúa bloqueando la acción de la enzima monoaminooxidasa

(MAO). La MAO descompone los neurotransmisores serotonina, norepinefrina y dopamina. Al bloquear la acción de la MAO, los IMAO promueven el aumento de los niveles de estos neurotransmisores en el cerebro (Stahl, 2003).

Los IMAO se han utilizado en el tratamiento de la depresión resistente a otros medicamentos, trastornos de ansiedad, trastornos del sueño y migrañas, entre otros. Sin embargo, los IMAO tienen interacciones significativas con ciertos alimentos y otros medicamentos, lo que puede llevar a efectos secundarios graves y potencialmente peligrosos. Algunos de sus efectos secundarios incluyen: hipotensión ortostática (disminución de la presión arterial al ponerse de pie), confusión. Mareos, náuseas, diarrea, aumento de la sudoración, aumento del apetito, aumento de peso, entre otros (Pini *et al*., 2003).

II.1.4.2.2. Azapironas

Las azapironas son una clase de medicamentos para tratar trastornos de ansiedad y algunos trastornos del estado de ánimo. Su mecanismo de acción es diferente de otros tipos de medicamentos ansiolíticos y antidepresivos más comunes, ya que actúan principalmente como agonistas parciales de los receptores de serotonina (5-$HT1_A$) en el cerebro. Esto significa que aumentan la actividad de la serotonina en ciertas áreas del cerebro, lo que puede tener un efecto ansiolítico y, en algunos casos, mejorar el estado de ánimo. Además, actúan como agonistas del receptor $GABA_A$. Al aumentar la actividad del GABA, las azapironas reducen la actividad neuronal y alivian los síntomas de ansiedad (Rickels & Rynn, 2022; Stahl, 2003).

Las azapironas suelen ser bien toleradas, pero pueden causar algunos efectos secundarios, como: confusión, dolor de cabeza, fatiga, inquietud, insomnio, malestar gastrointestinal, mareos, náuseas, somnolencia, aumento en la salivación y/o sequedad bucal, entre otros. Es importante señalar que las azapironas generalmente no causan somnolencia ni tienen el potencial de adicción asociado con otros medicamentos ansiolíticos, como las benzodiazepinas. Sin embargo, su mecanismo de acción regularmente es lento y pueden no ser tan efectivas en casos graves de ansiedad (Rickels & Rynn, 2022).

II.1.4.2.3. β-Bloqueadores

Los β-bloqueadores, también conocidos como bloqueadores beta, son fármacos que se utilizan comúnmente para tratar diversas condiciones médicas, especialmente trastornos cardiovasculares y otras afecciones relacionadas con el sistema nervioso. El mecanismo principal de acción de los β-bloqueadores es bloquear los receptores beta-adrenérgicos en el cuerpo. Estos receptores son parte del sistema nervioso simpático y están involucrados en la respuesta del cuerpo al estrés y la estimulación adrenérgica, que incluye la liberación de la hormona epinefrina (adrenalina). Los β-bloqueadores bloquean selectivamente los receptores beta en las glándulas suprarrenales, controlando la respuesta al estrés y la ansiedad (Brunton *et al.*, 2018).

Aunque, los fármacos β-bloqueadores son generalmente bien tolerados, pueden causar efectos secundarios como: cambios en la glucosa en sangre, fatiga y debilidad, mareos o vértigo, problemas gastrointestinales, trastornos del sueño, entre otros (Frishman, 2018).

II.1.4.2.4. Benzodiazepinas

Las benzodiazepinas (BZD) representan un grupo de medicamentos que se utilizan comúnmente para tratar una variedad de condiciones que incluyen trastornos de ansiedad, insomnio, epilepsia y otras afecciones neurológicas. Estos medicamentos son conocidos por su capacidad para inducir sedación, relajación muscular, alivio de la ansiedad y reducción de la excitabilidad cerebral (Brunton *et al.*, 2018).

El mecanismo principal de acción de las BZD es aumentar la actividad del neurotransmisor ácido gamma-aminobutírico (GABA) en el cerebro. Este neurotransmisor es inhibidor y ejerce un efecto calmante sobre la actividad cerebral al reducir la excitabilidad neuronal. Las BZD se unen a receptores específicos en el cerebro que están asociados con el GABA, lo que resulta en una mayor inhibición neuronal y una reducción de la excitabilidad cerebral (Ashton, 2002).

A pesar de la eficacia de las BDZ, su uso conlleva efectos secundarios donde se incluyen: dependencia, tolerancia y pérdida de la acción farmacológica, abstinencia, dificultades cognitivas, estreñimiento o problemas gastrointestinales,

problemas de coordinación, somnolencia y sedación. Es importante resaltar que el uso de BZD puede aumentar el riesgo de ideación e intentos suicidas en personas con trastornos del estado de ánimo (Brunton *et al.*, 2018).

II.1.4.3. Búsqueda de nuevos tratamientos para los trastornos de ansiedad

A nivel mundial, hay un creciente interés en utilizar plantas medicinales como complemento en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades, incluida la ansiedad. Aunque algunas plantas han demostrado propiedades para aliviar los síntomas de la ansiedad, su eficacia varía y no deben considerarse sustitutos directos de los ansiolíticos convencionales (Sarris *et al*., 2011; Alonso-Castro *et al*., 2015). La percepción general de la población sobre la seguridad de las hierbas medicinales se basa en su origen natural y su larga historia en la medicina tradicional, pero es crucial tener en cuenta la posible toxicidad de estas hierbas, ya que a menudo se utilizan sin considerar este factor.

El aumento en la investigación química y farmacológica de diversas plantas ha llevado a evaluar extractos vegetales en modelos animales, ofreciendo perspectivas para el desarrollo de nuevas opciones terapéuticas en trastornos psiquiátricos, incluida la ansiedad (Osti-Castillo *et al*., 2010; Zhang, 2004). Sin embargo, es importante que la investigación se realice con rigor científico, evaluando cuidadosamente tanto los beneficios como los posibles riesgos asociados con el uso de plantas medicinales en el tratamiento de la ansiedad y otras afecciones psiquiátricas.

II.1.4.3.1. Plantas medicinales usadas en el tratamiento de la ansiedad

La medicina tradicional son saberes empíricos con los que cuentan los grupos humanos para atender los trastornos primarios de salud y se transmiten de forma oral de generación en generación; esto significa que se fundamenta en ideas culturalmente definidas y no en conocimientos científicos (Lozoya & Lozoya, 1982). El efecto curativo de las plantas se atribuye a los llamados *productos naturales*, especies químicas derivadas del metabolismo primario y/o secundario de las plantas, estos desempeñan funciones ecológicas específicas y se encuentran distribuidos de forma diferencial entre grupos taxonómicos (Ávalos & Pérez-Urrutia,

2009). El potencial terapéutico de dichos metabolitos está en virtud de su estructura química ya que de ello depende su interacción en procesos fisiológicos de interés en los sistemas vivos.

En el Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana se detallan diversas especies utilizadas para síntomas estrechamente relacionados con la ansiedad como desesperación, estrés, hipervigilancia, insomnio, nerviosismo, pérdida o aumento en el apetito y en ocasiones debilidad. Entre estas plantas se mencionan el toronjil morado (*Agastache mexicana* Kunth), toronjil blanco (*Agastache mexicana subsp*. *xoloxotziana* Bye, E. Linares & Ramamoorthy), toronjil azul o chino (*Dracocephalum moldavica* L.) canela (*Cinnamomum* sp. Schäffer), flor de manita (*Chiranthodendron pentadactylon* Lam.), tila (*Ternstroemia* sp. Mutis ex L.f.), azahar (flores de diversas especies de *Citrus*), hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.), tumbavaquero (*Ipomoea stans* Cav.) entre otras.

En este Atlas también se destaca el uso de especies endémicas del género *Erythrina* en el tratamiento de diversos desórdenes del sistema nervioso central. *Erythrina coralloides* Moc. & Sessé ex DC., por ejemplo, se emplea en el estado de Morelos para tratar la neuritis. Asimismo, *Erythrina americana* es utilizada en varios estados, como Guerrero, Michoacán, Morelos y Puebla, donde se aprovecha la corteza del tallo en infusiones para tratar ataques, afección reconocida por la presencia de convulsiones. Así mismo, en la región noreste del país, *E. americana* se utiliza de manera empírica para preparar infusiones con inflorescencias inmaduras para combatir el insomnio (Hastings *et al*., 1990; Alcorn, 1984 citado en Garín-Aguilar *et al*., 2009).

III. ANTECEDENTES

III.1. Antecedentes experimentales con el género *Erythrina*

Diversos grupos de investigación alrededor del mundo interesados por esclarecer los efectos que producen las plantas del género *Erythrina*, han evaluado su actividad sobre el sistema nervioso central. Entre los que destacan el de Onusic *et al.* (2002), quienes, utilizando los modelos de Laberinto en T Elevado, Transición Luz-Oscuridad y Test Olor de Gato, evaluaron el potencial ansiolítico del extracto hidroalcohólico de inflorescencias de *E. mulungu* Mart. ex Benth (100, 200 y 400 mg/kg) en ratas Wistar. Los autores reportaron que la dosis de 200 mg/kg fue capaz de reducir las respuestas relacionadas con ansiedad en los modelos de laberinto T Elevado y Transición Luz-Oscuridad, efecto comparable con el obtenido por el fármaco Diazepam (4mg/kg). Sin embargo, ningún tratamiento alteró la conducta de los sujetos en respuesta a la prueba Olor de Gato.

Continuando con la línea de investigación anterior y empleando el modelo de laberinto T Elevado, Onusic *et al*. (2003) midieron respuestas de evitación o escape, parámetros relacionados con ansiedad y memoria; reportando que dosis agudas (200 y 400 mg/kg) y crónicas (9 a 14 días: 50 y 200 mg/kg) mostraron deterioro de las respuestas de evitación similares al fármaco de referencia, Diazepam (10 mg/kg).

Dantas *et al*. (2004) evaluaron el efecto del extracto acuoso de hojas de *E. velutina* Willd. en el sistema nervioso de roedores. La administración intraperitoneal del extracto en ratones Swiss aumentó el tiempo de sueño inducido por Pentobarbital con las dosis de 50 y 200 mg/kg. La dosis de 10 mg/kg registró una disminución en la actividad motora de los sujetos durante la prueba de Campo Abierto. Por otro lado, la administración intraperitoneal de 10 mg/kg en ratas Wistar inhibió la adquisición de la tarea en el modelo de Evitación Inhibitoria.

Ribeiro *et al*. (2006), administraron dosis agudas (100, 200 y 400 mg/kg) y crónicas (21 días; 50, 100 y 200 mg/kg) de los extractos hidroalcohólicos de *E. mulungu* y *E. velutina* para evaluar su efecto ansiolítico y antidepresivo en ratas Wistar. Reportaron que la administración, aguda (400 mg/kg) y crónica (200 mg/kg),

de *E. velutina* presentó latencias similares a las del fármaco Diazepam (10mg/kg) en la prueba de Laberinto T Elevado. No obstante, ambos extractos no redujeron los tiempos de inmovilidad en comparación al referente Imipramina (20 mg/kg) durante la prueba de Nado Forzado. En adición, la exposición de los sujetos al modelo de Campo Abierto permitió a los autores concluir que dicho efecto ansiolítico no se atribuye a alteraciones motoras.

Vasconcelos *et al*. (2004) estudiaron el efecto sobre el Sistema Nervioso Central de los extractos hidroalcólicos de la corteza de tallo de *E. mulungu* y *E. velutina* en ratones Swiss hembra. Encontrando que, con la administración intraperitoneal de ambos extractos (200 y 400 mg/kg) se redujo la actividad motora y se disminuyó la frecuencia en el número de entradas en ambos brazos en los modelos de Campo Abierto y Laberinto en Cruz Elevado respectivamente. Sin embargo, la coordinación motriz no se vio afectada en la prueba de Varilla Rotatoria.

Vasconcelos *et al*. (2007), continuando con el estudio previo, evaluaron el efecto de los extractos hidroalcohólicos de corteza de tallo de *E. mulungu* y *E. velutina* en ratones sometidos a los modelos de sueño inducido por Pentobarbital y convulsión Inducida por Estricnina. No se encontraron diferencias significativas en las latencias de sueño con las dosis de 200 y 400 mg/kg de los extractos de *E. velutina* y de *E. mulungu* respecto al control Diazepam. Sin embargo, en la prueba de Convulsión Inducida por Estricnina, estas mismas dosis registraron un incremento en los tiempos de latencia y muerte. Los autores concluyeron que la administración oral de los extractos hidroalcohólicos de corteza de tallo de *E. velutina* y *E. mulungu* ejercen acción depresora del sistema nervioso central.

Flausino *et al.* (2007a), utilizando los modelos de Laberinto en T Elevado y Campo Abierto evaluaron en ratones Swiss el efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico crudo y de tres alcaloides aislados de inflorescencias de *E. mulungu*. Se demostró que la administración oral aguda de 200 y 400 mg/kg de extracto crudo, 10 mg/kg de 11-α-hidroxieritravina, 3 y 10 mg/kg de eritravina y 3 y 10 mg/kg de α-hidroxierisotrina incrementaron el tiempo de permanencia en los brazos abiertos, datos similares a los obtenidos con el fármaco Diazepam (2mg/kg). De manera

adicional, no reportaron diferencias significativas en el Test de Campo Abierto. Los autores atribuyen que el efecto ansiolítico del extracto crudo se debe en parte, a la presencia de los alcaloides aislados.

En adición al trabajo anterior, Flausino *et al.* (2007b) reportaron que en el test Transición Luz-Oscuridad la administración de 100 y 200 mg/kg de extracto crudo, 10 mg/kg de 11-α-hidroxieritravina y 3 y 10 mg/kg de eritravina, incrementaron el tiempo de permanencia en el compartimiento iluminado. Además 11-α-hidroxieritravina (3 mg/kg) aumentó el número de transiciones entre las dos áreas del modelo. Por otro lado, la administración oral del extracto crudo de inflorescencias de *E. mulungu* no evidenció efecto ansiolítico en el Test de Laberinto en Cruz Elevado. Los autores sugieren que las diferencias reportadas se deban a la naturaleza y sensibilidad de cada prueba utilizada.

Raupp *et al*. (2008), evaluaron en ratones Swiss el efecto ansiolítico y antidepresivo de la administración aguda (5, 10, 25, 50 y 100 mg/kg) y crónica (23-26 días: 50 y 100 mg/kg) del extracto hidroalcohólico de la corteza de tallo de *E. velutina* por vía oral. Usando el modelo de Laberinto en Cruz Elevado, la dosis crónica de 100 mg/kg aumentó en el porcentaje de entradas al brazo abierto, dato similar al del referente Clordiazepóxido (7.5 mg/kg). Sin embargo, durante la prueba de Nado Forzado, la administración del extracto no redujo los tiempos de inmovilidad en comparación con el fármaco Imipramina (25 mg/kg). Los autores concluyeron que la administración crónica del extracto hidroalcohólico de la corteza de tallo de *E. velutina* provocó únicamente efectos del tipo ansiolítico.

Teixeira-Silva *et al*. (2008), usando el modelo de Laberinto en Cruz Elevado, evaluaron el efecto ansiolítico del extracto etanólico de hojas de *E. velutina* en roedores Swiss y Wistar; reportando que la administración oral de 20 mg/kg produjo un aumento en el porcentaje de entradas e incrementó el tiempo de permanencia en el brazo abierto, lo que sugirió actividad ansiolítica. Así mismo, para evaluar las implicaciones en los procesos de memoria y aprendizaje, encontraron que la administración oral de 10 mg/kg inhibió la adquisición de la tarea en el modelo de Evitación Inhibitoria.

Pitchaiah *et al*. (2010) observaron el efecto del extracto acuoso de la corteza de *E. variegata* L. en ratones Swiss y ratas Wistar sometidos a tres modelos diferentes de ansiedad. Los autores reportaron que 200 y 400 mg/kg incrementaron el tiempo transcurrido en la zona clara, así como el número de transiciones entre las zonas de luz-oscuridad. En el modelo de campo abierto se registró aumento del tiempo dedicado a la deambulación. Finalmente, en el modelo de Laberinto en Cruz Elevado se presentó un incrementó en el número de entradas y el tiempo de permanencia en los brazos abiertos, evidenciando así la actividad ansiolítica del extracto.

Aparecida *et al.* (2011) evaluaron en ratas Wistar (implantadas con cánulas dirigidas al ventrículo lateral derecho), el efecto anticonvulsivo de los alcaloides eritravina y 11-α-hidroxieritravina obtenidos de las inflorescencias de *E. mulungu*. Reportaron que la administración de eritravina en dosis 2 y 3 µg/µL fue capaz de inhibir las convulsiones evocadas por Pentilentetrazol y Ácido kaínico; por su parte, 11-α-hidroxi-eritravina en dosis de 1 y 2 µg/µL bloqueó el efecto de los convulsivos Bicuculina, NMDA y Ácido kaínico.

Rodrigues *et al*. (2011), estudiaron el efecto ansiolítico de los alcaloides aislados del extracto etanólico de las flores de *E. suberosa* Roxb. en ratones Swiss, encontrando que, la administración oral de erisodina (10 mg/kg) favoreció la frecuencia de entradas y tiempo de permanencia en brazos abiertos en el modelo de Laberinto en Cruz Elevado. Cabe resaltar que no se registró afectación de actividad motora (número de entradas a brazos cerrados). Por otro lado, erisodina y erisotrina (10 mg/kg) aumentaron el tiempo de permanencia en el compartimiento iluminado y número de transiciones en el modelo de Transición Luz-Oscuridad. Los autores atribuyeron que la presencia de los alcaloides erisodina y eritrovina son los responsables del efecto ansiolítico de *E. suberosa*.

Usando el modelo de Laberinto en Cruz Elevado y la prueba de Campo Abierto, Nagaraja *et al*. (2012) valoraron en ratones Swiss el efecto ansiolítico de los extractos clorofórmico y etanólico de la corteza del tallo de *E. mysorensis* Gamb. y con la prueba de Varilla Rotatoria evaluaron la coordinación motriz.

Los autores reportaron que la administración oral de 200 y 400 mg/kg de los extractos clorofórmico y etanólico de *E. mysorensis* presentaron actividad ansiolítica tanto en la prueba de Laberinto Elevado en Cruz como en la de Campo Abierto, los datos fueron comparables con los del Diazepam (1mg/kg). Con las mismas dosis se registró una reducción en el tiempo de caída de los sujetos en la prueba de Varilla Rotatoria, lo que sugiere un efecto relajante en el músculo esquelético. Los autores indican que probablemente los efectos observados en su estudio, sean el resultado de la acción sinérgica de alcaloides, flavonoides, ácidos fenólicos y otros metabolitos que en investigaciones previas se ha reportado están presentes en la corteza de *E mysorensis*.

Santos *et al.* (2012), evaluaron en ratas Wistar el efecto anticonvulsivo y potencial ansiolítico del alcaloide erisotrina aislado del extracto hidroalcohólico de inflorescencias de *E. mulungu*, la administración se realizó en sujetos previamente implantados con cánulas dirigidas al ventrículo lateral derecho. Reportaron que la administración de erisotrina (2 y 3 µg/µL) inhibió las convulsiones provocadas por Bicuculina, Pentilenotetrazol y Ácido N-metil-D-aspártico. Por otro lado, en el modelo de Laberinto en Cruz Elevado erisotrina (0.5 µg/µL) aumentó el número de entradas a los brazos abiertos, pero no el tiempo de permanencia en los mismos. Además, no se observaron alteraciones durante la prueba de Campo Abierto. Finalmente, para el ensayo neuroquímico, se demostró que erisotrina (0.001- 10 µg/µL) no alteró la captación sinaptosómica de ^{3}H-glutamato y ^{3}H-GABA.

Bonilla *et al.* (2013), evaluaron en ratones NIH la actividad tóxica, sedante y ansiolítica del extracto acuoso liofilizado de las inflorescencias de *E. berteroana* Urb. La toxicidad del extracto fue valorada vía oral con una dosis límite 2000 mg/kg durante un período de 28 días. El efecto sedante se estimó utilizando la prueba de sueño inducido por Pentobarbital y la actividad ansiolítica se midió con las pruebas de Enterramiento de Esferas, Suelo Agujereado y Laberinto en Cruz Elevado. Para todas las pruebas conductuales se administraron dosis de 100, 200 y 500 mg/kg vía oral. Los resultados mostraron que el liofilizado de inflorescencias de *E. berteroana* no provocó alteraciones serias en el estado de salud de los animales; es decir, que

el extracto no posee efectos sedantes, pero sí una leve actividad ansiolítica no significativa.

Dias *et al.* (2013), evaluaron el efecto neurológico y citotóxico del extracto etanólico de hojas de *E. falcata* Benth. (100, 300 y 500 mg/kg) en ratas Wistar. La actividad conductual fue valorada con los modelos de Campo Abierto y Laberinto en Cruz Elevado. El efecto citotóxico se estimó de acuerdo con el modelo de Comet. Se reportó que la administración intraperitoneal disminuyó el número de cruces y estiramientos; sin embargo, se registró un aumento en la latencia de inicio para la locomoción en la prueba de habituación con el modelo de Campo Abierto. No se reportaron alteraciones durante la exposición al Laberinto en Cruz Elevado. Por otro lado, la administración del extracto no exhibió aumentó en el índice de daño en DNA con muestras de sangre y cerebro, lo que indica un nulo efecto genotóxico. Los autores sugirieron que, al ser evidenciada la afectación motora y exploratoria, además de la ausencia de los efectos relacionados con la ansiedad, es probable que el extracto etanólico de las hojas de *E. falcata* ejerza una posible acción depresora del Sistema Nervioso Central.

Oliveira *et al*. (2014), reportaron que la administración oral a ratas Wistar del extracto hidroalcohólico (30-70) crudo de corteza de tallo de *E. falcata* (250 y 500 mg/kg) o la subfracción butanólica (20-45 mg/kg) mejoraron la adquisición de la memoria del miedo en el modelo de Evitación Inhibitoria. Sin embargo, sujetos tratados con la fracción de flavonoides (0.65 y 0.9 mg/kg) y las flavonas vitexina, isovitexina y 6-C-glucósido-diosmetina (0.1-10 mg/kg) mostraron una reducción gradual en la respuesta de miedo condicionado durante la sesión de evaluación de extinción a las 48h después del condicionamiento. Los autores sugieren que las flavonas aisladas y/o la fracción de flavonoides pueden proporcionar un nuevo enfoque terapéutico para padecimientos cognitivos.

Sarmiento *et al*. (2018), evaluaron el efecto sedante y ansiolítico del extracto metanólico de las hojas de *E. edulis* Triana ex Micheli en ratones Swiss. Reportaron que la administración intraperitoneal de los tratamientos (125, 250 y 500 mg/kg) incrementó el número de cruces en el Test de Campo Abierto y aumentó el número

de entadas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos en el Test de Laberinto en Cruz Elevado, lo que evidencia su efecto ansiolítico. No se observó deterioro de la actividad motora con el modelo de la varilla rotatoria, ni hubo efecto sedante con la prueba de sueño inducido con Pentobarbital. Los autores sugieren que los efectos observados podrían estar mediados por la presencia de alcaloides anteriormente reportados para especies del género *Erythrina*.

Chu *et al.* (2019), estudiaron la actividad antidepresiva y ansiolítica del extracto hidroalcohólico de corteza de *E. variegata* en ratones Kunming. Encontraron que en el modelo de Laberinto en Cruz Elevado las dosis administradas por vía oral de 50, 100 y 200 mg/kg, aumentaron el número de entradas y tiempo de permanencia en los Brazos Abiertos. Así mismo, se incrementó el tiempo de permanencia en el compartimiento iluminado en la prueba de la Caja Luz Oscuridad. En las pruebas de Nado Forzado y Suspensión por Cola el extracto logró prolongar los tiempos de inmovilidad lo que indica su efecto depresor. Los autores sugieren que este efecto se debe principalmente a la alteración en los niveles de los neurotransmisores GABA y glutamato de los sujetos tratados con el extracto.

En 2020 Martins & Brijesh evaluaron en ratones Swiss la actividad antidepresiva del extracto etanólico de *E. variegata* y determinaron el posible mecanismo de acción a través de la regulación de la actividad de la monoaminooxidasa en homogeneizados de cerebro de ratón. Reportando que, la administración oral aguda (50, 100 y 200 mg/kg) y crónica (14 días: 100 y 200 mg/kg) redujo los tiempos de inmovilidad en las pruebas de nado forzado y suspensión por cola. Los autores proponen que el extracto etanólico tiene efecto inhibidor sobre las enzimas MAO (A y B). La MAO-A realiza la degradación de serotonina y noradrenalina, MAO-B está asociada con la eliminación de dopamina.

III.2. Antecedentes experimentales con la especie *Erythrina americana* Miller

En diversos ensayos preclínicos se ha demostrado que *Erythrina americana*, especie endémica de México, tiene efecto sobre el sistema nervioso central.

Garín-Aguilar *et al*. (2000) reportaron que la administración intraperitoneal de 3 mg/kg de las fracciones de alcaloides libres en hexano, alcaloides libres en metanol o la fracción de alcaloides liberados obtenidos de las semillas de *E. americana* disminuyeron la conducta agresiva en ratas en el modelo de aislamiento visual. Dichas respuestas fueron similares a las del fármaco de referencia Diazepam (2 mg/kg). Siguiendo la misma línea de investigación, se reportó que la administración intraperitoneal de 2 mg/kg del alcaloide, aislado de semillas de *E. americana,* β-eritroidina y su hidroderivado, dihidro-β-eritroidina disminuyeron la conducta agresiva (García-Mateos *et al*., 2000).

También existe evidencia del papel que tienen diferentes alcaloides aislados del género *Erythrina* como antagonistas de receptores nicotínicos neuronales implicados en el proceso de aprendizaje y memoria.

Garín-Aguilar *et al*. (2009) administraron a ratas Wistar (implantadas con cánulas dirigidas al hipocampo dorsal) el alcaloide erisodina (1 y 2 μg/μL) y el derivado dihidro-β-eritroidina (2 μg/μL) obtenidos de semillas de *E. americana*. Los autores reportaron un deterioro en la consolidación de la memoria con el modelo de Evitación Inhibitoria y sugieren que estos resultados se pueden explicar en términos del bloqueo que ejercen estos alcaloides sobre los receptores nicotínicos α4β2 y α7 del hipocampo dorsal.

También hay reportes de la actividad tóxica y antioxidante de *E. americana.* García-Mateos *et al* (1999), evaluaron la toxicidad aguda y subcrónica de extractos de *E. americana*. Demostraron que la fracción de alcaloides liberados resultó ser la más tóxica en modelos con *Daphnia magna*, *Artemia salina*, *Bacillus cereus y Panagrellus redivivus*. Los autores atribuyen dicha actividad a los alcaloides erisopina, erisodina y erisovina.

Continuando con la línea de investigación anterior, García-Mateos *et al* (2004), evaluaron el efecto tóxico de las fracciones alcaloideas y de los alcaloides

liberados erisovina y β-eritroidina obtenidos de las semillas de *E. americana* en larvas del mosquito *Culexquinque fasciatus*. Reportaron que la fracción de alcaloides libres mostró alta toxicidad (88% de mortalidad). Por su parte, los resultados de la evaluación insecticida mostraron que erisovina y β-eritroidina causaron 60% de mortalidad y una CL_{50} de 225 y 394 mg/L^{-1}, respectivamente. Los autores concluyeron que el alcaloide β-eritroidina es más tóxico que erisovina.

Finalmente, Ibarra *et al* (2011) utilizando el método del radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) por espectroscopía UV-Visible, determinaron la capacidad antioxidante de las fracciones de alcaloides libres (FAL), libres hexánicos (FALM), libres metanólicos (FALH) y erisodina obtenidos de semillas de *E. americana*. Reportando a la fracción de alcaloides liberados con mayor actividad antioxidante, IC_{50}=0.1593 mg/mL ± 0.0305. Por su parte, para el alcaloide erisodina se reportó una IC_{50}= 0.0212 mg/mL ± 0.008, dato comparable al del referente Ácido ascórbico (0.0068 mg/mL ± 0.0007).

IV. JUSTIFICACIÓN

Como se ha mencionado anteriormente, a nivel global existen reportes científicos sobre el efecto ansiolítico de diversas plantas del género *Erythrina* pertenecientes a diferentes regiones del mundo. Hasta el momento de la revisión bibliográfica, son pocas las investigaciones realizadas con especies endémicas mexicanas. Es importante señalar que para el continente americano se han descrito 70 especies de este género, siendo México el país con mayor número de registros con 27 especies (Neill, 1998). Las investigaciones preclínicas realizadas específicamente con la especie *E. americana* señalan que tiene propiedades antiinflamatorias (Montaño-Reyes, 2016), antimicrobianas (Mata-González), antinociceptivas (Cervantes-Flores, 2016), antiveneno (Colis-Torres, 2017), antioxidantes (Ibarra-Estrada *et al.,* 2018) y en particular, efectos sobre el sistema nervioso central como disminución de la conducta agresiva (Garín-Aguilar *et al*., 2000; García-Mateos *et al*., 2000), actividad antidepresiva (Antonio-Vázquez, 2018) y efecto sobre la consolidación de la memoria (Ruíz-López, 2012). Sin embargo, no existen reportes científicos que sustenten el uso empírico de esta planta en el tratamiento de afecciones relacionadas con trastornos de ansiedad, por lo que es necesario explorar, comprender y profundizar la actividad ansiolítica de *E. americana*.

V. PREGUNTA CIENTÍFICA

¿El extracto metanólico de semillas desengrasadas de *Erythrina americana* Miller tendrá efecto ansiolítico?

VI. HIPÓTESIS

Hallazgos experimentales han evidenciado el potencial ansiolítico de diversos extractos de plantas del género *Erythrina*. Dado que, la especie endémica *Erythrina americana* Mill es reconocida en la medicina tradicional mexicana por sus propiedades tranquilizantes y en investigaciones preclínicas ha demostrado tener efecto sobre el sistema nervioso central, es probable que el extracto metanólico de semillas de esta especie presente un efecto ansiolítico, por tal motivo para este estudio se planteó el siguiente objetivo.

VII. OBJETIVOS

VII.1. Objetivo general

Evaluar el efecto ansiolítico del extracto metanólico de semillas desengrasadas de *Erythrina americana* Miller.

VII.2. Objetivos particulares

- Obtener el extracto metanólico crudo de semillas desengrasadas de *Erythrina americana*.
- Detectar cualitativamente la presencia de metabolitos secundarios en el extracto metanólico de semillas de *Erythrina americana*.
- Determinar por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides, terpenoides y alcaloides en el extracto metanólico de semillas de *Erythrina americana*.
- Evaluar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de semillas de *Erythrina americana* por medio de la reducción del radical 2,2-Difenil-1-Picrilhidracilo (DPPH).
- Determinar la toxicidad aguda (LD_{50}) del extracto metanólico de semillas de *Erythrina americana*.
- Evaluar la actividad ansiolítica del extracto metanólico de semillas de *Erythrina americana* utilizando el modelo de Laberinto en Cruz Elevado (EPMT).
- Evaluar la actividad motora del extracto metanólico de semillas de *Erythrina americana* utilizando el modelo de Campo Abierto (OFT).

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

VIII.1. Material Vegetal

Las semillas de *Erythrina americana* Miller Fabaceae, fueron obtenidas en la Alcaldía Gustavo A. Madero, Ciudad de México. La colecta y el procesamiento de los ejemplares botánicos se realizó siguiendo los lineamientos propuestos por Lot & Chiang (1986). El material y los datos de colecta correspondientes fueron depositados en el herbario IZTA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala donde se realizó la determinación taxonómica.

VIII.1.1. Extracción

Las semillas, secas y trituradas (500 g) se extrajeron sucesivamente por reflujo con hexano y posteriormente con metanol. Los extractos crudos **hexánico** (ExtoHx) y **metanólico** (ExtoMeOH) se obtuvieron mediante la eliminación de los disolventes a vacío (40°C). El ExtoMeOH de semillas desengrasadas de *Erythrina americana* se almacenó en viales color ámbar para los ensayos posteriores.

VIII.1.2. Ensayo fitoquímico

VIII.1.2.1. Detección cualitativa de metabolitos secundarios

El análisis preliminar fitoquímico para la detección de compuestos presentes en ExtoMeOH se realizó siguiendo el método descrito en el Manual de Prácticas de Productos Naturales (Valencia & Garín, 2010):

- Alcaloides. - Reactivo de Dragendorff, reactivo de Sonnenschein.
- Flavonoides. - Reactivo de Shinoda, reacción con hidróxido de sodio.
- Glucósidos cianogénicos. - Reactivo de Grignard.
- Azúcares reductores. - Reactivo de Fehling.
- Saponinas. - Reactivo de Rosenthaler.
- Taninos. - Reactivo de gelatina, reacción con cloruro férrico, reacción con ferrocianuro de potasio 1%.
- Quinonas. - Reacción con hidróxido de amonio, reacción con ácido sulfúrico.
- Cumarinas. - Reacción de Erlich, reacción con hidróxido de amonio.
- Glucósidos cardiacos. - Reacción de Legal, reacción de Baljet.

- Sesquiterpenlactonas. - Reacción con hidróxido férrico.

VIII.1.2.2. Cromatografía líquida de alta resolución (*High Performance Liquid Chromatography*: HPLC)

Para la identificación de ácidos fenólicos, alcaloides, flavonoides y terpenoides se utilizó un cromatógrafo de líquidos Hewlett Packard® serie 1100, equipado con un inyector automático (Agilent®, Serie 1200 Mod. G1329A) y un detector de arreglo de diodos Hewlett Packard® serie 1100.

VIII.1.2.2.1. Preparación de la muestra

Para la cuantificación de ácidos fenólicos, flavonoides y terpenoides: se pesaron 0.008 g de ExtoMeOH. Con respecto a la determinación de alcaloides, se colocaron 0.0206 g de la fracción de alcaloides libres en metanol (FALM) y 0.0259 g de la fracción de alcaloides liberados por hidrólisis ácida (FALH), ambas obtenidas de ExtoMeOH. Todas las muestras se disolvieron en metanol grado HPLC y se incubaron a 60°C en baño de agua por 1 h. Posteriormente, el contenido fue filtrado utilizando Acrodiscos PVDF 0.45 mm y colocado en viales ámbar; se mantuvieron en refrigeración hasta su uso.

VIII.1.2.2.2. Ácidos fenólicos

El análisis se llevó a cabo utilizando una columna Nucleosil C18 (5 mm, 4 mm x 125 mm, 100 A˚), mientras que el detector de arreglo de diodos se configuró para operar a una longitud de onda de 280 nm. La fase móvil consistió en una mezcla de soluciones, A (H_2O con ácido trifluoroacético, pH 2.5) y B (Acetonitrilo). El sistema de gradiente operó: 0 min (A= 85%, B=15%); 20 min (A=65%, B=35%); 23 minutos (A=65%, B=35%). El método cromatográfico tuvo un tiempo de ejecución de 25 min (velocidad de flujo= 1 mL/min). El volumen de inyección fue de 20 µL. Los estándares que se utilizaron fueron: ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido siríngico, ácido vainillínico, ácido ρ-cumárico y ácido ρ-hidroxibenzóico.

VIII.1.2.2.3. Flavonoides

El análisis se realizó en una columna Hypersil ODS (5 mm, 4 mm x 125 mm, 100 A˚), el detector de arreglo de diodos se configuró a tres longitudes de onda diferentes: 254, 316 y 365 nm. La fase móvil estuvo compuesta de una mezcla de soluciones, A (H_2O con ácido trifluoroacético, pH 2.5) y B (Acetonitrilo). El sistema de gradiente operó: 0 min (A= 85%, B=15%); 20 min (A=65%, B=35%); 25 minutos (A=65%, B=35%). El método cromatográfico tuvo un tiempo de ejecución de 25 min (velocidad de flujo= 1 mL/min). El volumen de inyección fue de 20 µL. En este análisis se consideraron los siguientes estándares: apigenina, floretina, florizina, galangina, miricetina, naringenina, quercetina y rutina.

VIII.1.2.2.4. Terpenoides

La cromatografía se realizó en una columna Zorbax Eclipse XDB C-8 (5 mm, 4 mm x 125 mm), las longitudes a las que se ajustó el detector de arreglo de diodos fueron 215 y 220 nm. La fase móvil consistió en una mezcla de soluciones, A (Acetonitrilo) y B (H_2O). El sistema de gradiente operó con flujo constante (A= 80%, B=20%). El análisis tuvo un tiempo de ejecución de 25 min (velocidad de flujo= 1mL/min). Volumen total de inyección fue de 20 µL. Los estándares empleados para este análisis fueron: ácido oleanólico, ácido ursólico, carnosol, estigmasterol, α-amirina y β-sitosterol.

VIII.1.2.2.5. Alcaloides

El método cromatográfico se llevó a cabo en una columna Lichrosorb RP-18 (5 mm, 4.7 mm x 250 mm, 100 A˚), para este análisis el detector de arreglo de diodos fue configurado a una longitud de onda de 230 nm. La fase móvil consistió en una mezcla de soluciones: A (0.1% Acetato de amonio), B (Metanol) y C (Acetonitrilo). El sistema de gradiente funcionó de la siguiente manera: 0 min (A=75%, B=20%, C=5%); 10 min (A=50%, B=45%, C=5%); 15 min (A=50%, B=45%, C=5%). La duración total del análisis fue de 25 minutos, con una velocidad de flujo de 1 mL/min. Se inyectó un volumen de 2.5 µL.

VIII.1.2.3. Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de ExtoMeOH se determinó siguiendo el método de reducción del radical libre 2,2-Difenil-1-Picrilhidracil (DPPH) descrito por Antolovich *et al.* (2002) con ligeras modificaciones. Se elaboró una solución estándar de DPPH en metanol al 80% grado HPLC ($6x10^{-5}$ M). Posterior, se construyó una curva de calibración a partir de la medición de la absorbancia de una solución estándar de ácido ascórbico (0.24 mg/mL) en presencia del radical DPPH. La absorbancia inicial se midió a 515 nm.

Para la preparación de ExtoMeOH se tomaron 10 mg que posteriormente se disolvieron en 1 mL de H_2O, se tomaron alícuotas con los volúmenes indicados en el **Cuadro 3**.

Cuadro 3. Volúmenes contenidos en tubos problema para prueba de capacidad antioxidante.

Tubo	ExtoMeOH (µL)	H2O desionizada (µL)	DPPH $6x10^{-5}$ (µL)	Volumen final (µL)
1	5	95	2000	2100
2	10	90	2000	2100
3	20	80	2000	2100
4	40	60	2000	2100
5	50	50	2000	2100
6	100	0	2000	2100

VIII.5. Evaluación farmacológica

VIII.5.1. Sujetos de estudio

Ratones macho ICR (CD-1) (25-35 g) procedentes del Bioterio de la FES Iztacala UNAM se trasladaron al Laboratorio de Farmacobiología. Los sujetos fueron alojados en cajas individuales y mantenidos en condiciones controladas de luz-oscuridad (12/12 h), temperatura (21±2°C), con acceso de comida y agua *ad libitum* excepto una hora antes y durante los experimentos.

El manejo de los animales se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM 062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio; y los lineamientos éticos en el cuidado y uso de animales no humanos en la investigación: Guidelines for Ethical Conduct in the Care and Use of Non human Animals in Research (APA, 2012).

VIII.5.2. Toxicidad aguda (LD_{50})

Se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Lorke (1983) que consta de dos partes desarrolladas en un periodo de 48 horas; la segunda fase es dependiente del resultado de la primera.

Para la preparación de los tratamientos fue indispensable la determinación del vehículo, se indagó en sustancias con reportes de baja o nula toxicidad, es decir; que no interfirieran con el desarrollo de la prueba. Para todos los casos se utilizó solución salina al 0.9% como vehículo de ExtoMeOH.

- Etapa 1: Grupos independientes de ratones (n=3) fueron administrados vía oral con dosis de 10,100 ó 1000 mg/kg de ExtoMeOH, realizándose el registro de mortalidad por 24 horas.
- Etapa 2: La selección de las dosis se estableció según los resultados obtenidos en la primera etapa; se requiere únicamente un sujeto por dosis. Al igual que en la fase anterior, las observaciones se llevaron a cabo por 24 horas.

Cuadro 4. Etapas del método de Lorke (1983); dosis administradas y número de muertes vs número total de sujetos por dosis.

1° Etapa Dosis mg/kg			**2° Etapa Dosis mg/kg**			
10	**100**	**1000**				
0/3*	0/3	0/3		1600	2900	5000
0/3	0/3	1/3	600	1000**	1600	2900
0/3	0/3	2/3	200	400	800	1600
0/3	0/3	3/3	140	225	370	600
0/3	1/3	3/3	50	100**	200	400
0/3	2/3	3/3	20	40	80	160
0/3	3/3	3/3	15	25	40	60
1/3	3/3	3/3	5	10**	20	40
2/3	3/3	3/3	2	4	8	16
3/3	3/3	3/3	1	2	4	8

El cálculo de la LD_{50} se obtiene a partir de la media geométrica entre la dosis máxima administrada con sobrevivencia y la dosis mínima que produjo mortalidad.

$$\bar{X}g = \sqrt[n]{X_1.X_2}$$

X_1 = Dosis máxima con sobrevivencia

X_2 = Dosis mínima con mortalidad

VIII.5.3. Laberinto en Cruz Elevado (*Elevated Plus Maze Test:* EPMT)

VIII.5.3.1. Descripción del Aparato

El Laberinto en Cruz Elevado está fabricado de plexiglás blanco y consta de dos brazos abiertos lineales (BA) (30 cm x 5.5 cm) y dos cerrados (BC) (30 cm x 5.5 cm) en posición perpendicular a los brazos abiertos. Las paredes de los **BA** tienen una altura de 2 cm y las de los **BC** 15.5 cm. El laberinto está elevado a 45 cm del piso y ubicado en una habitación con una lámpara de luz blanca de 30 W colocada en la parte superior y al centro de este. También, al centro del aparato y por debajo de la lámpara, se instaló una cámara de video (Canon FPS100) con la que se realizó la grabación de los parámetros espaciotemporales y etológicos durante la prueba.

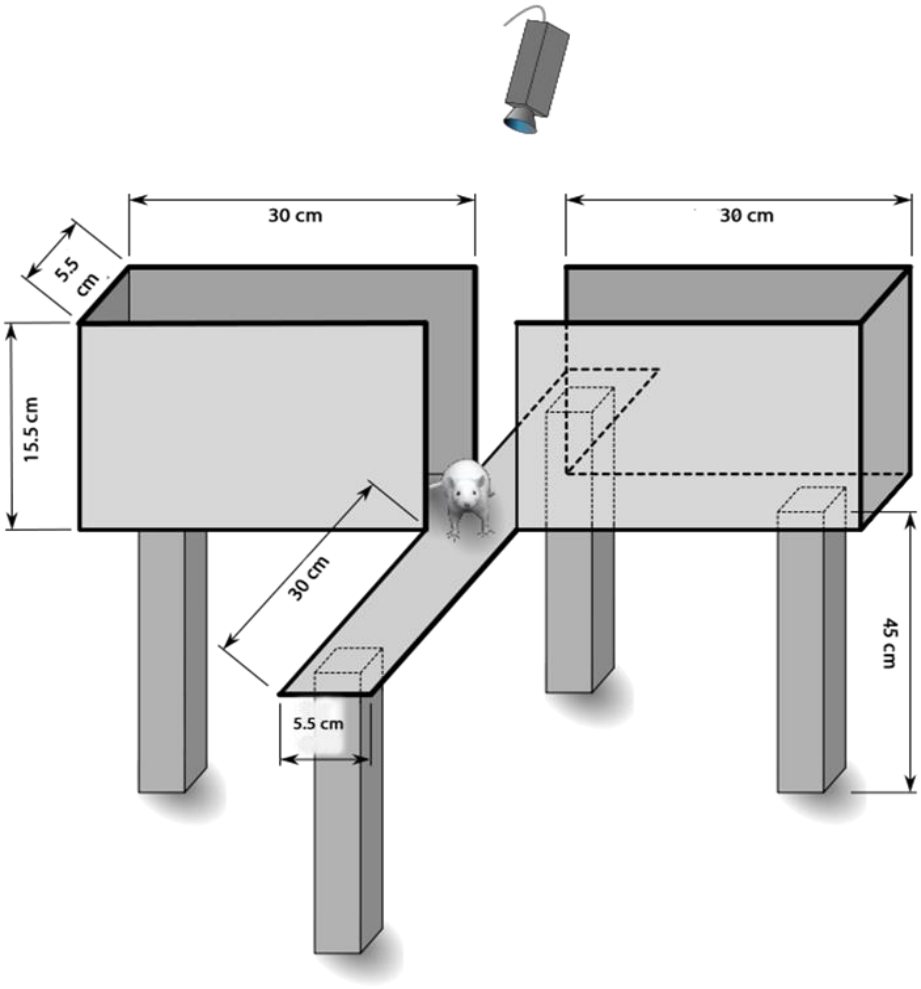

Figura 2. Esquema del aparato usado en la prueba Laberinto en Cruz Elevado (Elevated Plus Maze) (Modificado de Nelson, 2002).

VIII.5.3.2. Procedimiento

El ensayo de ansiedad se realizó de acuerdo con el método descrito por Pellow *et al*. (1985), con ligeras modificaciones. Se permitió la adaptación de los animales al entorno del laboratorio (2 semanas) antes de iniciar los estudios conductuales, mismos que se realizaron en una habitación libre de ruidos y con iluminación controlada en un horario de 8:00-17:00 h.

Grupos independientes de ratones (n=9) se les administró por vía intragástrica: ExtoMeOH (10, 20, 40, 60 ó 80 mg/kg) o vehículo (solución salina 0.9%; **VEH**); por su parte, el fármaco de referencia **DZP** (1.0 mg/kg) se administró por vía intraperitoneal. Un grupo adicional de sujetos fue probado en el laberinto sin recibir tratamiento (intacto: **INT**). Una hora después de la administración de las dosis de ExtoMeOH y vehículo o treinta minutos después de la administración de DZP cada animal fue colocado en el centro del laberinto frente a uno de los brazos abiertos realizándose registro durante 5 minutos.

Los parámetros considerados durante el ensayo fueron:

- Espaciotemporales: Número de entradas en los brazos abiertos, número de entradas en los brazos cerrados, número total de entradas en ambos brazos, tiempo de permanencia en los brazos abiertos, tiempo de permanencia en los brazos cerrados y tiempo de permanencia en el centro del aparato (Handley & Mithani, 1984; Lister, 1987).

Para todos los casos, se registró como entrada cuando el sujeto coloca las 4 patas dentro de un brazo o centro del aparato.

Los efectos ansiolíticos son indicados por el incremento en la frecuencia de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos, aumento en la exploración y distribución espacial no protegida; descenso en las conductas de riesgo como postura erguida y vuelta o regreso al brazo cerrado, y una reducción del tiempo de permanencia en los brazos cerrados y centro del aparato. Por otro lado, se observan efectos ansiogénicos cuando se presenta la disminución en el número de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos, así como la

presencia y aumento constante de conductas de riesgo. Conductas como el auto-aseo, olfateo, distribución espacial protegida, defecación, latencia, vuelta o regreso al brazo cerrado son considerados patrones generales de actividad (Handley & Mithani, 1984; Pellow *et al*., 1986; Lister, 1987; Cárdenas & Navarro, 2002; Rodgers & Johnson, 1995).

Después de cada prueba, el laberinto fue limpiado cuidadosamente con una solución de etanol al 30%. Todas las sesiones fueron videograbadas.

VIII.5.4. Campo Abierto (*Open Field Test:* OFT)

Esta evaluación se realizó con la finalidad de descartar posibles implicaciones en la actividad motora ocasionados por los tratamientos y/o la exposición al aparato en los sujetos.

VIII.5.4.1. Descripción del Aparato

El Campo Abierto es una caja fabricada en madera blanca con una superficie rectangular (44 x 33 x 30 cm) delimitada por muros que impiden el escape de los sujetos. En su base cuenta con líneas guía que delimitan cierto número de cuadrantes (12). El aparato fue ubicado en una habitación con una lámpara de luz blanca de 30 W colocada al centro de este. Al centro del aparato y por debajo de la lámpara, se instaló la cámara de video.

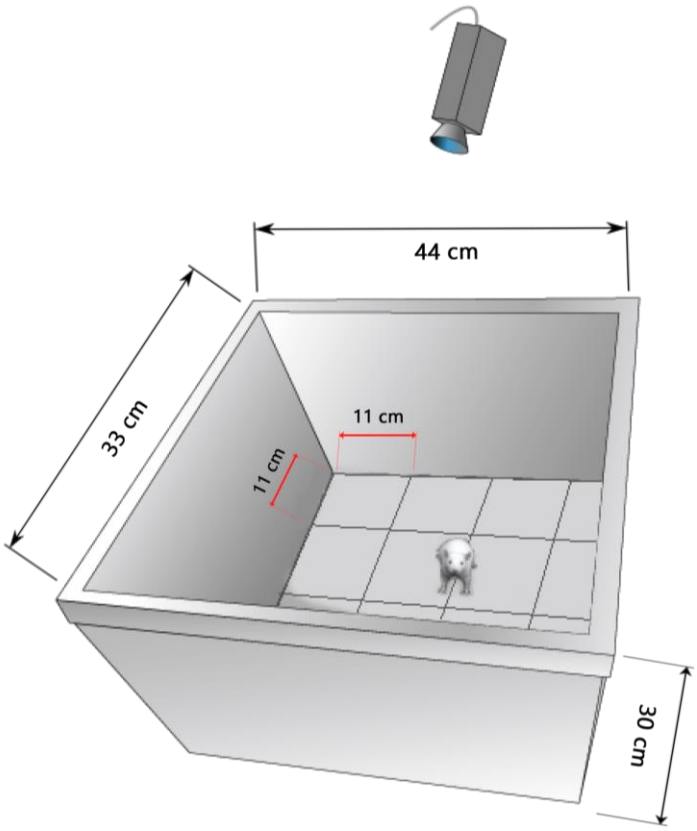

Figura 3. Esquema del aparato usado en el Test de Campo Abierto (Open Field) (Elaborado por Bárcenas-Correa).

VIII.5.4.2. Procedimiento

El ensayo de Campo Abierto se realizó de acuerdo con el método, ligeramente modificado, descrito por Hall (1934). Antes de iniciar todos los estudios conductuales, se permitió la adaptación de los sujetos al entorno del laboratorio (2 semanas). Los experimentos se llevaron a cabo en una zona libre de ruidos, con iluminación controlada y en un horario de 8:00-17:00 h. A grupos independientes de ratones (n=9) se les administró por vía intragástrica: ExtoMeOH (10, 20, 40, 60 ó 80 mg/kg) o vehículo (solución salina 0.9% **VEH**); mientras qué, el fármaco de referencia **DZP** (1.0 mg/kg) se administró por vía intraperitoneal. Un grupo adicional de sujetos fue probado en el laberinto sin recibir tratamiento (**INT**). Una hora después de la administración de las dosis de ExtoMeOH y vehículo o treinta minutos después de la administración de DZP cada animal fue colocado en el centro del aparato realizándose registro durante 5 minutos.

Durante el ensayo se reconocen los siguientes parámetros:

- Espaciotemporales: Número de cruces y estiramientos con soporte y sin soporte a la pared.

Se registró como cruce el momento en que el sujeto colocó las 4 patas dentro de uno de los 12 cuadrantes del aparato. Al término de cada prueba, se realizó la limpieza del aparato haciendo uso de una solución de etanol al 30%. Cada sesión fue videograbada.

VIII.5.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos durante la determinación de la capacidad antioxidante fueron procesados por regresión Probit para la estimación de la IC_{50}. Los valores experimentales obtenidos en los ensayos conductuales se expresaron como la media ± el error estándar. Las diferencias significativas entre los tratamientos se identificaron mediante ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Duncan con $p \leq 0.05$.

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IX.1. Material vegetal

IX.1.1. Datos de herbario de la planta *E. americana*

El material vegetal fue colectado en los alrededores de la Alcaldía Gustavo A. Madero dentro de la Ciudad de México, se identificó en el herbario IZTA de la FES-Iztacala donde se depositó un ejemplar como aval de esta investigación (**Figura 4** y **Cuadro 5**). Esta especie es utilizada ampliamente como árbol ornamental, además de proporcionar sombra y materia orgánica a los cultivos La distribución de *E. americana* incluye la zona centro del país (García-Mateos *et al*., 2001; Flores, 2002; CONABIO, 2023).

Cuadro 5. Datos de herbario de *Erythrina americana*.

Nombre común	**Colorín**
Especie	***Erythrina americana* Mill.**
Familia	**Fabaceae**
Número de registro	**2515**

Figura 4. Ejemplar de *Erythrina americana* Mill. depositado en el Herbario IZTA.

IX.1.2. Rendimiento de los extractos

La selección de las semillas como parte vegetal para la obtención del ExtoMeOH se basó en los estudios previos realizados por García-Mateos *et al*. (1999) y en los reportes farmacológicos de Garín-Aguilar *et al.* (2000 y 2009). En dichos trabajos se señala el efecto que tienen fracciones y metabolitos aislados de las semillas de *E. americana* sobre el sistema nervioso central.

Las semillas son el órgano vegetal más utilizado en investigaciones preclínicas realizadas con especies del género *Erythrina*. Además, esta parte de la planta es la principal fuente para el aislamiento de metabolitos secundarios (Pino-Rodríguez *et al*., 2004).

A partir de 400 g de semillas molidas de *E. americana* se obtuvieron 60.43 g de extracto hexánico y 72.61 g de extracto metanólico libre de grasas (**Cuadro 6**). Es importante mencionar que el rendimiento del ExtoHx (15.11%) fue menor en comparación con el reportado para el ExtoMeOH (18.15%). El rendimiento superior obtenido con metanol en la extracción de las semillas de *E. americana* podría explicarse por varias razones respaldadas por Taborda *et al*. (2018). En una extracción sucesiva en Soxhlet, el metanol es capaz de extraer eficazmente los componentes polares que no son arrastrados por el hexano. Asimismo, el metanol por su polaridad puede extraer el remanente de lípidos después de la extracción hexánica. Esto contribuye al aumento en la cantidad de material extraído, lo que resulta en un rendimiento superior en la extracción.

Cuadro 6. Rendimiento de los extractos obtenidos de *E. americana.*

Muestra	Parte utilizada	Material vegetal (g)	Extracto	Rendimiento (g)	Rendimiento (%)
Erythrina americana	Semillas	400	Hexánico	60.43	15.11
			Metanólico	72.61	18.15

IX.1.3. Detección cualitativa de metabolitos secundarios

El análisis fitoquímico del ExtoMeOH reveló la presencia de compuestos detectados a través de pruebas coloridas. Estos compuestos incluyen alcaloides, flavonoides (auronas y chalconas), azúcares reductores, saponinas triterpenoides, taninos derivados de ácido gálico, compuestos fenólicos, quinonas y glucósidos cardíacos como se detalla en el **Cuadro 7**.

Esta diversidad de compuestos químicos identificados en el extracto metanólico está respaldada por investigaciones previas con especies de *Erythrina*. Jesupillai *et al*. (2008), reportaron la presencia de flavonoides y glucósidos en el extracto etanólico de hojas de *E. indica*. Por otro lado, Carvalho *et al*. (2009) identificaron una amplia variedad de compuestos que incluyen, alcaloides, catequinas, esteroides, flavonoles, flavonoides, fenoles, saponinas, taninos, triterpenoides y xantonas en el extracto acuoso de hojas de *E. velutina*.

Por su parte, Tanaka *et al*. (2001), encontraron isoflavonoides y varios alcaloides del tipo erytriniano en la madera de *E. poeppigiana.* En otro estudio, Etcheverry *et al.* (2003) describieron la presencia de alcaloides en los extractos polares hidroalcóholico y metanólico de las partes aéreas de *E. crista-galli*. Se ha reportado que los alcaloides son las sustancias activas predominantes en especies del género *Erythrina* (Folkers & Major, 1937; Pino-Rodríguez *et al*., 2004).

Los resultados de este estudio y los de las investigaciones experimentales mencionadas, indican la presencia de una rica y variada composición química de sustancias de interés biológico y farmacológico en las especies del género *Erythrina* incluido el extracto metanólico de las semillas de *E. americana*.

Cuadro 7. Resultados del análisis preliminar fitoquímico del extracto metanólico de las semillas de *Erythrina americana.*

Metabolito	Reactivo	Presencia/Ausencia
Alcaloides	Reactivo de Dragendorff	**+++**
	Reactivo de Sonnenschein	**–**
Flavonoides	Reactivo de Shinoda	**++** Auronas
	Reacción con hidróxido de sodio	**++** Chalconas
Glucósidos cianogénicos	Reactivo de Grignard	**–**
Azúcares reductores	Reactivo de Fehling	**+**
Saponinas	Reactivo de Rosenthaler	**++** Triterpenoides
Taninos	Reactivo de gelatina	**–**
	Reacción con cloruro férrico	**+++** Derivados de ácido gálico
	Reacción con ferrocianuro de potasio	**++** Compuestos fenólicos
Quinonas	Reacción con hidróxido de amonio	**–**
	Reacción con ácido sulfúrico	**+++** Antraquinonas
Cumarinas	Reacción de Erlich	**–**
Glucósidos cardiacos	Reactivo de Piridina	**++**
	Reactivo de Baljet	**++**

Nota: + Presencia escaza, **++** Presencia relativamente abundante, **+++** Presencia abundante, **-** No detectado.

IX.1.4. Cromatografía líquida de alta resolución

IX.1.4.1. Ácidos fenólicos

El análisis por HPLC del ExtoMeOH reveló la presencia de diversos ácidos fenólicos. Estos compuestos incluyen: ácido gálico, ácido clorgénico, ácido vainillínico, ácido ρ-hidroxibenzóico, ácido caféico, ácido ρ-cumárico, como se muestra en la **Figura 5**. De estos compuestos, se destaca la presencia del ácido clorogénico como el más abundante, con una concentración de 22.60 µg por miligramo de extracto metanólico (µg/mg ExtoMeOH), seguido del ácido cafeico con una cantidad de 10.01 µg/mg ExtoMeOH y el ácido ρ-hidroxibenzóico con una concentración de 3.04 µg/mg ExtoMeOH (**Cuadro 8**).

Cuadro 8. Análisis cuantitativo de los ácidos fenólicos presentes en ExtoMeOH.

Estándar	[µg] **Ác. fenólicos** en 1 mg de Exto. MeOH de Semillas de *E. americana*	[µg] **Ác. fenólicos** en 1 g Semillas de *E. americana*	Tiempo de retención (min)	Área [mAU*s]
Ác. gálico	2.5104	0.4557	2.1923	320.4631
Ác. clorogénico	22.6031	4.1030	4.2783	376.7894
Ác. vainillínico	1.7096	0.3103	5.3113	113.9506
Ác. ρ-hidroxibenzóico	3.0362	0.5511	5.8317	301.3913
Ác. cafeico	10.0091	1.8169	6.5003	496.2395
Ác. ρ-cumárico	0.2909	0.0528	9.7630	38.4830

La presencia de estos ácidos fenólicos en el ExtoMeOH cobra relevancia ya que existen reportes previos sobre la actividad ansiolítica de estos compuestos y su posible mecanismo de acción. Estos informes respaldan la exploración de los efectos ansiolíticos de los ácidos fenólicos y sus aplicaciones potenciales en la investigación de la ansiedad y el sistema nervioso central.

Bouayed *et al*. (2007) encontraron que la administración aguda de 20 mg/kg de ácido clorogénico en ratones suizos, produjo un aumento significativo en el número de entradas y el tiempo de permanencia a los Brazos Abiertos durante la prueba de Laberinto en Cruz Elevado Este efecto ansiolítico fue bloqueado por el fármaco Flumazenil, lo que sugiere que la reducción de la ansiedad mediada por el

ácido clorogénico podría estar relacionada con la activación del receptor de benzodiazepinas. Además, el ácido clorogénico protegió *in vitro* a granulocitos sometidos a estrés oxidativo provocado con especies reactivas de oxígeno.

Por su parte, Pereira *et al*. (2006) utilizando ratas Wistar, reportaron que la administración intraperitoneal de 1 mg/kg de ácido cafeico aumentó el número de entradas y el tiempo dedicado en los brazos abiertos del Laberinto en Cruz Elevado. Estos resultados indican un efecto ansiolítico de dosis bajas de ácido cafeico, sin aparentes efectos adversos en la locomoción y exploración de las ratas, tal y como se evidenció en la prueba del Campo Abierto. Los autores sugirieron que este efecto ansiolítico podría estar relacionado con la modulación indirecta del sistema de receptores adrenérgicos α1A y la modulación directa de un sistema de segundo mensajero que actúa a través de receptores de glutamato o receptores GABAérgicos.

En un estudio realizado a cabo por Khan *et al*. (2015), se observó que la administración crónica por vía oral del ácido ρ-hidroxibenzóico a una dosis de 5 mg/kg en ratas Wistar, no produjo un efecto ansiolítico significativo en la prueba del Laberinto en Cruz Elevado. En contraste, se reportó que el isómero ácido 2-hidroxibenzóico, así como su presentación comercial Aspirina, mostraron un efecto ansiolítico similar al fármaco Diazepam. Estos resultados resaltan las diferencias en el efecto ansiolítico que pueden presentar diferentes isómeros del ácido hidroxibenzóico y sugieren la posibilidad de que algunas variantes de este compuesto puedan tener un potencial terapéutico en la reducción de la ansiedad.

Por otro lado, en el ExtoMeOH además de los ácidos fenólicos previamente mencionados, también fueron identificados otros compuestos ácidos, aunque en concentraciones menores. Entre ellos se encuentran el ácido gálico (2.5104 µg/mg ExtoMeOH), el ácido vainillínico (1.7096 µg/mg ExtoMeOH) y el ácido ρ-cumárico en (0.2909 µg/mg ExtoMeOH). Algunos de ellos cuentan con reportes previos que sugieren que podrían estar relacionados con la actividad ansiolítica.

De acuerdo con Mansouri *et al*. (2014) en ratas Wistar, se observó que la administración aguda del ácido gálico en dosis de 30 y 300 mg/kg por vía

intraperitoneal, generó un marcado aumento en el tiempo de permanencia y entradas a los Brazos Abiertos del Laberinto en Cruz Elevado. Este efecto fue comparable con los datos obtenidos con los fármacos Diazepam (1 mg/kg) y Buspirona (1 mg/kg). Para dilucidar el posible mecanismo de acción del ácido gálico, los autores también utilizaron el antagonista de Benzodiazepinas Flumazenil y el antagonista WAY-100635 del receptor 5-HT1$_A$. Los resultados sugieren que la actividad ansiolítica del ácido gálico está mediada principalmente por los receptores 5-HT1$_A$ pero no por los receptores de benzodiazepinas.

Khoshnam *et al*. (2018) reportaron que el ácido vainillínico presentó efecto ansiolítico en la prueba de Laberinto en Cruz Elevado y mejoró los signos sensomotores durante su exposición al Campo Abierto en ratas previamente sometidas a oclusión transitoria bilateral de la arteria carótida común. Este procedimiento se utiliza para inducir comportamientos de ansiedad y déficits neurológicos mediante la hipoperfusión cerebral. Los autores sugieren que el ácido vainillínico podría ser un agente de pretratamiento prometedor en la hipoperfusión cerebral.

Scheepens *et al*. (2014) observaron que la administración oral a ratas Wistar de dosis de 30 y 90 mg/kg de ácido ρ-cumárico generó un efecto que fue comparable al obtenido con el fármaco Diazepam en la prueba del Laberinto en Cruz Elevado. Para comprender mejor el mecanismo subyacente de este efecto ansiolítico, realizaron un ensayo *in vitro* donde encontraron que el ácido ρ-cumárico actúa como un agonista del receptor GABA.

Esta revisión bibliográfica, permite contextualizar a los ácidos fenólicos identificados en el ExtoMeOH en términos de su relevancia en investigaciones científicas previas, respaldando así la posible contribución de estos compuestos en la propiedad ansiolítica observada en este estudio.

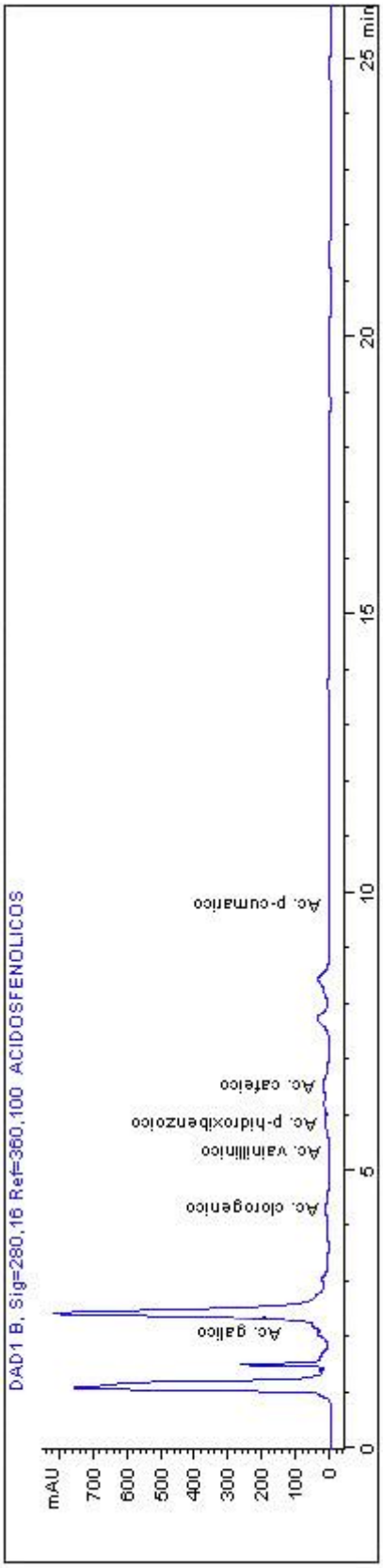

Figura 5. Cromatograma de HPLC de Ácidos Fenólicos realizado al ExtoMeOH

IX.1.4.2. Flavonoides

En el extracto metanólico (ExtoMeOH) se identificaron varios flavonoides, incluyendo apigenina, florizidina, miricetina, naringenina y floretina (**Cuadro 9 y Figura 6**). De estos flavonoides, se destacaron por su abundancia la miricetina, con una concentración de 399.23 µg/mg ExtoMeOH, seguida de la naringenina con una cantidad de 105.21 µg/mg ExtoMeOH y la florizidina con 20.82 µg/mg ExtoMeOH.

Cuadro 9. Análisis cuantitativo de los flavonoides presentes en ExtoMeOH.

Estándar	[µg] **Flavonoides** en 1 g de Exto. MeOH de Semillas de *E. americana*	[µg] **Flavonoides** en 1 g Semillas de *E. americana*	Tiempo de retención (min)	Área [mAU*s]
Apigenina	1.0667	0.1936	14.6447	82.6874
Floretina	6.5193	1.1834	13.0613	77.4512
Florizidina	20.8157	3.7786	7.0050	144.6921
Miricetina	399.2322	72.4706	7.9627	5053.4326
Naringenina	105.2113	19.0985	12.1027	330.5745

Se han realizado investigaciones previas que sugieren efectos ansiolíticos de estos flavonoides. En un trabajo realizado por Vissiennon *et al.* (2012) reportaron que la administración oral e intraperitoneal de miricetina aumentó el número y tiempo de permanencia a los brazos abiertos en ratones C57BL/6 expuestos al Laberinto en Cruz Elevado. Sin embargo, este efecto no fue estadísticamente significativo en comparación con el fármaco de referencia Diazepam. En contraste, sus isómeros kaempferol y quercetina administrados por vía oral en dosis de 0.5 y 1 mg/kg, sí presentaron un efecto similar al del fármaco de referencia. No obstante, la administración oral de 2 mg/kg de ambos flavonoides disminuyó su efecto ansiolítico, indicando una actividad en forma de U invertida. Los autores sugieren, que los flavonoides actúan como precursores de metabolitos activos, es decir, funcionan como profármacos que deben someterse previamente a un proceso metabólico para mostrar su actividad biológica.

Por su parte, en un estudio realizado por Olugbemide *et al*. (2021) se encontró que la administración oral de naringenina en dosis de 25-50 mg/kg mejoró la hipolocomoción y los comportamientos similares a la depresión y la ansiedad en

ratones previamente sometidos a estrés por hipoxia. Para comprender mejor el mecanismo subyacente, los autores informaron que la naringenina redujo el aumento de las expresiones de iNOS (óxido nítrico sintasa inducible) y NF-kB (factor nuclear kappa B), así como la pérdida de células neuronales en la amígdala. Estos hallazgos sugieren que la naringenina modula las agresiones oxidoinflamatorias y las expresiones de NF-kB/BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro).

Otro compuesto identificado por HPLC fue la florizidina con una concentración de 20.82 µg/mg ExtoMeOH. La florizidina se describe como un derivado glucosídico de la floretina (Kumar *et al*. 2019), un flavonoide también identificado en el ExtoMeOH con una cantidad de 6.52 µg/mg ExtoMeOH. Hasta el momento de la revisión bibliográfica, no existen informes que evalúen los posibles efectos ansiolíticos de ambos flavonoides. Sin embargo, se ha demostrado que la administración intraperitoneal de floretina, presenta actividades nootrópicas neuroprotectoras y neurotróficas en ratones con amnesia inducida con Escopolamina (Ghumatkar *et al*., 2015).

Finalmente, para completar la descripción de los flavonoides presentes en el extracto metanólico, se identificó la apigenina en una concentración de 1.07 µg/mg ExtoMeOH. En estudio llevado a cabo por Kumar & Sharma (2006) se evidenció que la administración de apigenina, aislada de la planta *Turnera aphrodisiaca* Ward, a una dosis de 2 mg/kg por vía oral, mostró un efecto ansiolítico en la prueba del Laberinto en Cruz Elevado.

Las investigaciones previas reportadas con los flavonoides identificados por HPLC en el ExtoMeOH respaldan la posible contribución de estos compuestos a la propiedad ansiolítica reportada en este estudio.

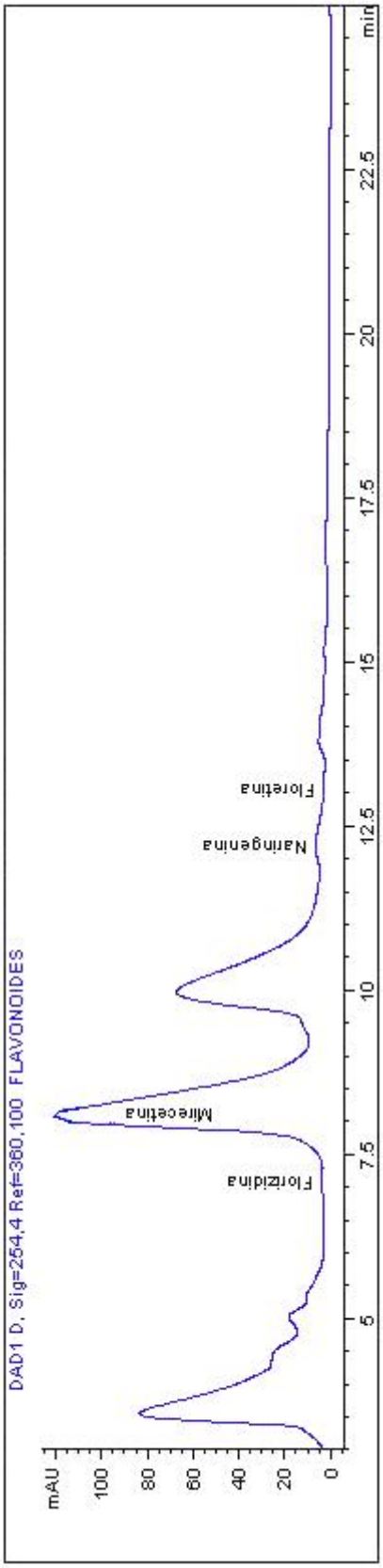

Figura 6. Cromatograma de HPLC de Flavonoides realizado al ExtoMeOH.

IX.1.4.3. Terpenoides

El análisis por HPLC detectó los terpenoides: ácido ursólico, carnosol, estigmasterol, α-amirina y β-sitosterol, tal y como se muestra en la **Figura 7.** Los terpeneoides más abundantes en el ExtoMeOH fueron α-amirina 34.51 µg/mg ExtoMeOH y carnosol 15.50 µg/mg ExtoMeOH, seguidos por β-sitosterol con 8.70 µg/mg ExtoMeOH y el estigmasterol 5.56 µg/mg ExtoMeOH y en menor proporción el ácido ursólico con 5.49 µg/mg ExtoMeOH (**Cuadro 10**). Estos terpenoides han demostrado su capacidad para ejercer efectos ansiolíticos en investigaciones anteriores.

Cuadro 10. Análisis cuantitativo de los Terpenoides presentes en ExtoMeOH.

Estándar	[µg] **Terpenoides** en 1 g de Exto. MeOH de Semillas de *E. americana*	[µg] **Terpenoides** en 1 g Semillas de *E. americana*	Tiempo de retención (min)	Área [mAU*s]
Ác. ursólico	5.4886	0.9963	2.5895	30.1387
Carnosol	15.5035	2.8143	2.8640	110.9728
Estigmasterol	5.5554	1.0084	2.8235	10.3261
α-amirina	34.5088	6.2642	6.6070	11.6513
β-sitosterol	8.6927	1.5779	20.0590	27.1800

Aragão *et al*. (2006), encontraron que la administración oral de una mezcla de α y β amirina en dosis de 10 y 25 mg/kg, presentó un efecto ansiolítico en la prueba de Laberinto en Cruz Elevado. Así mismo, la administración de estas dosis produjo un efecto sedante en la prueba de Campo Abierto y un aumento significativo en el tiempo de sueño inducido por pentobarbital. Los autores sugieren que los efectos ansiolítico y sedante de la mezcla de estos terpenoides, esté asociado al receptor $GABA_A$.

En un trabajo realizado por Khan *et al.* (2016), se evalúo en ratones suizos el efecto de los terpenoides carnosol, ácido ursólico y ácido oleanólico aislados de la planta *Artemisia indica*. Y demostraron que la administración intraperitoneal de estos terpenoides en dosis de 30 y 100 mg/kg, aumentaron el número de entradas y tiempo de permanencia en los Brazos Abiertos y además presentaron efectos anticonvulsivos y antidepresivos. Utilizando el fármaco Flumazenil, demostraron

que tanto el carnosol como el ácido ursólico y el ácido oleanólico, actúan como moduladores positivos de los receptores α1β2γ2L $GABA_A$.

Por su parte Karim *et al*. (2021) utilizando ratones suizos expuestos a los modelos de Laberinto en Cruz Elevado, Caja Luz Oscuridad y convulsiones inducidas por Picrotoxina, demostraron que la administración por vía intraperitoneal de estigmasterol en dosis de 0.5-3.0 mg/kg, ejercieron efectos ansiolíticos y anticonvulsivos significativos comparables con el neuroesteroide Alopregnanolona. Estos resultados sugieren que el mecanismo de acción del estigmasterol está relacionado con la modulación de la señalización GABAérgica, un mecanismo central en la regulación de la ansiedad y la excitabilidad neuronal.

Para finalizar la descripción de los terpenoides presentes en el ExtoMeOH, se demostró que la administración intraperitonial de 100 mg/kg de β-sitosterol aumentó significativamente la distancia recorrida y el tiempo de permanencia en los Brazos Abiertos. Además, se observó un efecto ansiolítico sinérgico cuando se combinaron dosis subeficaces de β-sitosterol y el inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina Fluoxetina (Panayotis *et al*., 2021).

Los informes previos sobre los terpenoides presentes en el ExtoMeOH, proporcionan un marco de referencia que respalda la posible implicación de estas especies químicas en las propiedades ansiolíticas encontradas en este estudio.

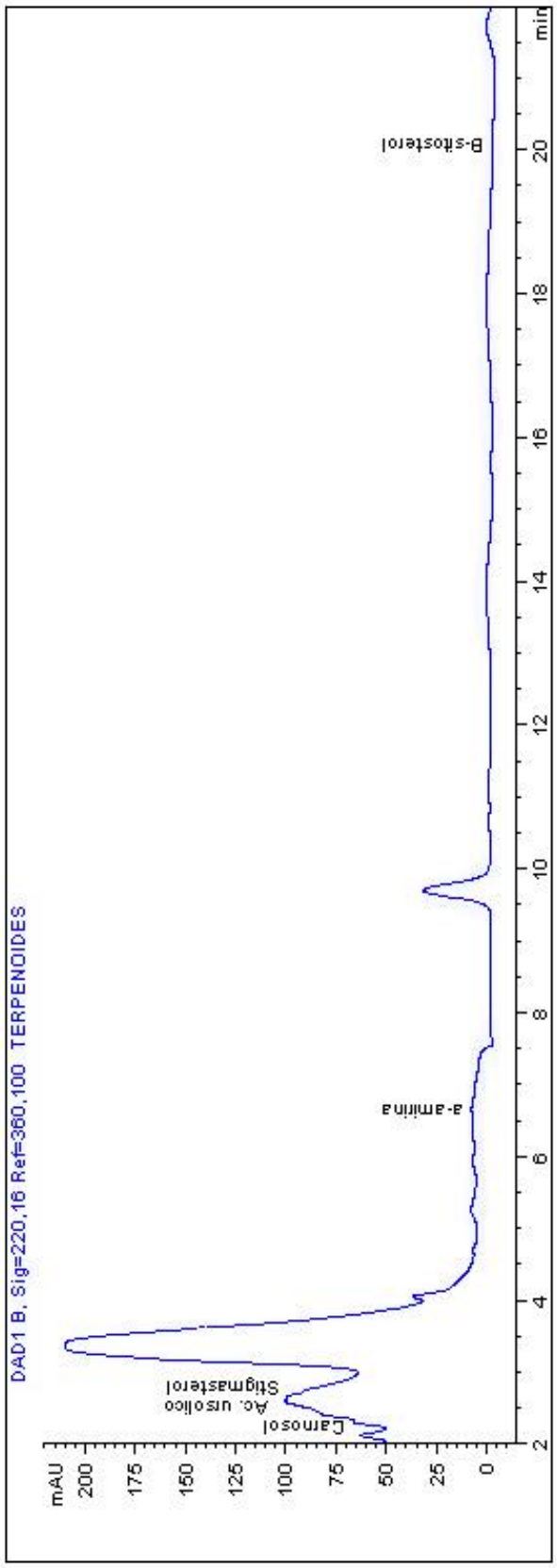

Figura 7. Cromatograma de HPLC de Terpenoides realizado al ExtoMeOH.

IX.1.4.4. Alcaloides

Para realizar el análisis por HPLC de los alcaloides presentes en el ExtoMeOH fue necesaria la obtención de fracciones a partir de una extracción acido-base. Este procedimiento se realizó considerando las particularidades de la columna utilizada para la identificación de estos compuestos.

Las **Figura 8** y **Figura 9** muestran que en la Fracción de Alcaloides Libres en Metanol (FALM) están presentes los alcaloides erisodina, β-Eritroidina, erisopina y erisovina; mientras que en la Fracción de Alcaloides Libres por Hidrólisis (FALH) estuvieron los alcaloides erisodina y β-Eritroidina. Es importante destacar que, tanto en la FALM como en la FALH, los alcaloides más abundantes fueron erisodina y β-eritroidina tal y como se observa en el **Cuadro 11** y en el **Cuadro12**.

Cuadro 11. Análisis cuantitativo de los Alcaloides presentes en FALH.

	Estándar	[mg] **Alcaloides** en 1 mg de **FALH** del Exto. MeOH de Semillas de *E. americana*	[mg] **Alcaloides** en 1 g de Exto. MeOH de Semillas de *E. americana*	[µg] **Alcaloides** en 1 g Semillas de *E. americana*	Tiempo de retención (min)	Área [mAU*s]
FALH	Erisodina	0.1729	9.4149	0.0314	9.6210	55.8062
	β-Eritroidina	0.1286	7.0030	0.0233	7.2300	58.0218

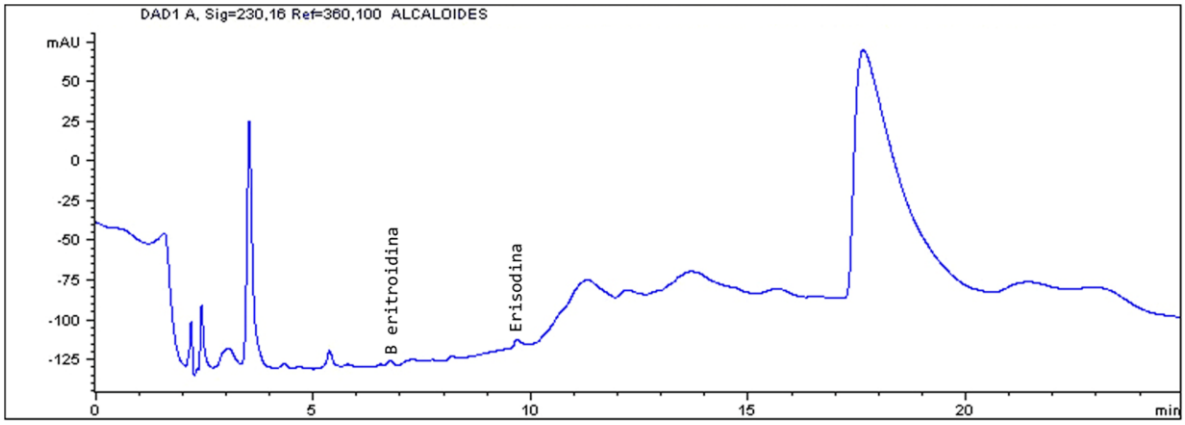

Figura 8. Cromatograma de HPLC de Alcaloides realizado a la Fracción de Alcaloides libres por Hidrólisis de ExtoMeOH.

Cuadro 12. Análisis cuantitativo de los Alcaloides presentes en FALM.

	ESTÁNDAR	[mg] **Alcaloides** en 1 mg de **FALM** del Exto. MeOH de Semillas de E. americana	[mg] **Alcaloides** en 1 g de Exto. MeOH de Semillas de E. americana	[µg] **Alcaloides** en 1 g Semillas de E. americana	Tiempo de retención (min)	Área [mAU*s]
FALM	Erisodina	1.9959	108.6974	0.3623	9.6480	255.2709
	β-Eritroidina	5.5196	300.5970	1.0020	7.0565	2946.2640
	Erisopina	0.6648	36.2056	0.1207	11.8210	1414.1587
	Erisovina	1.6171	88.0657	0.2936	10.4545	352.5711

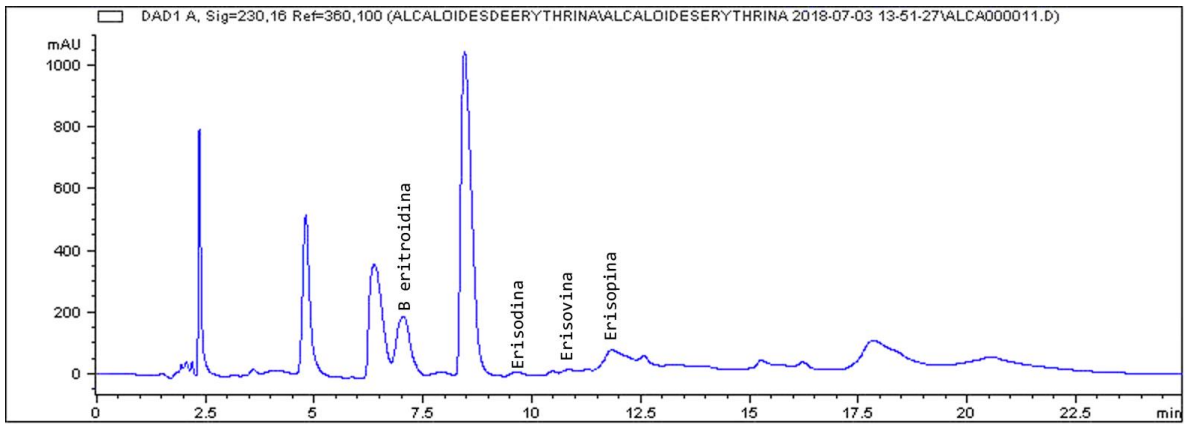

Figura 9. Cromatograma de HPLC de Alcaloides realizado a la Fracción de Alcaloides Libres en Metanol de ExtoMeOH.

Existen reportes que evidencian el efecto ansiolítico de algunos de estos alcaloides, entre los que destacan el estudio realizado por Decker *et al.* (1995), donde se evaluó el efecto de la nicotina y el alcaloide erisodina aislado de semillas de especies del género *Erythrina*. Los autores reportaron que la administración intraperitoneal de nicotina (6.2 µmol/kg) disminuyó la ansiedad en la prueba de Laberinto en Cruz Elevado. En contraste, el alcaloide erisodina (30 µmol/kg) no afectó este comportamiento. Sin embargo, la administración previa de erisodina bloqueó el efecto ansiolítico de la nicotina. Los autores sugieren que el alcaloide erisodina actúa como un antagonista de receptores nicotínicos colinérgicos cerebrales.

En otra investigación realizada por Rodrigues *et al*. (2011), se evaluó el efecto ansiolítico de los alcaloides erisodina y erisotrina aislados de las inflorescencias de *E. suberosa*. Reportaron que solo la administración oral de erisodina (10 mg/kg) aumentó el número de entradas y tiempo de permanencia en los brazos abiertos del Laberinto en Cruz Elevado. Mientras que en la prueba de Transición Luz-Oscuridad, los dos alcaloides en dosis de 10 mg/kg aumentaron el tiempo de permanencia y número de transiciones en el compartimiento iluminado. Cabe mencionar que la administración de estos alcaloides no afectó la actividad locomotora de los sujetos.

Otros alcaloides también del tipo eritriniano 11-α-hidroxieritravina, eritravina y α-hidroxierisotrina, aislados a partir de las inflorescencias de *E. mulungu*, también presentaron efecto ansiolítico cuando se administraron vía oral a ratones Swiss y se evaluaron en el Laberinto en T Elevado (Flausino *et al*., 2007a). También 11-α-hidroxieritravina y eritravina tuvieron efecto ansiolítico en el Test de Transición Luz-Oscuridad (Flausino *et al*., 2007b).

La revisión de la literatura que se hizo sobre las propiedades biológicas de los metabolitos secundarios detectados por HPLC en el ExtoMeOH de semillas desengrasadas de *Erythrina americana*, dejan en claro el amplio espectro de sus efectos sobre el sistema nervioso central. La diversidad de estos compuestos y los reportes previos sobre su actividad biológica, sugieren la posibilidad de que el efecto ansiolítico del ExtoMeOH observado en este estudio, sea el resultado de una acción sinérgica entre ellos.

IX.1.6. Capacidad antioxidante

Se evaluó la capacidad antioxidante del ExtoMeOH de Semillas de *E. americana*. La concentración inhibitoria media (IC_{50}) del radical libre 2,2-Difenil-1-Picrilhidracilo (DPPH) del ExtoMeOH fue de 3.405 mg/mL tal y como se muestra en la **Figura 10**.

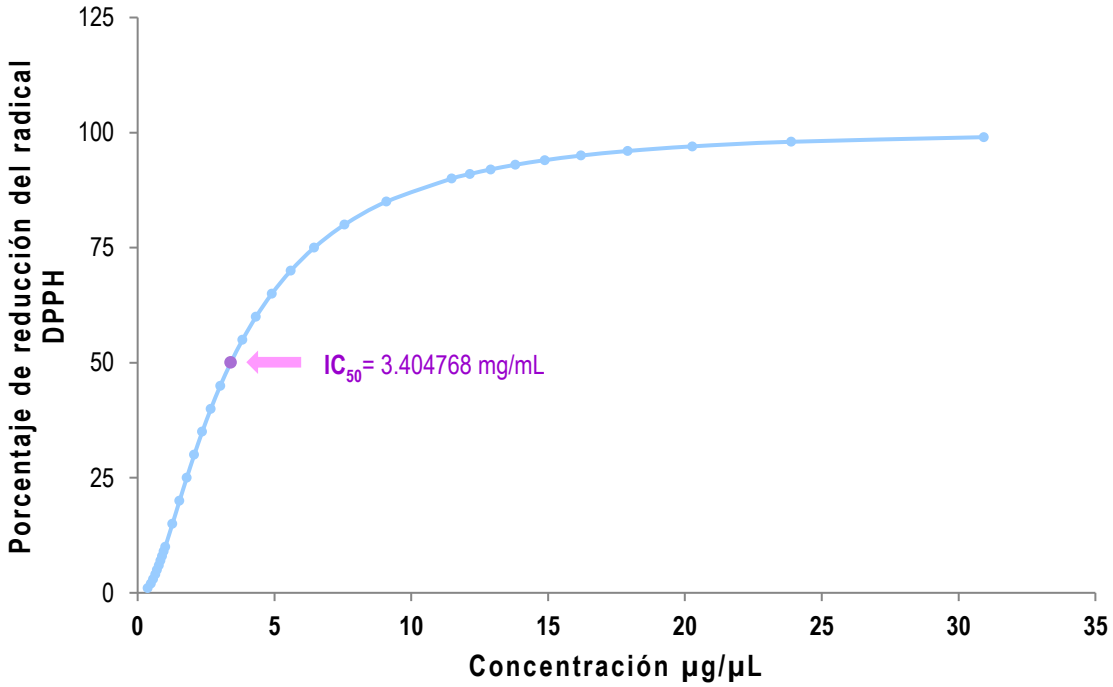

Figura 10. Capacidad antioxidante del Extracto metanólico de Semillas de *E. americana*.

Esta propiedad de captación del radical DPPH puede explicarse en función de los compuestos químicos presentes en el ExtoMeOH. Cada grupo de compuestos contribuye a esta propiedad antioxidante a través de distintos mecanismos de acción. En primer lugar, los ácidos fenólicos son conocidos por su capacidad antioxidante. Esto se debe a que en su estructura química presentan un anillo fenólico estabilizado por resonancia, lo que les permite donar protones (átomos de H^+). Esta donación de protones es fundamental en la captación de radicales. Además, los ácidos fenólicos también pueden eliminar radicales al donar electrones y suprimir la presencia de oxígeno molecular (O_2), lo que añade otro nivel de eficacia en su actividad antioxidante (Kumar & Goel, 2019).

Por su parte, los flavonoides presentan actividad antioxidante mediante la supresión de especies reactivas de oxígeno a partir de mecanismos que incluyen la

captación de radicales y la quelación de metales. Los flavonoides presentan en su estructura química un grupo hidroxilo ($^{-}$OH) unido a un anillo aromático plano y estable. Esta estabilidad ayuda a que el grupo hidroxilo sea altamente reactivo y pueda donar un átomo de hidrógeno ($^{+}$H) a un radical libre (Pietta, 2000).

Los terpenoides con su estructura química que contiene dobles enlaces conjugados actúan como extintores del oxígeno molecular, desactivando el exceso de energía del oxígeno molecular y liberándolo en forma de calor. Esto restablece el oxígeno molecular a un estado no excitado y permite que el terpenoide se recicle como antioxidante. Algunos terpenoides también pueden funcionar como quelantes, particularmente en la captación de metales que están implicados en la oxidación de lípidos (Gutiérrez-Del-Río *et al*. 2021).

Por otro lado, numerosos alcaloides han demostrado actividad antioxidante en estudios *in vitro* frente al radical DPPH. Sin embargo, el mecanismo exacto que subyace a la actividad antioxidante de los alcaloides parece depender del número de grupos hidroxilo presentes en cada uno de ellos. Esto sugiere que no existe un mecanismo general que explique el efecto antioxidante de los alcaloides (Macáková *et al*. 2019).

Así mismo, la capacidad antioxidante de extractos, fracciones y metabolitos aislados de especies de *Erythrina* frente al radical DPPH ha sido objeto de investigación, respaldando la actividad antioxidante reportada en el ExtoMeOH en este estudio. Juma & Majida (2004), aislaron 14 alcaloides del tipo eririnalina de las flores y vainas de *E. lysistemon* y evaluaron su capacidad antioxidante con el radical DDPH. Encontraron que únicamente los compuestos 11 y 12 mostraron actividad con valores de IC_{50} de 150 y 200 µg/mL después de 30 minutos, respectivamente.

Janbaz *et al*. (2012) utilizando el extracto metanólico crudo de las inflorescencias de *E. suberosa*, reportaron que el extracto inhibió en un 89.15% el radical DPPH a una concentración de 0.5 mg/mL, dato comparable con la quercetina, un flavonoide de referencia, que mostró una inhibición del 96.46%.

Por su parte, Ibarra-Estrada *et al*. (2011) evaluaron la capacidad antioxidante mediante el método de DPPH, de las fracciones de alcaloides libres hexánicos,

libres metanólicos, liberados metanólicos y del alcaloide erisodina obtenidos a partir de extractos de diferente polaridad de las semillas de *E. americana*. Encontraron que todas las fracciones alcaloideas inhibieron más del 50% el radical DPPH, siendo la fracción de alcaloides liberados la que presentó una mayor capacidad antioxidante con una IC_{50} de 0.1593 mg/mL. Por su parte con el alcaloide eridosina, aislado a partir de la fracción de alcaloides liberados se reportó una IC_{50} de 0.0212 mg/mL.

Estos resultados respaldan el encontrado con el ExtoMeOH, donde se obtuvo una IC_{50} de 3.4048 mg/mL. La diferencia podría atribuirse a la presencia en el ExtoMeOH de ácidos fenólicos, flavonoides, terpenoides y alcaloides, que podrían actuar sinérgicamente proporcionando una propiedad de captación del radical DPPH. La combinación de estos diversos compuestos químicos presentes en el Extracto Metanólico de Semillas desengrasadas de *E. americana* sugiere una relevancia significativa en su potencial antioxidante. La interacción y la diversidad de mecanismos de acción entre los ácidos fenólicos, flavonoides, terpenoides y alcaloides enfatizan la complejidad y riqueza química de este extracto.

IX.1.6. Toxicidad aguda

El ensayo de toxicidad aguda se realizó a partir del método propuesto por Dietrich Lorke (1983). Esta metodología tiene la ventaja de utilizar un número mínimo de sujetos en un tiempo relativamente corto, lo que lo hace eficiente y práctico para evaluar la toxicidad aguda de sustancias. Esta técnica se realizó en dos etapas independientes que se describen a continuación.

- Primera etapa

Durante la primera fase, se evaluaron las dosis de 10, 100 y 1000 mg/kg de ExtoMeOH tal y como se muestra en el **Cuadro 13**. Posteriormente, se realizó el registro de la supervivencia de los sujetos 24 h después de la administración oral de ExtoMeOH (**Cuadro 14**).

Cuadro 13. Primera etapa de la prueba. Administración de las 3 dosis en función del peso.

Grupo	Dosis (mg/kg)	Peso (g)
1	**10**	33
		29
		26
2	**100**	34
		28
		27
3	**1000**	35
		29
		25

Cuadro 14. Primera etapa de la prueba: registro de mortalidad.

Sujeto	10 mg/kg	100 mg/kg	1000 mg/g
1	VIVO	VIVO	VIVO
2	VIVO	VIVO	VIVO
3	VIVO	VIVO	VIVO

Como se muestra en el **Cuadro 14** la administración oral aguda de las tres dosis del ExtoMeOH no condujo a la muerte de los sujetos y tampoco fueron evidentes signos o síntomas tóxicos en los animales tratados.

Segunda etapa

Con base en los datos de sobrevivencia y mortalidad obtenidos en la primera etapa, las dosis establecidas en la técnica para la segunda etapa son 1600, 2900 y 5000 mg/kg. Ver **Cuadro 15** que también muestra el número de sujetos muertos para cada una de las dosis. Se observa que la administración oral de estas dosis tampoco provocó la muerte en ninguno de los sujetos evaluados. Además de los parámetros de toxicidad y mortalidad, el peso corporal de los sujetos también fue registrado y su análisis indicó que este parámetro se comportó de acuerdo con la curva de crecimiento establecida para esta especie (Charles River Laboratories, 2023).

Cabe destacar que las dosis administradas en la segunda etapa corresponden a las más altas propuestas en la metodología descrita por Lorke (1983); donde además se establece que el cálculo de la LD_{50} se obtiene a partir de la media geométrica entre la dosis máxima administrada con sobrevivencia y la dosis mínima que produjo mortalidad. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que, al no provocar la muerte de los sujetos, la LD_{50} de la administración oral del ExtoMeOH es superior a 5000 mg/kg.

Cuadro 15. Segunda etapa de la prueba: registro de mortalidad 24 h después de la administración de tratamientos.

Grupo	Dosis (mg/kg)	Peso (g)	ESTADO
1	**1600**	32	VIVO
2	**2900**	31	VIVO
3	**5000**	32	VIVO

De acuerdo con Kennedy *et al*. (1986), sustancias administradas por vía intragástrica que presentan una LD_{50} superior o igual a 5000 mg/kg pueden ser consideradas como no tóxicas. Complementando lo anterior y de acuerdo con la clasificación propuesta por Loomis & Hayes (1996) sustancias con LD_{50} comprendidas entre 5000-15000mg/kg se consideran prácticamente no tóxicas. Por lo tanto, es evidente que la administración oral aguda de ExtoMeOH carece de toxicidad.

Sin embargo, es importante hacer notar que, durante este ensayo, sólo en los sujetos administrados con dosis superiores a 2500 mg/kg se observaron síntomas que incluyeron hiperactividad (1 h después de la administración) e inmovilidad y sedación (4 h después de la administración). Es posible que dichos efectos sean ocasionados por la presencia de alcaloides característicos del género *Erythrina*. Se ha reportado que algunos alcaloides presentes en especies de *Erythrina* provocan una respuesta paralizante generalmente asociada a la acción bloqueo-neuromuscular (Megirian *et al*., 1995).

Finalmente, aunque en este estudio se observó una nula toxicidad del ExtoMeOH, se requieren estudios adicionales de toxicidad, curvas dosis-respuesta y posibles efectos adversos a largo plazo para confirmar su seguridad y eficacia en diferentes condiciones.

IX.1.7. Laberinto en Cruz Elevado (EPMT)

En la **Figura 11** se presenta la media ±ESM del **porcentaje del número de entradas** a los brazos abiertos (**EBA**). El análisis de varianza de una vía mostró diferencias significativas entre los tratamientos [$F_{(7,71)}$=6.392, p=0.0001]. La prueba *post hoc* de Duncan formó tres grupos: **a** integrado por INT, VEH y ExtoMeOH (10, 20, y 80 mg/kg); **b** formado por las dosis 40 y 60 mg/kg ExtoMeOH y; **c** fármaco de referencia DZP (1mg/kg). Los porcentajes registrados para las dosis de 10, 20, y 80 mg/kg de ExtoMeOH no difirieron del grupo que recibió el Vehículo y el grupo testigo Intacto. En contraste, con dosis de 40 y 60 mg/kg se incrementó el porcentaje en EBA, evidenciando el efecto ansiolítico de ExtoMeOH. Si bien, el ExtoMeOH en dosis de 40 y 60 mg/kg posee efectos ansiolíticos similares, éstos no son superiores a los obtenidos con el fármaco de referencia Diazepam (1 mg/kg i.p.).

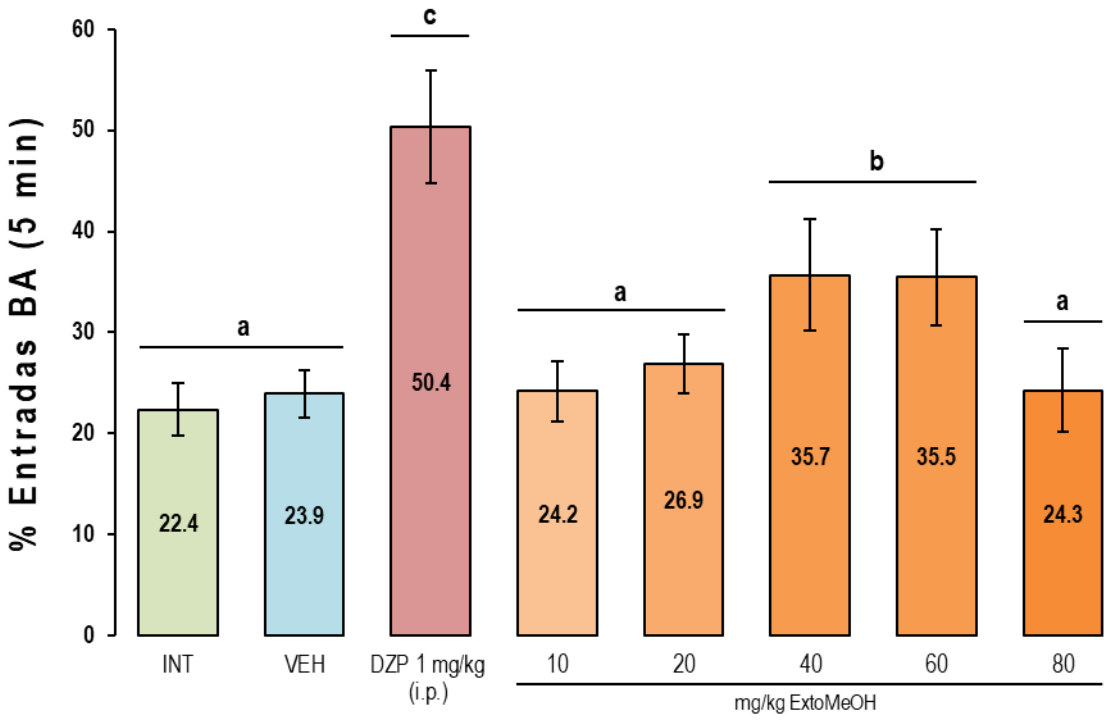

Figura 11. Media ±ESM del porcentaje de Entradas a los Brazos Abiertos sobre el comportamiento de los sujetos (n=9) durante la prueba de Laberinto en Cruz Elevado. Letras iguales indican la ausencia de diferencias significativas entre los grupos después de la prueba *post hoc* de Duncan (p< 0.05).

La **Figura 12** muestra la media ±ESM del **porcentaje del tiempo de permanencia** en los brazos abiertos (TBA). El ANOVA indicó diferencias significativas entre los tratamientos [$F_{(7,71)}$=6.560, *p*= 0.0001]. La prueba de Duncan generó tres conjuntos: **a** incluyendo INT, VEH y ExtoMeOH (10, 20, y 80 mg/kg); **b** compuesto por las dosis 40 y 60 mg/kg de ExtoMeOH; y **c** incorporando el fármaco de referencia DZP (1 mg/kg). Las medias observadas para las dosis de 10, 20 y 80 mg/kg de ExtoMeOH no mostraron diferencias significativas respecto al grupo que recibió el vehículo y el grupo testigo intacto. En contraste, con dosis de 40 y 60 mg/kg, se observó un aumento en el porcentaje en EBA, indicando el efecto ansiolítico del ExtoMeOH. Aunque el ExtoMeOH en dosis de 40 y 60 mg/kg exhibió efectos ansiolíticos similares, estos no fueron superiores a los obtenidos con el fármaco de referencia Diazepam (1 mg/kg i.p.).

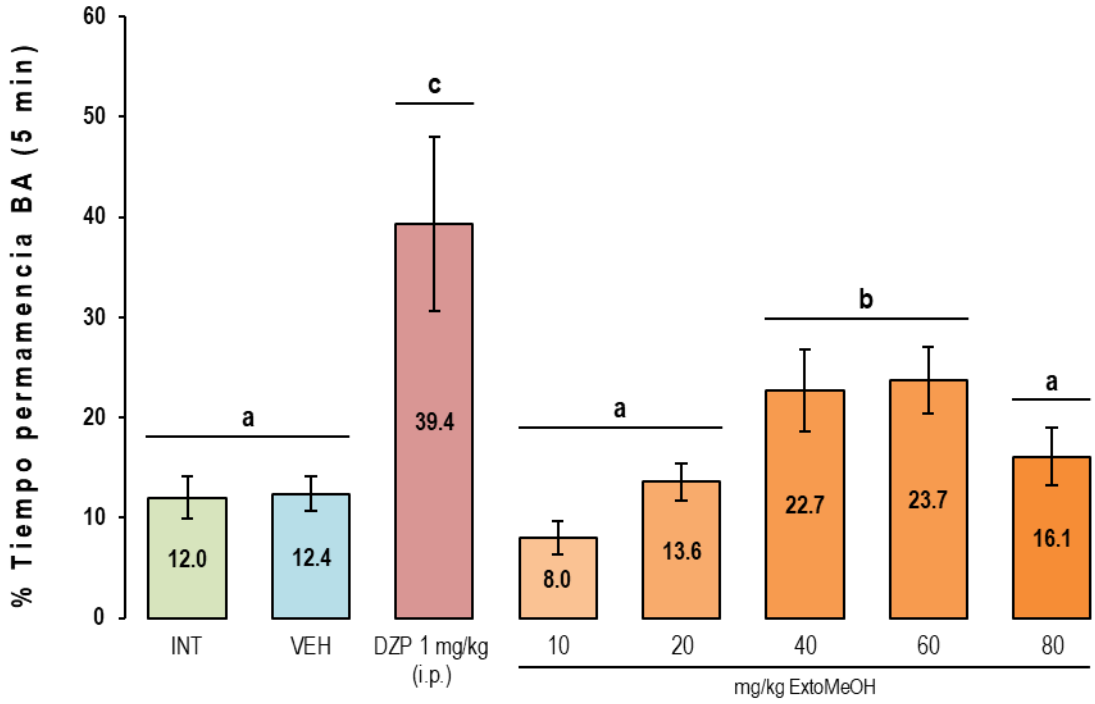

Figura 12. Media ±ESM del porcentaje de Tiempo de Permanencia en los Brazos Abiertos sobre el comportamiento de los sujetos (n=9) durante la prueba de Laberinto en Cruz Elevado. Letras iguales indican la ausencia de diferencias significativas entre los grupos después de la prueba *post hoc* de Duncan (p< 0.05).

Al analizar las medias del porcentaje del número de entradas al brazo abierto como el porcentaje del tiempo de permanencia en los brazos abiertos se observa que sólo las dosis de 40 y 60 mg/kg, presentaron efecto ansiolítico; mientras que las dosis de 10, 20 y 80 mg/kg no lo presentaron, ya que se comportaron como los grupos INT y VEH. Se observa un efecto de U invertida que puede explicarse con base en el efecto ocasionado por la ocupación y saturación de los sitios de unión alostéricos de los receptores ionótrópicos $GABA_A$ (Mercik *et al*., 2002).

Como era de esperarse, el fármaco de referencia Diazepam (1 mg/kg i.p.) presentó el mayor efecto ansiolítico. Sin embargo, se debe considerar que el ExtoMeOH es un extracto crudo y no una fracción o sustancia pura. Es importante señalar que la vía de administración también juega un papel primordial en el efecto de los fármacos, aquí los tratamientos fueron administrados por vía intragástrica y el Diazepam por vía intraperitoneal. Se ha señalado que la administración parenteral favorece la absorción casi instantánea de sustancias en la sangre, evitando la inactivación realizada por el hígado cómo ocurre en el caso de la administración por vía enteral (Vázquez-Cruz *et al.*, 2014).

Existe evidencia experimental que respalda el efecto ansiolítico del ExtoMeOH de *E. americana* encontrado en este estudio. Onusic *et al*. (2002) reportó un aumento de entradas y permanencia en los brazos abiertos con la administración aguda de 20 mg/kg (i.g.) del extracto hidroalcohólico de inflorescencias de *E. mulungu*; mientras que Ribeiro *et al.* (2006) obtuvieron el mismo efecto con la administración de 20 mg/kg (i.g.) del extracto hidroalcohólico de hojas de *E. velutina*. El efecto ansiolítico también estuvo presente con dosis de 200 y 400 mg/kg vía i.g. del extracto acuoso de la corteza de *E. variegata* (Pitchaiah *et al.*, 2010).

Con base en los resultados químicos, los alcaloides erisodina, β-eritroidina, erisopina y erisovina detectados en el ExtoMeOH pueden ser los responsables del efecto ansiolítico observado. Ya se ha reportado la actividad ansiolítica de dos alcaloides del tipo eritriniano aislados del extracto hidroalcohólico de inflorescencias de *Erythrina mulungu* (Flausino *et al*., 2007).

En estudios previos con semillas de *E. americana* ya se ha reportado que, extractos alcaloideos (Garín-Aguilar *et al*., 2000) y el alcaloide β-erythroidina, así como su derivado dihydro-β-erythroidina (García-Mateos *et al.*, 2000) destacan por su participación en la disminución de la conducta agresiva de ratas. Los autores sugieren que existe un efecto sobre la modulación de la acetilcolina sobre el sistema GABAérgico.

Además de los alcaloides, el efecto ansiolítico del ExtoMeOH podría también estar relacionado con la presencia de flavonoides. Estos compuestos tienen la ventaja de atravesar la barrera hematoencefálica y así proteger las células cerebrales (Martínez-Flórez *et al*., 2002). En los últimos 30 años se ha realizado una intensa investigación sobre las acciones de los flavonoides en el sistema nervioso central, entre las que sobresalen sus propiedades como sedantes, antidepresivos, anticonvulsivos y ansiolíticos. Demostrándose que estos efectos son mediados principalmente por los receptores GABA, en particular los receptores $GABA_A$ (Hanrahan *et al*., 2015). Los flavonoides encontrados por HPLC en el ExtoMeOH, como la miricetina y la naringenina, destacan por sus efectos ansiolíticos y anticonvulsivos en estudios previos. La complejidad de su mecanismo de acción además de incluir a la modulación de receptores GABAérgicos, también podría estar involucrada la señalización serotoninérgica (Vissiennon *et al*., 2012; Ghumatkar *et al*., 2015; Olugbemide *et al*., 2021).

En cuanto a los ácidos fenólicos encontrados en el ExtoMeOH destacan el ácido clorogénico y el ácido cafeico, que han demostrado efectos ansiolíticos en estudios preclínicos, posiblemente a través de la activación de receptores de benzodiazepinas y otros mecanismos asociados a receptores adrenérgicos α1A y la modulación directa de un sistema de segundo mensajero que actúa a través de receptores de glutamato o receptores GABAérgicos. Esto respalda su potencial como agentes ansiolíticos (Bouayed *et al*., 2007; Pereira *et al*., 2006).

Por último, los terpenoides presentes en el ExtoMeOH incluyendo α-amirina, carnosol, ácido ursólico, estigmasterol y β-sitosterol, también presentan efectos ansiolíticos significativos en modelos preclínicos. Además, algunos de ellos han

mostrado sinergia con otros compuestos ansiolíticos como los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) (Aragão *et al*., 2006; Khan *et al.,* 2016; Karim *et al*. 2021; Panayotis *et al*., 2021).

Los constituyentes identificados en el extracto metanólico de semillas desengrasadas de *E. americana* ejercen su acción en el sistema nervioso central activando diferentes receptores y vías de señalización. Los alcaloides, flavonoides y terpenoides modulan principalmente los receptores $GABA_A$, mientras que los ácidos fenólicos tienen interacciones sobre los receptores serotoninérgicos $5\text{-}HT1_A$, adrenérgicos α1A y receptores de glutamato neuronales. Todos estos elementos están implicados en los procesos que subyacen a la ansiedad.

IX.1.8. Campo Abierto (OFT)

Si bien el modelo de Campo Abierto ha sido descrito para la evaluación de la ansiedad, en este trabajo se utilizó con la finalidad de descartar el deterioro motor de los sujetos que pudiera ocasionar la administración de los tratamientos.

La **Figura 13** muestra el total del número de cruces en los 12 cuadrantes del aparato de Campo Abierto. El análisis de varianza de una vía mostró diferencias significativas entre los tratamientos [$F_{(7,71)}$=2.604, p= 0.020]. La prueba *post hoc* de Duncan formó 2 grupos: a integrado por DZP (1mg/kg); b formado por VEH, INT y ExtoMeOH (10, 20, 40, 60 y 80 mg/kg). Estos datos indican que el número de estiramientos registrados con las dosis de ExtoMeOH (10, 20, 40, 60 y 80 mg/kg) no fue diferente al de los grupos VEH e INT; es decir, que el extracto no deterioró la conducta motora de los sujetos y por lo tanto no interfirió con la conducta requerida en la prueba del Laberinto en Cruz Elevado. En contraste la actividad motora obtenida con la administración de Diazepam (DZP 1mg/kg) presentó un ligero aumento en el número de cruces respecto a los otros grupos. De acuerdo con Zuluaga *et al*. (2005), un fármaco ansiolítico eficaz ejerce su efecto terapéutico sin modificar la actividad locomotora espontánea del sujeto experimental.

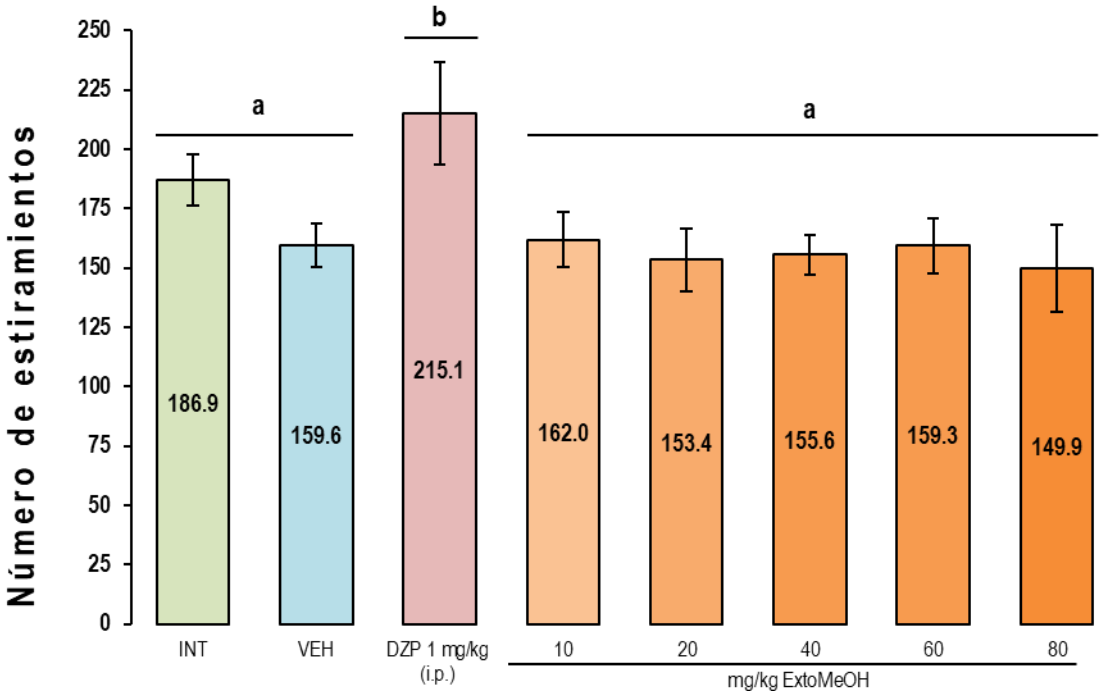

Figura 13 Media ±ESM del total de cruces de los grupos (INT, VEH, DZP y ExtoMeOH) sobre el comportamiento de los sujetos durante la prueba de Campo Abierto. Letras iguales indican la ausencia de diferencias significativas entre los grupos después de la prueba *post hoc* de Duncan ($p< 0.05$).

En la **Figura 14** se muestra el total del número de levantamientos en el aparato de Campo Abierto. El ANOVA de una vía no mostró diferencias significativas entre los tratamientos [$F_{(7,71)}$=0.845, p= 0.555]. Esto significa que ninguna de las dosis del ExtoMeOH ocasionó deterioro motor en los ratones y, por lo tanto, los datos obtenidos en la prueba de ansiedad no son producto de interferencia motora alguna.

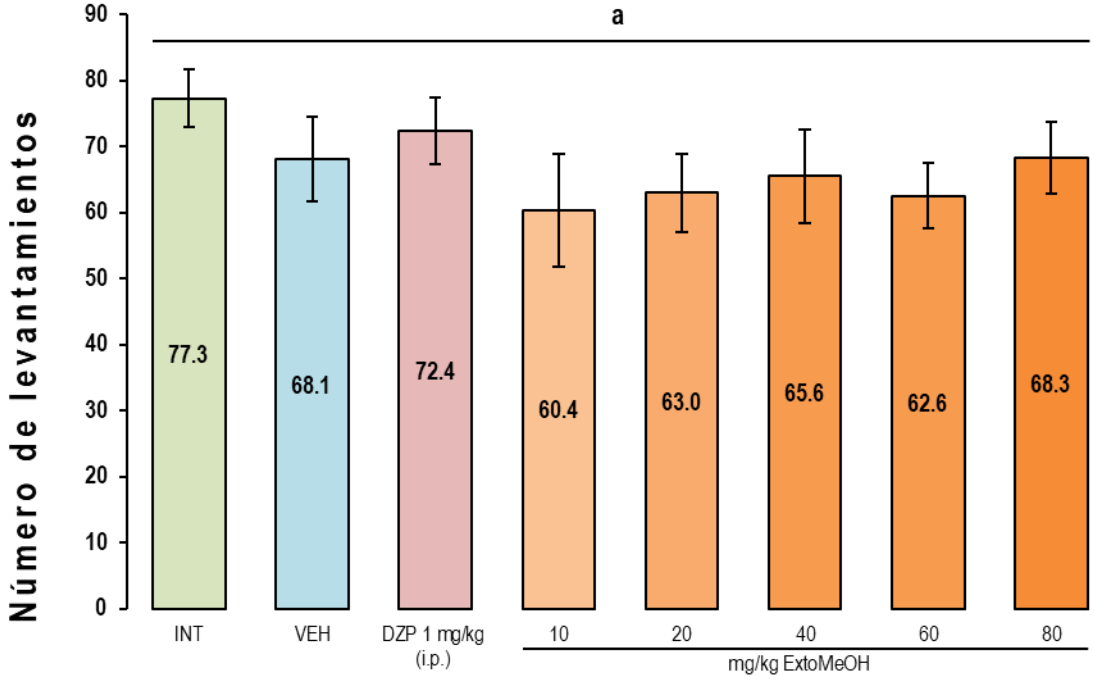

Figura 14. Media ±ESM del total de levantamientos sobre el comportamiento de los sujetos (n=9) durante la prueba de Campo Abierto. Letras iguales indican la ausencia de diferencias significativas entre los grupos después de la prueba *post hoc* de Duncan ($p< 0.05$).

La prueba de Campo Abierto demostró que ninguna de las dosis administradas del ExtoMeOH (10, 20, 40, 60 y 80 mg/kg) provocó alteraciones evidentes en el comportamiento motor, ya sea horizontal o vertical. Esto indica que los efectos observados en la prueba de Laberinto en Cruz Elevado, no están influenciados por una alteración motora inducida por el ExtoMeOH, fortaleciendo así la confiabilidad de los datos obtenidos en la evaluación de la ansiedad.

Los resultados químicos y conductuales de este estudio resaltan el potencial de *E. americana* como una fuente prometedora de agentes ansiolíticos, ya que disminuyó la ansiedad sin deteriorar la actividad motora y no presentó toxicidad en las dosis administradas. Estudios complementarios dirigidos a la identificación, aislamiento y purificación de los compuestos específicos involucrados en las propiedades ansiolíticas, junto con evaluaciones *in vitro* e *in vivo*, son esenciales para dilucidar con mayor precisión el mecanismo de acción subyacente.

Esta investigación contribuye a las evaluaciones preclínicas ya publicadas con especies del género *Erythrina* e invita a realizar estudios complementarios con las plantas endémicas de este género descritas para México.

X. CONCLUSIONES

- El extracto metanólico de las semillas de *Erythrina americana* no produjo ningún síntoma evidente de toxicidad y mortalidad con el modelo agudo propuesto por Lorke.
- El modelo de Laberinto en Cruz Elevado evidenció el potencial ansiolítico del extracto metanólico de las semillas de *Erythrina americana*.
- No se encontró interferencia motora del extracto metanólico de las semillas de *Erythrina americana* con el modelo de Campo Abierto.
- Este estudio proporciona un soporte científico del uso empírico, que en nuestro país se le da a esta planta para tratar padecimientos relacionados con la ansiedad.

XI. PERSPECTIVAS

- Identificar, aislar y purificar los compuestos presentes en el extracto metanólico de semillas desengrasadas de *E. americana*, responsables del efecto ansiolítico.
- Realizar evaluaciones *in vitro* e *in vivo* para dilucidar el mecanismo de acción del extracto metanólico de semillas desengrasadas de *E. americana*.
- Evaluar el efecto antidepresivo del extracto metanólico de semillas desengrasadas de *E. americana*.
- Realizar investigaciones científicas con las especies endémicas del género *Erythrina* descritas para México ya que cuentan con reportes de su uso en la medicina tradicional para el tratamiento de otros padecimientos, además de los relacionados con el sistema nervioso central como la ansiedad, la depresión, el insomnio, entre otros.

XII. GLOSARIO

Actividad motora. - Movimiento voluntario de una persona, coordinado por la corteza cerebral y estructuras secundarias que lo modulan.

Ansiogénico. - Sustancias que favorecen y/o aumentan los niveles de ansiedad.

Ansiolítico. - Sustancias que controlan y/o disminuyen los niveles de ansiedad

CD-1 (ICR). - Cepa de ratones (*Mus musculus*) provenientes del Institute of Cancer Research. Esta cepa es de origen suizo, desciende directamente de dos machos y siete hembras albinos no consanguíneos.

Hipervigilancia. - Trastorno cuantitativo de la estructura de la conciencia en el que existe un nivel aumentado (nivel I) de la atención y de la alerta, junto con una exaltación de la esfera sensorial, motora, cognitiva y afectiva.

Trastornos mentales. - Alteraciones en los procesos del razonamiento, el comportamiento, la facultad de reconocer la realidad, las emociones o las relaciones con los demás, consideradas como anormales con respecto al grupo social de referencia del cual proviene el individuo.

Trastornos neurológicos. - Son enfermedades del sistema nervioso central y periférico, es decir, del cerebro, la médula espinal, los nervios craneales y periféricos, las raíces nerviosas, el sistema nervioso autónomo, la placa neuromuscular, y los músculos.

Validez ecológica. - Relación funcional y predictiva que se establece entre la ejecución del sujeto en la exploración neuropsicológica y la conducta de éste en situaciones de la vida diaria.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alcorn, J. (1984). *Huastec Mayan Etnobotany*. Austin, TX. University of Texas Press.

Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Zapata-Morales, J. R., & Carranza-Álvarez, C. (2015). Plants used in the traditional medicine of Mesoamerica (Mexico and Central America) and the Caribbean for the treatment of obesity. *Journal of Ethnopharmacology*, *175*, 335-345.

American Psychiatric Association. (2012). Guidelines for Ethical Conduct in the Care and Use of Nonhuman Animals in Research. Recuperado de https://www.apa.org/science/leadership/care/guidelines

American Psychiatric Association. (2014). Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales. (DSM- V). Médica Panamericana: España.

American Psychiatric Association. (2022). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5). EE. UU. American Psychiatric Association.

Anand, A., & Charney, D. S. (2000). Serotonin and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, *23*(6), 435-452.

Aniszewski, T. (2015). *Alkaloids*. Amsterdam, Netherlands. Elsevier.

Antolovich, M., Prenzel, P., Pastsalides, E., McDonald, S. & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*, *127*, 183-198

Antonio-Vázquez, A. (2018). Evaluación del efecto antidepresivo de corteza de tallo de *Erytrina americana* Mill. [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. TESIUNAM.

Aparecida, S., Siqueira, A., Aparecida, H., Salomão, A., Ferreira, W., Soares, A. & Oliveira, R. (2011). Anticonvulsant profile of the alkaloids (+)-erythravine and (+)-11-α-hydroxy-erythravine isolated from the flowers of *Erythrina mulungu* Mart ex Benth (Leguminosae–Papilionaceae). *Epilepsy & Behavior*, *20*, 442-446.

Aragão, G. F., Carneiro, L. M. V., Junior, A. P. F., Vieira, L. C., Bandeira, P. N., Lemos, T. L. G., & Viana, G. S. de B. (2006). A possible mechanism for anxiolytic and antidepressant effects of alpha- and beta-amyrin from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *85*(4), 827-834.

Araujo-Júnior, J., Oliveira, M., Aquino, P., Alexandre-Moreira, M. & Sany'Ana, E. (2012) *A Phytochemical and Ethnopharmacological, Review of the Genus Erythrina.* INTECH Open Access. https://doi.org/10.5772/26997

Ashton, H. (2002). Benzodiazepines: How they work and how to withdraw (The Ashton Manual). Recuperado de https://www.benzo.org.uk/manual/

Ávalos, A. & Pérez-Urrutia, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*, *2*(3), 119-145.

Bailey, K. & Crawley, J. (2009). *Anxiety-Related behaviors in mice*. En: Buccafusco, J. (Ed.), Methods of Behavior Analysis in Neuroscience (2da ed.). Medical College of Georgia, Augusta, pp 81-88.

Bergink, V., van Megen, H. J., & Westenberg, H. G. (2004). Glutamate and anxiety. *European neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, *14*(3), 175–183.

Barlow, D. H. (2002). *Anxiety and its disorders: The nature and treatment of anxiety and panic*. EE. UU. The Guilford Press.

Becerra-García, A., Madalena, A., Estanislau, C., Rodríguez-Rico, J. & Dias, H. (2007). Ansiedad y Miedo: Su valor adaptativo y maladaptaciones. *Revista Latinoamericana de Psicología*, *39*(1), 75-81.

Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). Colorín, *Erythrina americana* Mill. En Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado de www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/presenta.html

Blier, P., & de Montigny, C. (1994). Serotonin and the treatment of anxiety disorders. *Journal of Clinical Psychiatry*, *55*(1), 14-21.

Bonilla, J., Santa-Maria, A., Toloza, G., Espinoza, P., Noel, J., Nuñez, M. & Moreno, M. (2014). Efecto sedante, ansiolítico y toxicológico del extracto acuoso de flores de *Erythrina berteroana* (pito) en ratones. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *19*(1), 383-398.

Bouayed, J., Rammal, H., Dicko, A., Younos, C., & Soulimani, R. (2007). Chlorogenic acid, a polyphenol from *Prunus domestica* (Mirabelle), with coupled anxiolytic and antioxidant effects. *Journal of the Neurological Sciences*, *262*(1-2), 77-84.

Bremner, J. D. (2006). The neurobiology of stress and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, *31*(1), 169-191.

Brunton, L. L., Hilal-Dandan, R., & Knollmann, B. C. (Eds.). (2018). Goodman & Gilman's: *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (13th ed.). EE. UU. McGraw-Hill Education.

Cambra, J. & Camarillo, L. (2015). Trastornos de ansiedad relacionados con traumas y otros factores de estrés. *Medicine*, *11*(84), 4999-5007.

Cárdenas, J. & Navarro, J. (2002). Modelos animales de ansiedad incondicionada (I). *Psiquiatr Biol*, *9*, 18-32.

Cárdenas, J. & Navarro, J. (2002). Modelos animales de ansiedad incondicionada (II). *Psiquiatr Biol*, *9*(2), 68-76.

Carlson, N. R., (2014). *Fisiología de la conducta*. Madrid, España. Pearson Educación.

Carvalho, A. C., Almeida, D. S., Melo, M. G., Cavalcanti, S. C., & Marçal, R. M. (2009). Evidence of the mechanism of action of *Erythrina velutina* Willd (Fabaceae) leaves aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*, *122*(2), 374-378.

Cervantes-Flores, M. (2016). Evaluación de la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria del liofilizado de hojas de *Erytrina americana* Miller (Colorín). [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. TESIUNAM.

Cole, J. & Rodgers R. (1995). Ethological comparison of the effects of diazepam and acute/chronic imipramine on the behavior of mice in the Elevated Pluz-Maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *52*(3), 473-478.

Colis-Torres, A. (2017). Efecto del liofilizado de hojas de *Erythrina americana* en el edema producido por el veneno de *Bothrops asper* (Nauyaca). [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. TESIUNAM.

CONABIO. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2023). *Erythrina americana*-Colorín. EncicloVida. Recuperado de https://enciclovida.mx/especies/185463-erythrina-americana

Corradini, E., Foglia, P., Giansanti, P., Gubbiotti, R., Samperi, R., & Laganà, A. (2011). Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants. *Natural Product Research*, *25*(5), 469-495.

Craske, M. G., Stein, M. B., Eley, T. C., Milad, M. R., Holmes, A., Rapee, R. M., & Wittchen, H. U. (2017). Anxiety disorders. *Nature reviews. Disease primers*, *3*, 17024. https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.24

Cruz-Morales, S., González-Reyes, J. & Arriaga, P. (2003). Modelos de Ansiedad. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, *29*, 93-105.

Charles River Laboratories. (2023). CD-1® ICR Mouse. Recuperado de https://www.criver.com/products-services/find-model/cd-1r-igs-mouse?region=3616

Charney, D. S., & Deutch, A. Y. (2003). Neurobiological mechanisms of anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, *28*(5), 785-803.

Chávez-León, E., Ontiveros, M., & Serrano, C. (2008). Los antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS, ISR-5HT). *Salud Mental*, *31*(4), 307-319.

Chen, Y., Xu, Y., & Wang, Y. (2019). The role of cholecystokinin in anxiety: A review. *Brain Research Bulletin*, *148*, 107-116.

Dantas, M.C., De-Oliveira, F.S., Bandeira, S.M., Bautista, J.S., Silva, C.D., Alves, P.B., Antoniolli, A.R. & Marchiorio, M. (2004). Central nervous system effects of the crude extract of *Erythrina velutina* on rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, *94*, 129-133.

Darwin, C. (1998). La expresión de las emociones en los animales y en el hombre. Madrid, España. Alianza.

Decker, M. W., Anderson, D. J., Brioni, J. D., Donnelly-Roberts, D. L., Kang, C. H., O'Neill, A. B., Piattoni-Kaplan, M., Swanson, S., & Sullivan, J. P. (1995). Erysodine, a competitive antagonist at neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *European Journal of Pharmacology*, *280*(1), 79–89.

Delgado, P. L. (2004). How antidepressants help depression: Mechanisms of action and clinical response. *Journal of Clinical Psychiatry*, *65*(4), 25-30.

Dias, S., Neves, A., Ferraz, A., Picada, J. & Pereira, P. (2013). Neuropharmacological and genotoxic evaluation of ethanol extract from Erythrina falcata leaves, a plant used in Brazilian folk medicine. *Revista Brasileira de Farmacognosia, Brazilian Journal of Pharmacognosy*, *23*(2), 335-341.

Etcheverry, S. R., Fernández, M. A., Rates, S. K., Parrillo, S., Vázquez, A., & Heinzen, H. A. (2003). Pharmacological activity and phytochemical studies of Erythrina crista-galli extracts. *Molecular Medicinal Chemistry*, *1*, 8-12.

Evans, R. (1976). *Hallucinogenic Plants. A Golden Guide*. EE.UU. Golden Press.

Fahmy, N., Al-Sayed, E., El-Shazly, M., & Singab, A. (2018). Comprehensive review on flavonoids biological activities of *Erythrina* plant species. *Industrial Crops and Products*, *123*, 500-538.

Farach, F., Pruitt, L., Jun, J., Jerud, A., Zoellner, L. & Roy-Byrne, P. (2012). Pharmacological treatment of anxiety disorders: Current treatments and future directions. *Journal of Anxiety Disorders*, *26*(8), 833-843.

Flausino, O., Pereira, A., Bolzani, V. & Nunes-De-Souza, R. (2007**b**). Effects of erythrinian alkaloids isolated from *Erythrina mulungu* (Papilionaceae) in Mice Submitted to Animal Models of Anxiety. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, *30*(2), 375-378.

Flausino, O., Santos, L., Verli, H., Pereira, A., Bolzani, V. & Nunes-De-Souza, R. (2007**a**). Anxiolityc effects of erythrinian alkaloids from *Erythrina mulungu*. *Journal of Natural Products*, *70*, 48- 53.

Flores, J. S. (2002). Diferentes usos de las leguminosas en la península de Yucatán. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente*, *3*(1), 59–63.

Foa, E. B., Huppert, J. D., & Cahill, S. P. (2006). Emotional processing theory: An update. En J. D. Huppert & S. P. Cahill (Eds.), *Pathological anxiety: Emotional processing in etiology and treatment* (pp. 3-24). EE.UU. Guilford Press.

Folkers, K. & Major, R. (1937). Isolation of erythroidine, an alkaloid of curare action, from *Erythrina americana* Mill. *Journal of the American Chemical Society*, *59*(8), 1580-1581.

Folkers, K., & Koniuszy, F. (1940**a**). *Erythrina* alkaloids VII. Isolation and characterization of the new alkaloids, erythraline and erythratine. *Journal of the American Chemical Society*, *62*(2), 436-441.

Folkers, K., & Koniuszy, F. (1940**b**). *Erythrina* Alkaloids IX. Isolation and characterization of erysodine, erysopine, erysocine and erysovine. *Journal of the American Chemical Society*, *62*(7), 1677-1683.

Frishman, W. H. (2018). Beta-adrenergic receptor blockers: Adverse effects and drug interactions. *Journal of Clinical Hypertension*, *20*(2).

García-Mateos, R., Garín-Aguilar, M. E., Soto-Hernández, M. & Martínez-Vázquez, M. (2000). Effect of β-erythroidine and dihydro-β-erythroidina from *Erythrina americana* on rats aggressive behavior. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, *1*, 34-37.

García-Mateos, R., Pérez-Pacheco, R., Rodríguez-Hernández, C. & Soto-Hernández, M. (2004.) Toxicidad de alcaloides de *Erythrina americana* en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *27(*4), 297-303.

García-Mateos, R., Soto-Hernández, M. & Martínez-Vázquez, M. (1999). Toxicidad de los extractos de las semillas de *Erythrina americana*. *Ciencia Ergo Sum*, *7*(2), 166-170.

García-Mateos, R., Soto-Hernández, M. & Vibrans, H. (2001) *Erythrina americana* Miller ("Colorín"; Fabacea), a versatile resource from México: a review. *Economic Botany*, *55*(3), 391-400.

Garín-Aguilar, M. E., López-Valera, S., Martínez, V. C. L., Valencia del Toro, G., Soto-Hernández, M. & Prado-Alcalá, R. A. (2009) Erisodina y receptores nicotínicos a4b2 del hipocampo dorsal en la consolidación de la memoria. *Revista Latinoamericana de Química*, *37*(3), 206-217.

Garín-Aguilar, M. E., Soto-Hernández, M., Valencia del Toro, G. & Vázquez, M. M. (2000). Effect of crude extracts of *Erythrina americana* Mill on aggressive behavior in rats. *Journal of Ethnopharmacology, 69*, 189-196.

Ghumatkar, P. J., Patil, S. P., Jain, P. D., Tambe, R. M., & Sathaye, S. (2015). Nootropic, neuroprotective and neurotrophic effects of phloretin in scopolamine induced amnesia in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *135*, 182-191.

Gómez, C., Saldívar-González, A. & Rodríguez, R. (2002). Modelos animales para el estudio de la ansiedad: una aproximación crítica. *Salud Mental*, *25*, 14-24.

Gómez-Jarabo, G. A., García-Sevillano, A., & Arranz, M. J. (2012). Bases farmacológicas de la conducta. Vol I. Madrid, España. Editorial Panamericana.

Gómez-Restrepo, C., Hernández, G., Jordán-Quintero, M., Rojas-Urrego, A., Santacruz, H. & Uribe-Restrepo, J. (2018). Psiquiatría Clínica. Diagnóstico y tratamiento en niños adolescentes y adultos. Bogotá, Colombia: Editorial Médica Panamericana.

Pini, S., Amador, X. F., Dell'Osso, L., Baldini Rossi, N., Cassano, P., Savino, M. & Cassano, G. B. (2003). Treatment of depression with comorbid anxiety disorders: differential efficacy of paroxetine versus moclobemide. *International Clinical Psychopharmacology*, *18*(1), 15-21.

Green, S. & Hodges, H. (1991). Animal models of anxiety. En: Willner, P. (Ed.), Behavioral Models in psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives. UK, Cambridge University Press, pp 21-49.

Gutiérrez-Del-Río, I., López-Ibáñez, S., Magadán-Corpas, P., Fernández-Calleja, L., Pérez-Valero, Á., Tuñón-Granda, M., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2021). Terpenoids and Polyphenols as Natural Antioxidant Agents in Food Preservation. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *10*(8), 1264. https://doi.org/10.3390/antiox10081264

Guzmán-Gutiérrez, M., & López-Muñoz, F. (2010). Neurobiología de la ansiedad. *Revista de Neurología*, *50*(12), 763-773.

Hahn, K. A., & Liberzon, I. (2006). The neurocircuitry of stress, fear, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, *31*(1), 169-191.

Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as a measure of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, *18*, 385-403.

Handley, S. & Mithani, S. (1984). Effects of alpha-adrenoceptor agonist and antagonist in maze- exploration model of “fear”-motivated behavior. *Naunyn-Schmiedeberg’s Arch Pharmacology*, *327*, 1-5.

Hastings, R. (1990). Medicinal legumes of México: Fabaceae, Papilonoideae. Part one. *Economic Botany, 44*(3), 336-348.

Hofmann, S. G., Asnaani, A., Vonk, I. J., Sawyer, A. T., & Fang, A. (2012). The Efficacy of Cognitive Behavioral Therapy: A Review of Meta-analyses. *Cognitive Therapy and Research*, *36*(5), 427-440.

Hofmann, S. G., Sawyer, A. T., Witt, A. A., & Oh, D. (2010). The effect of mindfulness-based therapy on anxiety and depression: A meta-analytic review. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, *78*(2), 169-183.

Chu, H. B., Tan, Y. D., Li, Y. J., Cheng, B. B., Rao, B. Q. & Zhou, L. S. (2019). Anxiolytic and anti-depressant effects of hydroalcoholic extract from *Erythrina variegata* and its possible mechanism of action*. Afri Health Sci, 19,* 2526-2536.

Ibarra-Estrada, E., Pacheco-Sánchez, M., García-Mateos, R., San Miguel-Chávez, R., Ramírez-Valverde, G. & Soto-Hernández, M. (2011). Actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller. *Rev. Fitotec. Mex*, *34*(4), 241-246.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2021). Encuesta Nacional de Bienestar Autorreportado (Enbiare) 2021. Recuperado de https://www.inegi.org.mx/programas/enbiare/2021/default.html

Janbaz, K. H., Nisar, U., Ashraf, M., & Qadir, M. I. (2012). Spasmolytic, bronchodilatory and antioxidant activities of *Erythrina superosa* Roxb. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, *69*(6), 1111-1117.

Jesupillai, M., Palanivelu, M., Rajamanickam, V. & Sathyanarayanan, S. (2008). Anticonvulsant effect of *Erythrina indica* Lam. *Pharmacology Online*, *3*, 744-747.

Juma, B. F., & Majinda, R. R. (2004). Erythrinaline alkaloids from the flowers and pods of *Erythrina lysistemon* and their DPPH radical scavenging properties. *Phytochemistry*, *65*(10), 1397-1404

Karim, N., Khan, I., Abdelhalim, A., Halim, S. A., Khan, A., & Al-Harrasi, A. (2021). Stigmasterol can be new steroidal drug for neurological disorders: Evidence of the GABAergic mechanism via receptor modulation. *Phytomedicine*, *90*, 153646.

Kennedy, G. L., Ferenz, R. L., & Burgess, B. A. (1986). Estimation of acute oral toxicity in rates by determination of the approximate lethal dose rather than the LD_{50}. *Journal of Applied Toxicology*, *6*(3), 145-148.

Khan, I., Karim, N., Ahmad, W., Abdelhalim, A., & Chebib, M. (2016). GABA-A Receptor Modulation and Anticonvulsant, Anxiolytic, and Antidepressant Activities of Constituents from *Artemisia indica* Linn. *Evidence-based complementary and alternative medicine*: eCAM, *2016*, 1215393. https://doi.org/10.1155/2016/1215393

Khan, SA., Chatterjee, SS., & Kumar, V. (2015). Potential Anti-Stress, Anxiolytic and Antidepressant Like Activities of Mono-Hydroxybenzoic Acids and Aspirin in Rodents: A Comparative Study. *Austin J Pharmacol Ther*, *3*(3), 1073.

Khoshnam, S. E., Farbood, Y., Fathi Moghaddam, H., Sarkaki, A., Badavi, M., & Khorsandi, L. (2018). Vanillic acid attenuates cerebral hyperemia, blood-brain barrier disruption and anxiety-like behaviors in rats following transient bilateral common carotid occlusion and reperfusion. *Metabolic Brain Disease*, *33*(3), 785-793.

Kimura, H., & Nakamura, S. (2017). Cholecystokinin and anxiety: Involvement of the central nervous system. *Neuroscience Research*, *108*, 1-10.

Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands)*, *24*, e00370. https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370

Kumar, S., & Sharma, A. (2006). Apigenin: The Anxiolytic Constituent of *Turnera aphrodisiaca*. *Pharmaceutical Biology*, *44*(2), 84-90.

Li, J., & Xu, Y. (2019). Glutamatergic dysfunction in anxiety disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *106*, 1-13.

Lister, R. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, *92*, 180-185.

Liu, J., Zhang, X., Li, X., & Zhang, Y. (2018). Cholecystokinin-induced anxiety: The role of the central nervous system. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *21*(1), 1-10.

López-Valdés, M. (2020). Neurobiología de la ansiedad: Papel de los receptores de acetilcolina. *Revista de Neurología*, *71*(9), 569-576.

Lorke, D. (1983). A New Approach to Practical Acute Toxicity Testing, Institut fur Toxikologie, Bayer AG., *Arch Toxicol*, *54*, 275-287.

Lot, A. & Chiang, F. (1986). Manual de herbario. *Administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos*. México. Consejo Nacional de la Flora de México.

Lozoya, X. y M. Lozoya. (1982). *Flora medicinal de México. 1. Plantas indígenas*. México. Instituto Mexicano del Seguro Social, IMMS.

Macáková, K., Afonso, R., Saso, L., & Mladěnka, P. (2019). The influence of alkaloids on oxidative stress and related signaling pathways. *Free Radical Biology & Medicine*, *134*, 429–444.

Macready, A., Kennedy, O., Ellis, J., Williams, C., Spencer, J., & Butler, L. (2009). Flavonoids and cognitive function: a review of human randomized controlled trial studies and recommendations for future studies. *Genes & Nutrition*, *4*(4), 227-242.

Majinda, R., Wanjala, C. & Juma, B. (2005). Bioactive non-alkaloidal constituents from the genus *Erythrina*. Studies. *Natural Products Chemistry*, *32*, 821-853.

Mansouri, M. T., Soltani, M., Naghizadeh, B., Farbood, Y., Mashak, A., & Sarkaki, A. (2014). A possible mechanism for the anxiolytic-like effect of gallic acid in the rat elevated plus maze. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *117*, 40-46.

Martin, E. I., Ressler, K. J., Binder, E., y Nemeroff, C. B. (2009). The Neurobiology of Anxiety Disorders: Brain Imaging, Genetics, and Psychoneuroendocrinology. *Psychiatric Clinics of North America*, *32*(3), 549–575.

Martins, J. & Brijesh, S, (2020). Anti-depressant activity of *Erythrina variegata* bark extract and regulation of monoamine oxidase activities in mice. *Journal of Ethnopharmacology, 248,* 1-12.

Mata-González, S. (2015). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Erytrina americana* Miller y *Erythrina coralloides* DC (Fabaceae). [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. TESIUNAM.

Medina-Mora, M., Borges, G., Lara, C., Benjet, C., Blanco, J., Fleiz, C., Villatoro, J., Rojas, E., Zambrano, J., Casanova, L. & Aguilar-Gaxiola, S. (2013). Prevalencia de Trastornos Mentales y Uso de Servicios: Resultado de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México. *Salud Mental*, *26*(4), 1-16.

Montaño-Reyes, A. (2016). Evaluación de la actividad antiinflamatoria de *Erythrina americana* Miller. [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. TESIUNAM.

Montgomery, K. & Monkman, J. (1955). The relation between fear and exploratory behavior. *Journal of Comparative*. *Physiological Psychology*, *48*, 132-136.

Murray, C., Phill, D. & Lopez, D. (2013). Measuring the global burden of disease. *The New England Journal of Medicine*, *369*(5), 448-457.

Nagaraja, T., Mahmood, R., Krishna, V., Thippeswamy, B. & Veerapur, V. (2012). Evaluation of Anxiolytic effect of *Erythrina mysorensis* Gamb. in mice. *Indian Journal of Pharmacology*, *44*(4), 489-492.

Nelson, N. (2012). Modeling mouse, human, and discipline: Epistemic scaffolds in animal behavior genetics. *Social Studies of Science*, *43*(1), 3-29.

Nemeroff, C. B. (2003). The role of GABA in the pathophysiology and treatment of anxiety disorders. *Psychopharmacology Bulletin*, *37*(4), 133-146.

Neill, D. (1988). Experimental studies on species relationships in *Erythrina* (Leguminosae: Papilionoideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *75*, 886-969.

Nierenberg, A. A., & DeCecco, L. M. (2007). Definitions of antidepressant treatment response, remission, nonresponse, partial response, and other relevant outcomes: A focus on treatment-resistant depression *Journal of Clinical Psychiatry*, *68*(8), 7-10.

NIMH. National Institute of Mental Health. (2022). Trastornos de ansiedad. Recuperado de https://www.nimh.nih.gov/health/topics/anxiety-disorders

NOM-062-ZOO-1999. *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria*. México, D.F., 22 de Agosto de 2001.

Oliveira, D., Zamberlam, C., Barreta, R., Maia, G., Cerutti, J., Cavalheiro, A. & Cerutti, S. (2014). Flavones from *Erythrina falcata* are modulators of fear memory. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *14*, 288.

Olugbemide, A. S., Ben-Azu, B., Bakre, A. G., Ajayi, A. M., Femi-Akinlosotu, O., & Umukoro, S. (2021). Naringenin improves depressive- and anxiety-like behaviors in mice exposed to repeated hypoxic stress through modulation of oxido-inflammatory mediators and NF-kB/BDNF expressions. *Brain Research Bulletin*, *169*, 214-227.

Onusic, G. M., Nogueira, R.L., Pereira, A.M.S. & Viana, B.M. (2002). Effect of acute treatment with a water-alcohol extract of *Erythrina mulungu* on anxiety-related responses in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *35*, 473-477.

Onusic, G. M., Nogueira, R.L., Pereira, A.M.S., Flausino, O.A. & Viana, B.M. (2003). Effect of the chronic treatment with a water-alcohol extract of *Erythrina mulungu* on anxiety-related responses in rats. *Biological and Pharmaceutical Bolletin*, *26*(11), 1538-1542.

Osti-Castillo, M. D. R., Torres-Valencia, J. J. M., Villagómez-Ibarra, J. R., & Castelán-Pelcastre, I. (2010). Estudio químico de cinco plantas mexicanas de uso común en la medicina tradicional. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, *9*(5), 359-367.

Panayotis, N., Freund, P. A., Marvaldi, L., Shalit, T., Brandis, A., Mehlman, T., Tsoory, M. M., & Fainzilber, M. (2021). β-sitosterol reduces anxiety and synergizes with established anxiolytic drugs in mice. Cell reports. *Medicine*, *2*(5), 100281.

Panche, A., Diwan, A. & Chandra, S. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, *5*(e47), 1-15.

Pellow, S. & File, S. (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, *24*, 525-529.

Pellow, S., Chopin, P., File, S. & Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus- maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, *14*, 149-167.

Pereira, P., de Oliveira, P. A., Ardenghi, P., Rotta, L., Henriques, J. A., & Picada, J. N. (2006). Neuropharmacological analysis of caffeic acid in rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, *99*(5), 374-378.

Pérez de la Mora, M. (2003). Dónde y cómo se produce la ansiedad: sus bases biológicas. *Ciencia* (Academia Mexicana de las Ciencias), *54* (2), 16-28.

Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, *63*(7), 1035-1042.

Pino-Rodríguez, S., Prieto-González, S., Pérez-Rodríguez, M.E., Molina-Torres, J. (2004). Género *Erythrina*: Fuente de metabolitos secundarios con actividad biológica. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, *23*(2), 252-258

Pitchaiah, G., Viswanatha, G., Srinath, R., Nadakumar, K., Dayabaran, D. & Florance, E. (2010). Anxiolytic and anticonvulsant activity of aqueous extract of stem bark of *Erythrina variegate* in rodents. *International Journal of Pharm Tech Research*, *2*(1), 40-48.

Polanco, L., Vargas-Irwin, C. & Eduardo, M. (2011). Modelos animales: una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad. *Suma Psicológica*, *18*(2), 141-148.

Rachman, S. (2012). Health anxiety disorders: A cognitive construal. *Behaviour Research and Therapy*, *50*(7-8), 502-512.

Raupp, I.M., Serenki, A., Virtuoso, S., Ghislandi, C., Cavalcanti, E.L., Trebien, H.A., Miguel, O.G. & Andreatini, R. (2008). Anxiolytic-like effect of chronic treatment with *Erythrina velutina* extract in the elevated plus-maze test. *Journal of Ethnopharmacology*, *118*, 295-299.

Ribeiro, M., Onusic, G., Poltronieri, S. & Vania, M. (2006). Effect of *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in rats submitted to animal models of anxiety and depression. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *39*, 263-270.

Rickels, K., & Rynn, M. (2002). Overview and clinical presentation of generalized anxiety disorder. *Psychiatric Clinics*, *25*(1), 17-31.

Rodgers, R. & Johnson, N. (1995). Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine Elevated Plus-Maze Test of Anxiety. *Pharmacology Biochemistry and behavior*, *52*(2), 297-303.

Rodrigues, M., Nastri-De-Luca, A., Da-Silva, V. & Ávila, L. (2011). Anxiolytic-like effects of erythrinian alkaloids from *Erythrina suberosa*. *Química Nova*, *34*(5), 808-811.

Ruiz-López, C. (2012). Efecto de la fracción de alcaloides liberados y erisopina alcaloide aislado de *Erytrina americana*, sobre una tarea de Laberinto T Elevado. [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. TESIUNAM.

Santos, D., Aparecida, S., Salomão, A., Anderson, M., Aparecida, H., Ferreira, W., Soares, A., Siqueira, A. & Oliveira R. (2012). Erysothrine, an alkaloid extracted from flowers of *Erythrina mulungu* Mart. ex Benth: Evaluating its anticonvulsant and anxiolytic potential. *Epilepsy & Behaviour*, *23*, 205-2012.

Sarmiento, J., Zea, S., Saa, M. & Peñaherrera, E. (2018). Sedative and anxiolytic effect of the methanolic extract of *Erythrina edulis* Triana ex Micheli in mice. *Bionatura*

Conference Series, *1.* Recuperado de http://dx.doi.org/10.21931/RB/CS/2018.01.01.7

Sarris, J., Panossian, A., Schweitzer, I., Stough, C., & Scholey, A. (2011). Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence. *European Neuropsychopharmacology*, *21*(12), 841-860.

Scheepens, A., Bisson, J. F., & Skinner, M. (2014). p-Coumaric acid activates the GABA-A receptor in vitro and is orally anxiolytic in vivo. *Phytotherapy Research PTR*, *28*(2), 207-211.

Simpson, H., & Nutt, D. J. (2005). Serotonin and anxiety disorders: A critical overview. *Neuropsychopharmacology*, *30*(1), 1-23.

Stahl, S. M. (2013). *The Prescriber's Guide* (Stahl's Essential Psychopharmacology). EE.UU. Cambridge University Press.

Taborda, B., Telles, I., Pareja, L., Niell, S., Jesús, F., & López, A. (2018). Comparación de diferentes métodos de extracción para la determinación del perfil lipídico en semillas de quinoa. *Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay*, *17*(17), 78-87.

Tanaka, H., Etoh, H., Shimizu, H., Oh-Uchi, T., Terada, Y., & Tateishi, Y. (2001). Erythrinan alkaloids and isoflavonoids from *Erythrina poeppigiana*. *Planta Médica*, *67*(9), 871-873.

Teixeira-Silva, F., Neves, S.F., Figueirdo, O.S.D., Silva, A.M.F, Araujo, N.V., Moreira, de P.I.C., Dos Santos, E.C., Antoniolli, A.R. & Marchioro, M. (2008). Benzodiazepine-like effects of the alcohol extract from *Erythrina velutina* leaves: memory, anxiety and epilepsy. *Pharmaceutical Biology*, *46*(5), 321-328.

Tortella-Feliu, M. (2014). Los Trastornos de Ansiedad en el DSM-5: Anxiety disorders in DSM-5. *Revista Iberoamericana de Psicosomática*, *110*, 62-69.

Trivedi, M. H., Fava, M., Wisniewski, S. R., Thase, M. E., Quitkin, F., Warden, D., Ritz, L., Nierenberg, A. A., Lebowitz, B. D., Biggs, M. M., Luther, J. F., Shores-Wilson, K., Rush, A. J., & STAR*D Study Team (2006). Medication augmentation after the failure of SSRIs for depression. *The New England Journal of Medicine*, *354*(12), 1243-1252.

Valencia, D.T.G. & Garín, A. M. E. (2010). Manual de prácticas de productos naturales. México. Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología.

Vasconcelos, S., Lima., N., Sales, G., Cunha, G., Aguiar, L., Silveira, E., Rodrigues, C., Macedo, D., Fonteles, M., Sousa, F. & Viana G. (2007). Anticonvulsant activity of hydroalcoholic extracts from *Erthrina velutina* and *Erythirna mulungu*. *Journal of Ethnopharmacology*, *110*, 271-274.

Vasconcelos, S., Macedo, D., Thiciane, C., Monteiro, A., Rodrigues, A., Silveira, E., Cunha, G., Sousa, F., & Viana, G. (2004). Central activity of hydroalcoholic extracts form *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *56*, 389-393.

Vázquez-Cruz, B., Bautista-Pérez, M., Segura-Cobos, D., Barral-Caballero, J. (2014). Farmacología General. Principios Básicos. México. Universidad Nacional Autónoma de México.

Vijender, K. Zulfiqar, A. & Dinesh, K. (2013). Animal models of anxiety: A comprehensive review. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, *68*, 175-183.

Virgen, R., Lara, A., Morales, G. &Villaseñor, S. (2005). Los trastornos de ansiedad. *Revista Digital Universitaria*, *6*(11), 1-11.

Vissiennon, C., Nieber, K., Kelber, O., & Butterweck, V. (2012). Route of administration determines the anxiolytic activity of the flavonols kaempferol, quercetin and myricetin - are they prodrugs? *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *23*(7), 733-740.

Wang, X., & Wu, J. (2019). Glutamate synthesis and metabolism in the brain: From molecular mechanisms to physiological functions. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *106*, 1-13.

WHO. World Health Organization. (2016). Investing in treatment for depression and anxiety leads to fourfold return. Recuperado de http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/en/

WHO. World Health Organization. (2022). Trastornos mentales. Recuperado de https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders

Zeng, Y., & Li, X. (2020). Role of acetylcholine in anxiety disorders: A review of preclinical and clinical findings. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *106*, 1-13.

Zhang, J. (2004). Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. *Life Sciences*, *75*:1659-1699.

Zuluaga, M., Agrati, D., Pereira, M., Uriarte, N., Fernandezguasti, A. & Ferreira, A. (2005). Experimental anxiety in the black and white model in cycling, pregnant and lactating rats. *Physiology & Behavior*, *84*(2), 279-286.