



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**ANÁLISIS FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN DEL
EFECTO ANSIOLÍTICO DE *Psidium guajava* L. y
Psidium guineense SW.**

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:

CARLOS ALONSO GONZÁLEZ MONTES



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. EVA AGUIRRE HERNÁNDEZ**

**ASESORA:
DRA. HORTENSIA ROSAS ACEVEDO**

AGOSTO 2017

CIUDAD DE MÉXICO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos.

Principalmente a mi directora de tesis, la Dra. Eva Aguirre Hernández por todo el apoyo, constancia, paciencia y dedicación que me brindó para la realización de este estudio. Gracias por todos los retos que tuvimos que enfrentar para sacar adelante el proyecto, por la confianza brindada a lo largo de la tesis, ya que sin su orientación esto no hubiera sido posible.

De manera muy especial a la Dra. Hortensia Rosas Acevedo, que desde quinto semestre de licenciatura, fue mi guía y ejemplo de cómo ser una bióloga de excelencia. Por las prácticas de campo, las horas en el laboratorio, los cursos y brindarme la confianza y honor de ser uno más de sus alumnos. Gracias por todo.

A la M. en C. Lizeth Zavala, quien me orientó y proporcionó asesoría durante todo el proceso, muchas gracias.

A la Dra. María Eva González Trujano por abrirme las puertas del Instituto Nacional de Psiquiatría y brindarme las herramientas necesarias para desarrollar el proyecto.

Al Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México por la asesoría técnica proporcionada por parte del Dr. Enrique Pinzón Estrada y el Dr. Ismael Torres Saldaña.

Dedicatorias.

¡Mamá! ¡Papá! Esto es por y para ustedes, son los mejores. Gracias por darme la vida, aceptarme, regalarme una buena educación y el mejor ejemplo de vida, **los amo eternamente.**

A mi abuelita Judith, que siempre está conmigo y sé que está muy orgulloso de mi, eres la mejor. Te amo.

Alan, Ángel y Ricardo: sin su energía, cariño y compañía, mi vida hubiera sido un desastre. DulceS, eres la niña de mis ojos, la sobrina más hermosa y con la ternura tatuada en la piel, quisiera que nunca crecieras.

Aldair: agradezco profundamente que te hayas cruzado en mi camino, por acompañarme siempre y alentarme a ser mejor persona. Todo el esfuerzo y dedicación en este proyecto es para un bien común. Llenaste mi mundo de ilusión y amor, no cabe duda que mi vida está completa a tu lado. Quiero que esto sea el inicio de la mejor historia. Gracias por tanto, te amo.

Mi más sincero y personal agradecimiento a mi compañera y amiga Yamile, porque sin ti no me hubiera sabido igual la licenciatura, gracias por ser mi ejemplo, pilar y quien siempre me acompaña a donde vaya. Eres la mejor.

Alina, eres mi mano derecha, el mejor paño de lágrimas y aventuras, aún nos faltan muchos caminos que recorrer. Isa a pesar de que llegaste un poco tarde (como siempre) a mi vida, quiero que nunca te vayas. Nathali, mi vecina y amiga, gracias por abrirme las puertas de tu casa tantas veces. Javi eres el mejor amigo que tengo, te quiero. Viri por estar en las ocasiones importantes siempre, por decir las palabras que solo tú pronuncias en los momentos adecuados. Son la mejor parte que me dejó Zaragoza, sin sus locuras, aventuras y compañía, todo habría salido mal. Los llevo en el corazón.

A mis compañeros y amigos tesistas del Laboratorio 503 de la FES-Z, Óscar, Lalo, Pato, Angie y Fany por tantas risas, caídas y tropezones que pasamos juntos.

Ana, Elisa y Mitzi, a pesar de la distancia y ocupaciones siempre estamos ahí, contra todo y todos. Gracias por tanta alegría en mi vida desde el CCH.

Adri, Diana Maldonado y Diana Santos porque crecer al lado de ustedes es mi mayor satisfacción, las amo.

Karina, Daphne y Liliana, por todos los momentos que vivimos juntos, las sigo teniendo en mente, siempre.

Lau y Fer, sin su ayuda no hubiera sido posible esto. Gracias por apoyarme tanto.

A mis padres, por todo su apoyo y amor.
A mis hermanos, por alegrarme mis días.

Contenido	Pág
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. ANTECEDENTES.....	4
3.1. Botánica	4
3.1.1 Descripción botánica y distribución de <i>Psidium guajava</i> L.	4
3.1.2 Descripción y distribución de <i>Psidium guineense</i> Sw.	7
3.2 Etnobotánica	10
3.2.1 Nombres comunes de <i>Psidium guajava</i>	10
3.2.2 Usos de <i>Psidium guajava</i>	10
3.2.3 Nombres comunes de <i>Psidium guineense</i>	10
3.2.4 Usos de <i>Psidium guineense</i>	11
3.3 Química	11
3.3.1 Compuestos presentes en <i>Psidium guajava</i>	11
3.5. Farmacología de <i>Psidium guajava</i> L.	19
3.6. Ansiedad	21
3.6.2 Clasificación y epidemiología	21
3.6.3 Fármacos usados en el tratamiento de la ansiedad	23
3.7.1. Principios activos aislados de plantas con actividad ansiolítica.....	28
4. HIPÓTESIS.....	33
5. OBJETIVOS.....	33
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
6.1. Material biológico y obtención de los extractos	34
6.2 Fraccionamiento cromatográfico de los extractos metanólicos de <i>P. guajava</i> y <i>P. guineense</i>.	35
6.3 Análisis por CLAR de los extractos metanólicos de <i>P. guajava</i> y <i>P. guineense</i>	36
6.3.1. Análisis de terpenos.....	36
6.3.2. Análisis de flavonoides.....	36
6.3.3. Preparación de las muestras para inyección en el CLAR.....	37
6.3.4. Elaboración de curvas patrón.....	37
6.4 Animales utilizados en los modelos experimentales	37
6.5 Preparación de los extractos y fármacos	38
6.6 Evaluación farmacológica.	39

6.6.1 Potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico (PS).....	39
6.6.2 Evaluación de la actividad exploratoria.	39
6.6.3 Efecto ansiolítico y/o sedante.....	40
6.7 Determinación de la DL₅₀	41
6.8 Análisis estadístico.....	42
7 RESULTADOS	42
7.1 Fitoquímica	42
7.1.1 Rendimiento.....	42
7.2 Análisis por CLAR del extracto metanólico de <i>P. guajava</i>.....	43
7.2.1 Identificación y cuantificación de terpenos	43
7.2.2 Identificación y cuantificación de flavonoides	44
7.3 Análisis por CLAR de los extractos metanólicos de <i>P. guineense</i>.....	45
7.3.1. Identificación y cuantificación de terpenos	45
7.3.2. Identificación y cuantificación de flavonoides.	46
7.4. Concentración de metabolitos en los extractos metanólicos de <i>Psidium guajava</i> y <i>Psidium guineense</i>.....	47
7.5 Evaluación farmacológica del extracto metanólico de <i>P. guajava</i>	48
7.5.1 Efecto ansiolítico y actividad exploratoria del extracto administrado	48
7.5.2 Potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico del extracto de <i>Psidium guajava</i>	49
7.6 Evaluación farmacológica del extracto metanólico de <i>P. guineense</i>	50
7.6.1 Efecto ansiolítico y actividad exploratoria del extracto administrado	50
7.6.2 Potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico del extracto de <i>Psidium guineense</i>	51
7.7 Dosis letal 50	52
8 DISCUSIÓN	53
9 CONCLUSIÓN.....	59
10 RECOMENDACIÓN	60
11. BIBLIOGRAFÍA	61
12. ANEXOS	70

1. RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto ansiolítico y sedante de los extractos metanólicos de *Psidium guajava* y *Psidium guineense*, determinando la presencia de terpenos y flavonoides en dichos extractos. Los extractos fueron obtenidos mediante maceración de las hojas con hexano, acetato de etilo y metanol. El análisis fitoquímico de este último extracto se llevó a cabo mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución para identificar terpenos y flavonoides como posibles constituyentes bioactivos. Para la evaluación del efecto ansiolítico se utilizaron ratones macho CD1, a los cuales se les administró por vía i.p. las dosis de 1, 10, 30, 50 y 100 mg/kg de extracto y posteriormente se realizaron los ensayos de campo abierto, tablero con orificios, brazos abiertos y potenciación la hipnosis inducida por pentobarbital sódico. También se determinó la toxicidad agua (DL₅₀). La evaluación farmacológica del extracto de *P. guajava* en el modelo de brazos abiertos, muestra un efecto ansiolítico significativo con respecto al control en dosis bajas (1-10 mg/kg) y sedación en dosis altas. Referente a *P. guineense* todas las dosis evaluadas reducen la exploración de los ratones en brazos abiertos, observándose un efecto sedante. En la prueba del pentobarbital sódico, las dos especies incrementan la duración del sueño de manera similar al fármaco de referencia (diazepam 0.1 mg/kg, i.p.). El análisis cromatográfico permitió identificar compuestos con actividad ansiolítica y sedante: ácido ursólico, α -amirina, β -sitosterol, ácido oleanólico, apigenina, naringenina, quercetina y rutina. Los resultados farmacológicos muestran el efecto depresor sobre el sistema nervioso central de *P. guajava* y *P. guineense* proponiendo su uso terapéutico para los trastornos de ansiedad. La dosis letal cincuenta (DL₅₀) sugiere que la administración oral de los extractos es segura al menos en dosis aguda.

2. INTRODUCCIÓN

La ansiedad es uno de los trastornos psiquiátricos más comunes, aproximadamente 40 millones de adultos son afectados por este trastorno que con el tiempo también puede causar o aumentar el riesgo de enfermedades cardiovasculares y del comportamiento (Weissman et al., 1990). Aproximadamente dos tercios de los pacientes diagnosticados con ansiedad responden bien a los tratamientos disponibles actualmente, pero la magnitud de la mejora es todavía decepcionante, por otra parte estos tratamientos producen efectos secundarios sistémicos como la dependencia y la tolerancia al tratamiento prolongado (Chatterjee et al., 2013).

En el tratamiento de los trastornos de ansiedad, las benzodiazepinas son ahora reemplazados poco a poco por los antidepresivos, que no sólo son eficaces en la depresión, sino también en el tratamiento agudo y a largo plazo de los principales trastornos de ansiedad (Buller & Legrand, 2001). Las indicaciones clínicas para muchos de los nuevos compuestos incluyen tanto la ansiedad y la depresión. Sin embargo, debido a la eficacia limitada de los fármacos actuales, la necesidad de nuevos tratamientos, mayor tolerancia y eficacia sigue siendo alta. Las terapias a base de plantas podrían ser consideradas como medicina alternativa y/o complementaria (Mora, et al. 2005).

Farmacopeas antiguas de diferentes regiones del mundo han registrado numerosos medicamentos a base de hierbas con potencial psicotrópico. Estos ofrecen un vasto repertorio de sustancias potenciales que se pueden desarrollar en los productos farmacéuticos psiquiátricos modernos. De hecho, casi el 25% de los medicamentos convencionales de hoy en día se originaron directa o indirectamente de las plantas; muchas drogas psicoactivas valiosas, tales como la yohimbina, la efedrina, tubocurarina, y la galantamina, se descubrieron a través de estudios etnobotánicos o etnofarmacológicos (Zhang, 2004).

Un número cada vez mayor de productos a base de hierbas, representada por hierba de San Juan, el ginseng y el *Ginkgo biloba*, se han introducido en la práctica psiquiátrica en la última década. También hay muchos fitofármacos cuyo potencial

terapéutico ha sido evaluado en una variedad de modelos animales y cuyos mecanismos de acción se han investigado a través de enfoques neuroquímicos. Estos estudios han proporcionado información útil para el desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos de plantas medicinales para su uso en la psiquiatría clínica (Zhang, 2004).

Se considera fundamental la realización de estudios que identifiquen oportunamente los trastornos de ansiedad en los pacientes afectados y sean tratados adecuadamente para reducir su discapacidad laboral y funcional que pueden llegar a presentar en su actividad diaria, ya que los principales medicamentos utilizados tienen efectos secundarios como la sedación y dependencia farmacológica. Por lo tanto, es necesario encontrar una alternativa natural que ayude a disminuir los síntomas de la ansiedad para que no haya repercusiones en la vida cotidiana de las personas diagnosticadas.

A pesar de que los medicamentos herbolarios se han usado durante muchos siglos, solo una pequeña cantidad de plantas se ha estudiado para las posibles aplicaciones médicas. Se dispone de datos sobre la seguridad y la eficacia de un número aún menor de plantas, sus extractos y principios activos.

La investigación reportada por Pérez et al. en (2008), evalúa los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de las hojas de *Psidium guajava*, mostrando que la administración intraperitoneal del extracto de metanol, ocasiona en los ratones, efectos similares a los narcóticos, incluyendo catalepsia, analgesia, cola de Straub, movimientos respiratorios poco profundos y exoftalmos. Estos resultados sugieren que los compuestos de naturaleza polar son depresores del sistema nervioso central. Por ello, en este trabajo se realizó la evaluación del efecto ansiolítico de los extractos metanólicos de *Psidium guajava* y *Psidium guineense*, así como la identificación y cuantificación de terpenos y flavonoides presentes en dichos extractos. Además, se pretende que la comunidad de Zacango, Guerrero, amplíe los usos de ambas plantas, ya que sólo se le reconoce a *Psidium guajava* por su efecto en el aparato digestivo y la importancia comercial del fruto, y *Psidium*

guineense es reconocida por su uso en la elaboración de dulces típicos de la región. De esta manera, se propone su aplicación como un tratamiento alternativo de los trastornos de ansiedad.

3. ANTECEDENTES

3.1. Botánica

3.1.1 Descripción botánica y distribución de *Psidium guajava* L.

Arbustos o árboles pequeños, hasta de 10 m de altura y 60 cm de d.a.p.; fuste generalmente retorcido; corteza lisa, pardo-rojiza, exfoliándose en escamas delgadas, largas, grisáceas e irregulares, exponiendo una corteza interna de amarillo-rosada a pardo-rosada O pardo oscura; ramas cilíndricas, lisas, glabras, generalmente retorcidas; ramitas jóvenes pardo-verdosas, usualmente cuadrangulares, en cada ángulo con una ala diminuta; yemas vegetativas densamente sedoso-plateado tomentosas; pelos en su mayoría adpresos, suaves, plateado-grisáceos o pálido-rojizos, hasta de 0.5 mm de largo. Hojas verde-claro o verde amarillentas y opacas en el haz, gris-verdosas o pardo-grisáceas en el envés, elípticas u oblongas, (4-) 6-14 cm de largo, (1.5-) 3-6 cm de ancho, finamente pubescentes o glabras en el haz, densamente adpreso-pubescentes en el envés, glandular-punteadas, ápice obtuso o redondeado, algunas veces cortamente-apiculado, base redondeada o truncada, nervio central profundamente acanalado, glabro o generalmente pubescente a todo lo largo en el haz, prominente y densamente tomentoso en el envés, nervios laterales 10-15 de cada lado, inmersos en el haz, amarillentos y muy prominentes en el envés, paralelos y muy separados entre sí, con un ángulo de inclinación de 5-55 grados, nervio marginal poco discernible, 1-5 mm del margen; peciolo acanalado, densamente gris-pubescente, 4-9 mm de largo, 1.5-2 mm de ancho. Flores generalmente solitarias u ocasionalmente un dicasio con la flor central séstil; pedúnculo pubescente, 1.5-3 cm de largo, 1-1.5 mm de ancho; yemas piriformes, a la madurez de 13-16 mm de largo, completamente cerradas en el ápice, glandulosas, apiculadas en el ápice;

bracteolas subuladas o filiformes, 3-4 mm de largo, 0.2-0.3 mm de ancho, en las yemas generalmente gris-pubescentes a glabras a la madurez; hipanto contraído en el ápice, densamente gris-pubescente, 5-7 mm de largo, 4-6 mm de ancho en el ápice; cáliz completamente cerrado en las yemas, dividiéndose en la antesis en 4-5 lóbulos o segmentos irregulares, hasta de 1 cm de largo, pubescentes principalmente internamente; pétalos 4-5, blancos, obovados o elípticos, cuculados, 1.5-2 cm de largo, 0.9-1.2 mm de ancho, ciliados, glandulosos; estambres 200-275, de 1-1.5 (-2) cm de largo; anteras linear-oblongas, 0.8-1.2 mm de largo; estigma peltado, aplanado, hasta de 0.5 mm de ancho. Frutos de globosos a piriformes u ovados, 2-6 cm de largo, 3-8 cm de diámetro, de verdes a amarillos o amarillo-rosados al madurar, glabros, coronados en el ápice con los lóbulos del cáliz; pedúnculo glabro o pubescente, 2.1-3 cm de largo; pulpa rosada o blanca, de sabor dulce o agridulce; semillas numerosas, redondeadas, con la testa ósea. (Fig. 1) (Sánchez-Vindas, 1990).

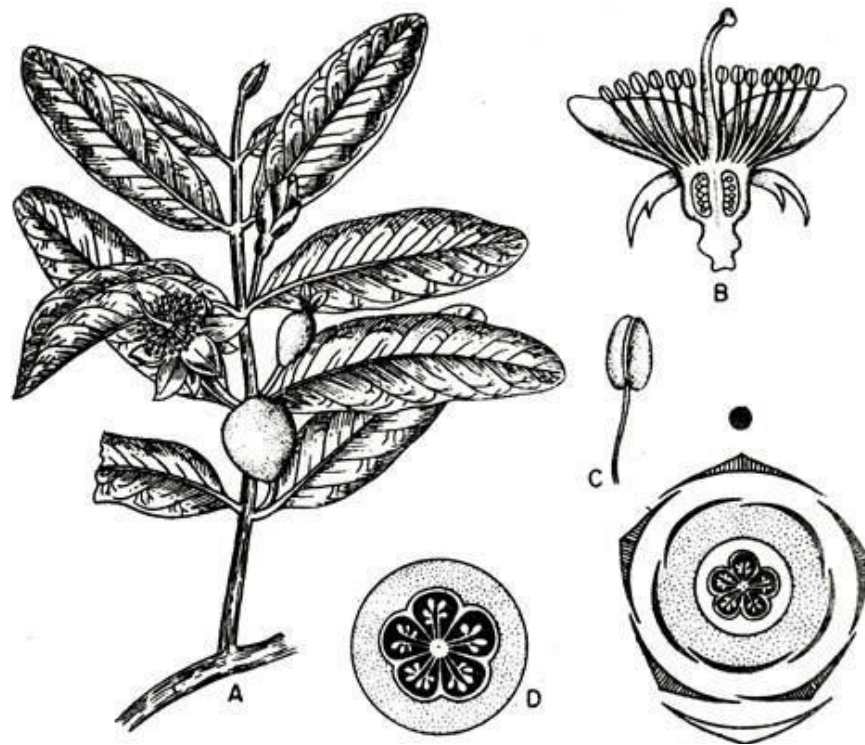


Fig 1. *Psidium guajava*. A, rama con hojas, inflorescencias y frutos inmaduros; B, flor; C, estambre; D, ovario. Ilustración tomada del artículo: "Classification of Myrtiflorae: 9 Families | Dicotyledonae", disponible en <http://www.biologydiscussion.com>.

Psidium guajava crece en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Stone, 1970). Se distribuye a todo lo largo de México; Centroamérica; Las Antillas; zonas tropicales de Sudamérica; naturalizado y cultivado en los trópicos del Viejo Mundo (Sánchez-Vindas, 1990).

Se presenta principalmente en suelos con problemas de drenaje, tanto de origen calizo como metamórfico o ígneo, y es muy abundante en vegetaciones sabanoides dedicadas a pastoreo o en pastizales inducidos, donde el fuego favorece su presencia, y como componente de casi todos los tipos de vegetación de la zona tropical. Su área de distribución ha sido normalmente ampliada por el cultivo. Prospera desde el nivel del mar hasta los 1 500 o 1 700 m de altitud (Fig 2) (Pennington & Sarukhán, 2005).

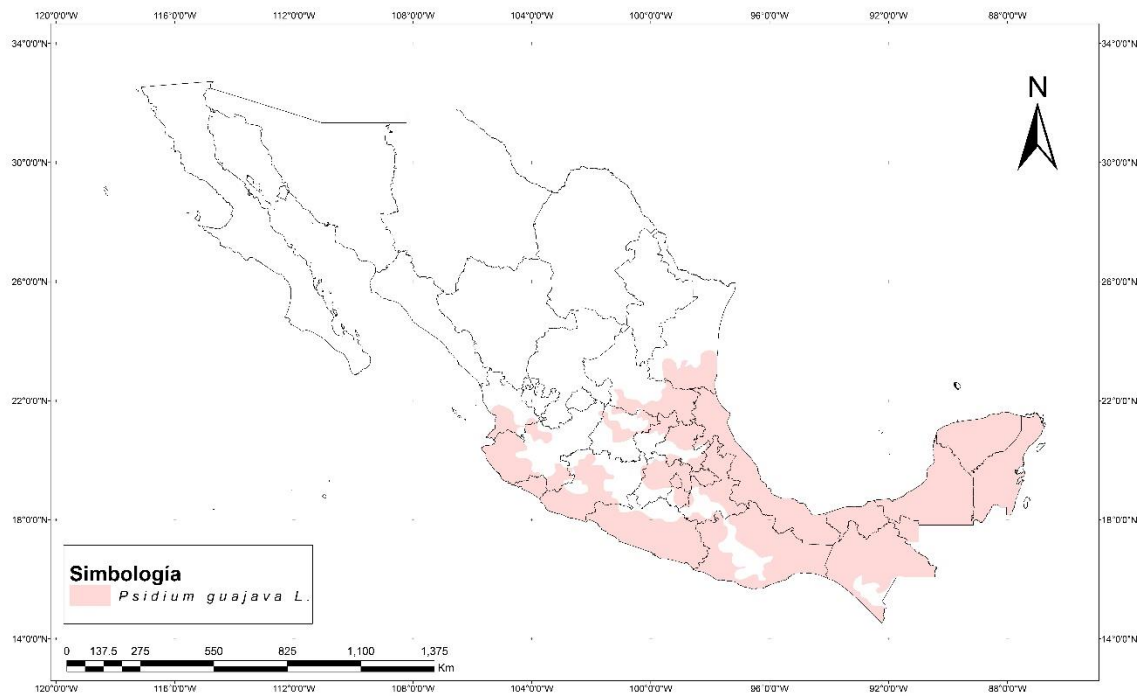


Fig. 2 Mapa de distribución de *Psidium guajava* en México.

3.1.2 Descripción y distribución de *Psidium guineense* Sw.

Generalmente son arbustos, pequeños, 1–3 m de altura, ocasionalmente como árboles hasta 7 m de altura; ramas cilíndricas, grisáceas o pardogrisáceas, diminutamente fisuradas, glabras; ramas jóvenes de cilíndricas a aplanadas, muy pubescentes; pelos erectos o adpresos, suaves, flexuosos, pálido-grisáceos o cobre-rojizos, hasta 1 mm de largo. Hojas pardooscuro (material seco), de ampliamente elípticas a ovadas u ovado-elípticas, algunas obovadas, 6-11.5cm de largo, 4-7.5cm de ancho, coriáceas, glabras o glabradas en el haz, densa y persistentemente pardo a gris-pubescentes en el envés, glándulas poco evidentes, excepto en hojas jóvenes, ápice redondeado a agudo, algunas veces cortamente apiculado, base generalmente redondeada o cuneiforme, nervio central escasamente inmerso y pubescente a todo lo largo del haz, prominente y muy pubescente en el envés, nervios laterales 6-10 de cada lado, muy separados entre sí, fuertemente ascendentes, poco evidentes en el haz, prominentes en el envés, nervios laterales 6-10 de cada lado, muy separados entre sí, fuertemente ascendentes, poco evidentes en el haz, prominentes en el envés, con un ángulo de inclinación de 55-65 grados, nervio marginal poco discernible, 1-2 mm del margen; peciolo acanalado, 5-10 mm de largo, 1-2 mm de ancho, persistentemente pubescente. Inflorescencia variando de un dicasio con la flor central sécil o subsésil y las laterales con pedicelos de 8-16 mm de largo, o en algunas plantas todas las flores solitarias; pedúnculo 17-35 mm de largo, 1-2 mm de ancho cerca del ápice, pubescente; bractéolas filiformes o subuladas, caducas, pubescentes 2-3 mm de largo; yemas completamente cerradas o algo abiertas del ápice, piriformes u ovadas al madurar, de 8-12 mm de largo, 5-6 mm de ancho; hipanto de 4-5 mm de largo, contraído en el ápice persistentemente gris-pubescente; cáliz casi o completamente cerrado en las yemas, en la antesis dividiéndose irregularmente en 4-5 lóbulos, externamente pilosos, densamente gris-pubescente internamente, 7-9 mm de largo, 5-6 mm de ancho; pétalos blancos, elípticos, glandulosos, cuculados, 10-14 mm de largo, 5-7 mm de ancho; estambres 150-200, hasta de 10 mm de largo; anteras lineal-oblongas de 1.2-2.2 mm de largo; ovario 5-6 locular; estilo glabro, hasta de 12

mm de largo. Fruto globoso o piriforme, 1-2.5 cm de largo y diámetro, de verde a amarillo al madurar, de glabro a pubescente principalmente en la base, coronado en el ápice con los lóbulos del cáliz, comestible, pero de sabor no muy agradable cuando es inmaduro; semillas numerosas, con la testa ósea (Fig 3) (Sánchez-Vindas, 1990) .

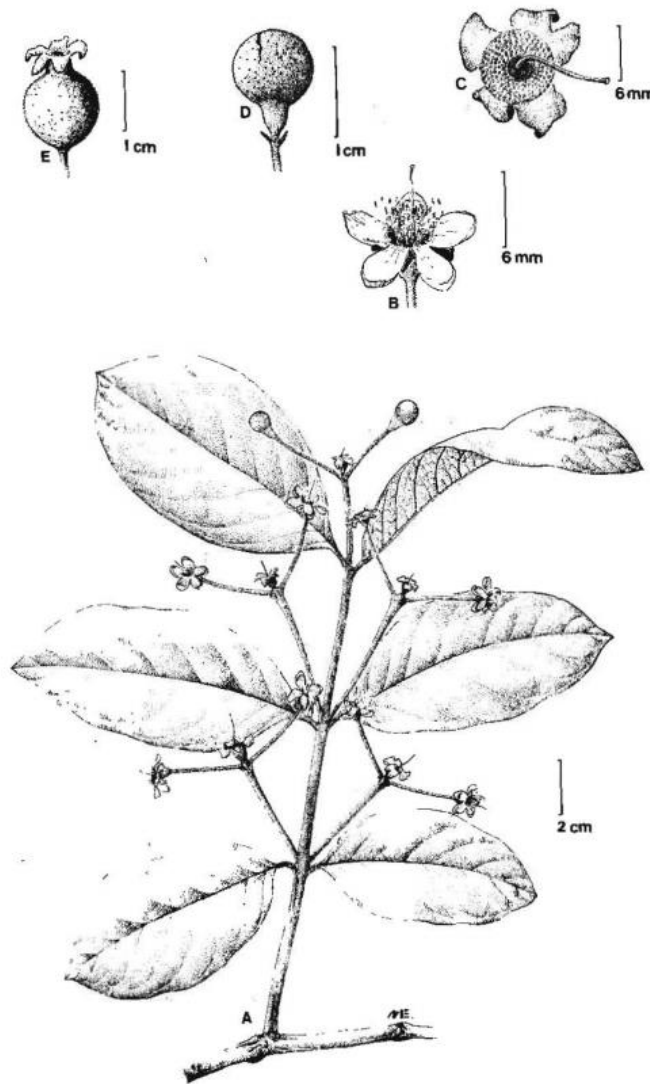


Fig 3. *Psidium guineense*. A, rama con hojas e inflorescencias; B, flor durante la antesis; C, flor vista por arriba luego de la antesis; D, yema floral; E, fruto (Sánchez-Vindas, P. E., 1990).

Psidium guineense se distribuye a todo lo largo de México en una altitud de 300-1200 m, en los tipos de vegetación de bosque de encino; selva baja caducifolia. El periodo de floración es de diciembre a julio (Fig. 4) (Sánchez-Vindas, 1990).

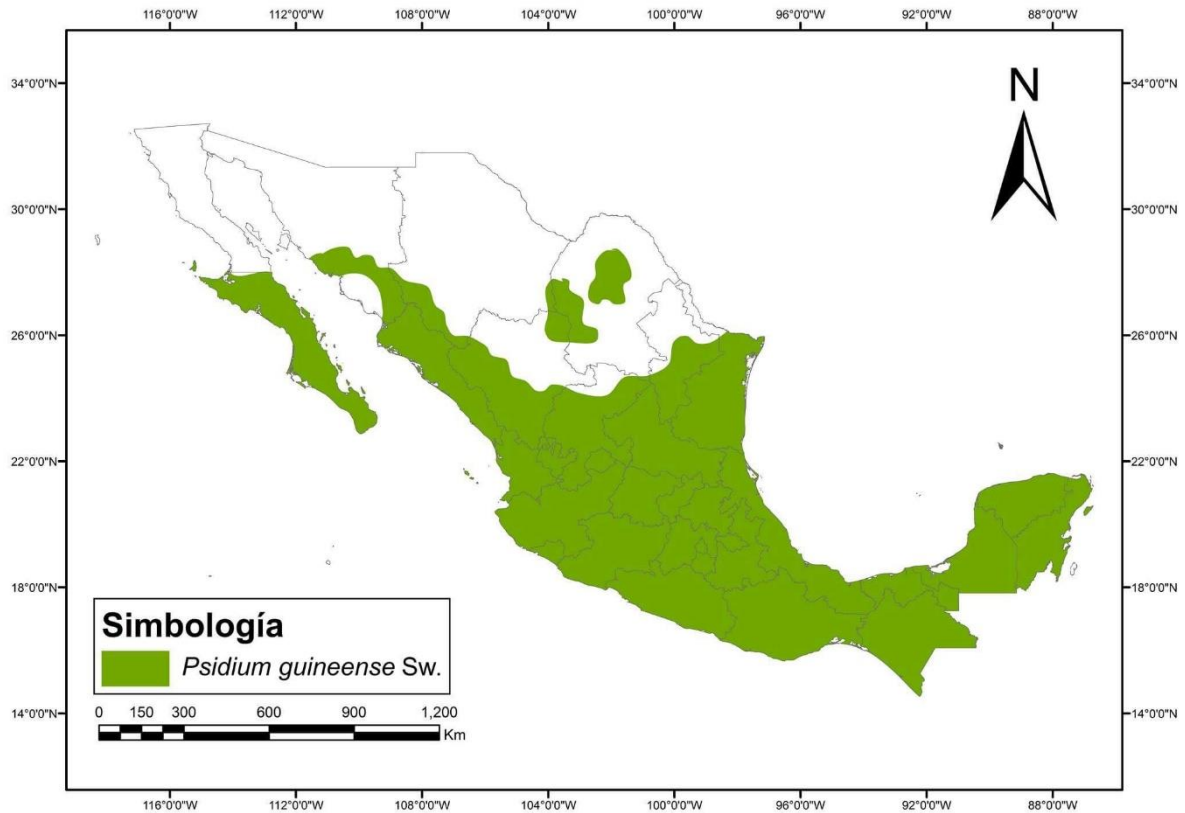


Fig. 4 Mapa de distribución de *P. guineense* en México.

3.2 Etnobotánica

3. 2. 1 Nombres comunes de *Psidium guajava*

Se le conoce con un gran número de nombres comunes en México, pero principalmente son: guayabo para hacer referencia a la planta y guayaba al fruto (Sánchez-Vindas, 1990).

3. 2. 2 Usos de *Psidium guajava*

La madera de *P. guajava* no tiene usos industriales, ya que los árboles nunca alcanzan un diámetro de consideración. El fruto es el principal producto útil de ésta especie, por lo que existen plantaciones de la misma con fines comerciales (Pennington & Sarukhán, 2005).

Es utilizada con frecuencia contra enfermedades gastrointestinales como diarrea, disentería, dispepsia, y dolores de estómago, así como vértigo, náusea y para regular los períodos menstruales mediante la infusión de las hojas tres veces al día o como agua de uso. Por otro lado, se recomienda para la caries, hinchazón, bilis, escarlatina, hemorragia vaginal, heridas, fiebre y deshidratación. Los extractos alcohólicos de hojas y flores han demostrado actividad antibiótica (Gram-) contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* y *Shigella flexneri*. La corteza se usa para cicatrizar heridas de la piel (llagas y úlceras). La raíz para curar hidropesía. El fruto inmaduro es laxante y tiene propiedades hipoglicémicas (Pérez *et al.*, 2008).

3. 2. 3 Nombres comunes de *Psidium guineense*

En la localidad de Zacango, en el municipio de Olinalá, Guerrero se le conoce popularmente con el nombre de tlahuanca.

3. 2. 4 Usos de *Psidium guineense*

Psidium guineense Sw. se diferencia de *Psidium guajava* por ser una planta más pequeña. Se usa como planta medicinal en el interior de Brasil, en una decocción de las raíces para tratar enfermedades urinarias, diarrea y disentería. En Costa Rica se dice que reduce venas varicosas y úlceras en las piernas. Una decocción de la hoja se toma para eliminar fríos y bronquitis (Chavarría, 1998; Akerele, 1991).

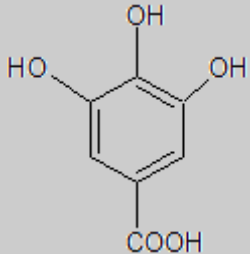
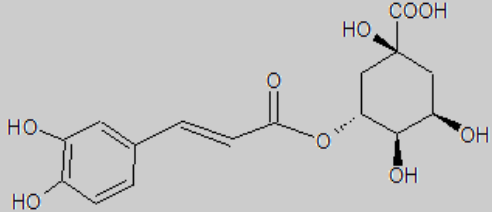
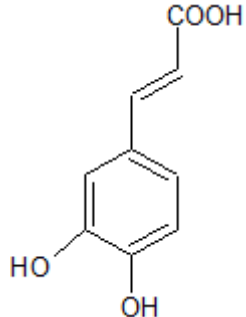
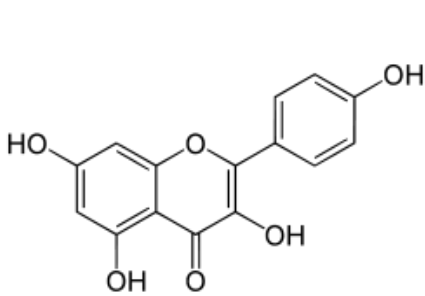
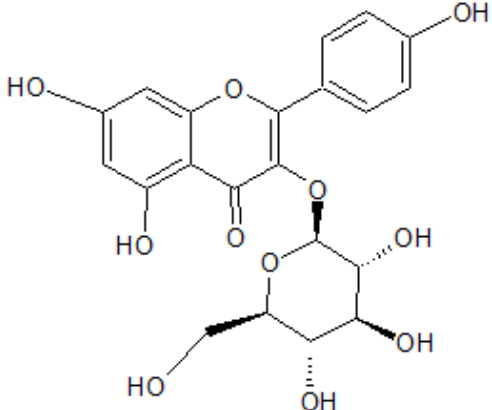
Durante la realización de la investigación, se recopiló información sobre los usos que le dan a *P. guineense* en la comunidad donde se colectó el material vegetal, en la localidad de Zacango cercana al municipio de Olinalá en el estado de Guerrero; siendo la realización de dulces típicos de la región y licor, principalmente del fruto.

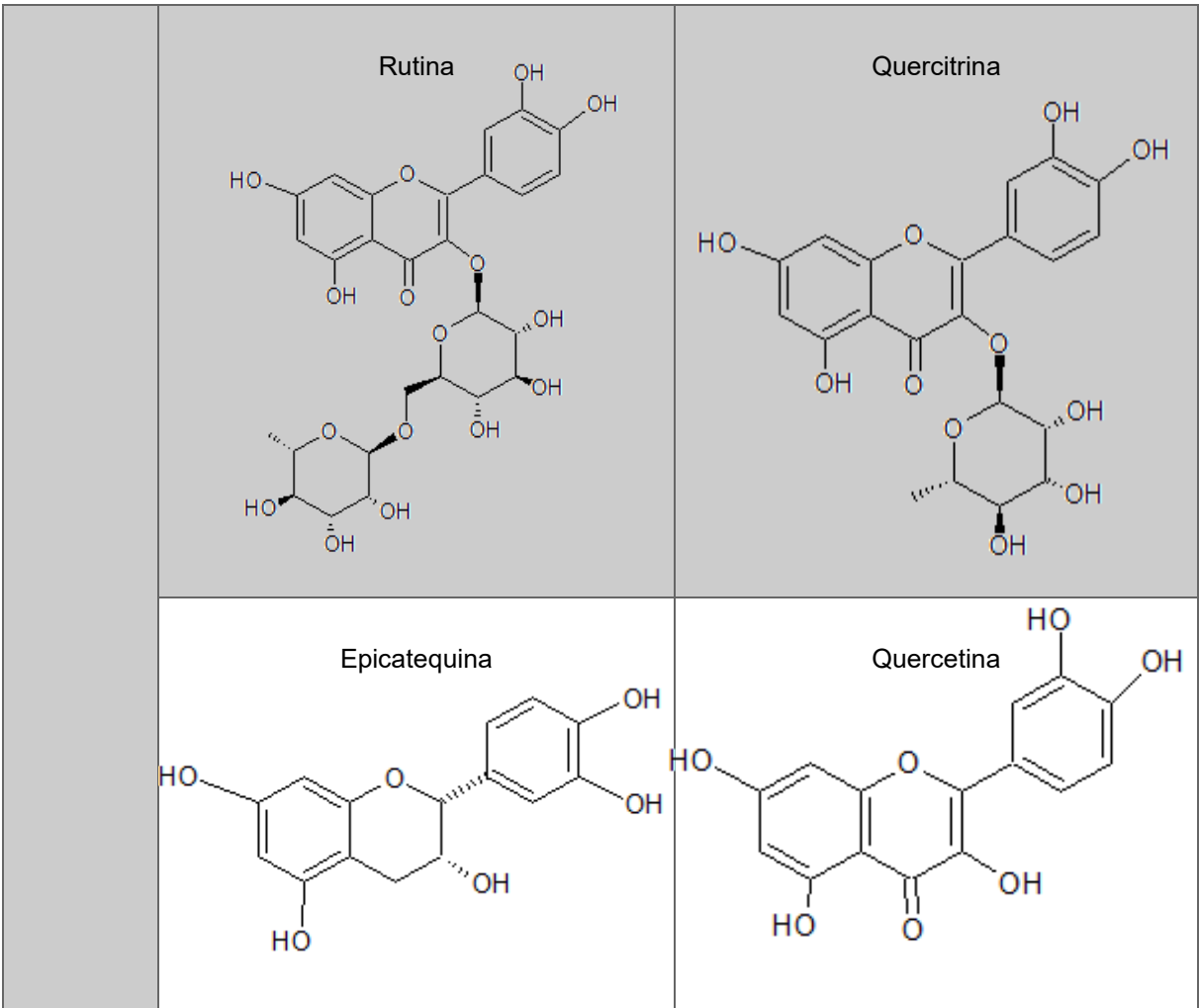
3.3 Química

3.3.1 Compuestos presentes en *Psidium guajava*

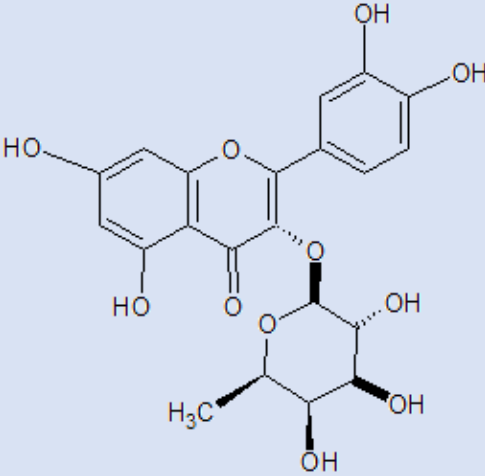
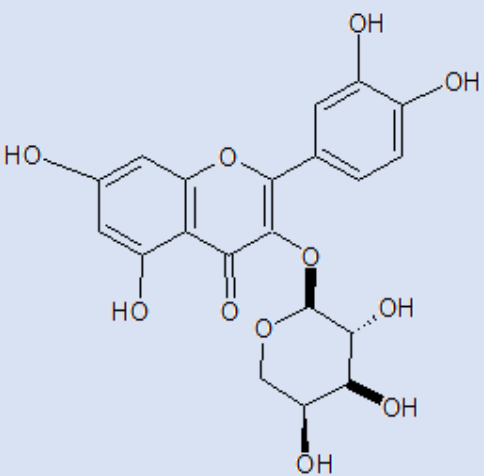
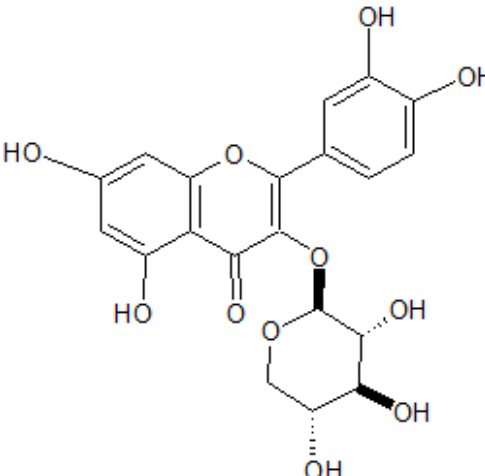
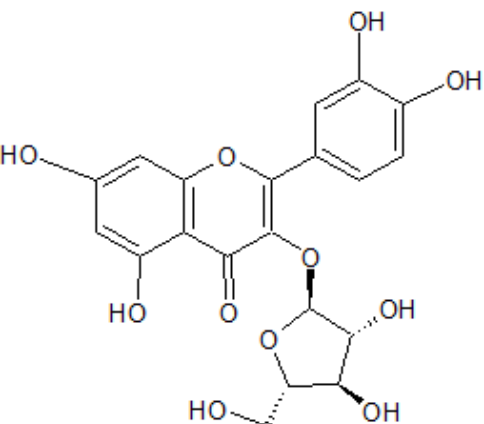
El trabajo realizado por Araújo et al. en (2015), reportan ácidos fenólicos y flavonoides identificados en el extracto metanólico del fruto de *P. guajava*, los cuales están señalados en el cuadro 1. De acuerdo con las investigaciones de Pérez et al. en (2008) y Zhu et al. en (2013), mencionan los flavonoides identificados en los extractos de hexano, acetato de etilo, metanol y agua de las hojas, observados en el cuadro 2. Los autores antes mencionados, también indican la presencia de terpenos, ácidos fenólicos y flavonoides en el extracto metanólico de las hojas, ubicados en el cuadro 3. Pérez et al. en (2008) reporta compuestos en el extracto metanólico del botón floral, señalados en el cuadro 4.

Cuadro 1. Compuestos presentes en frutos de *P. guajava* (Araújo et al., 2015).

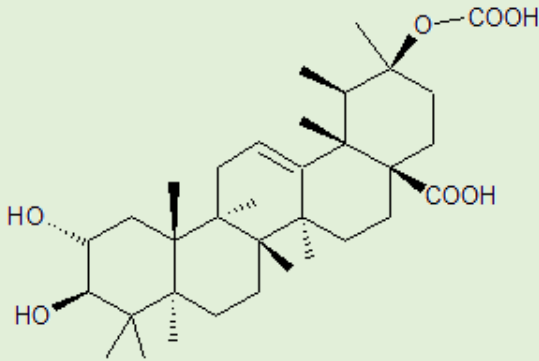
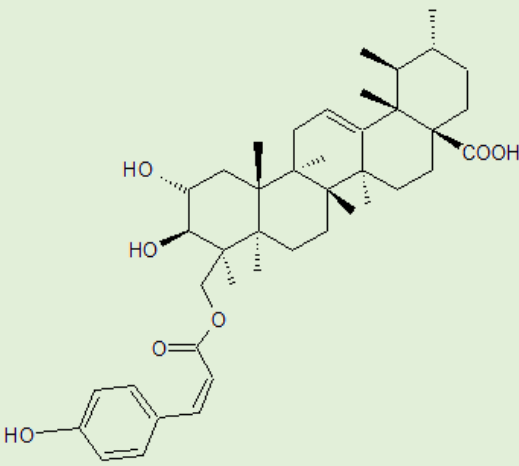
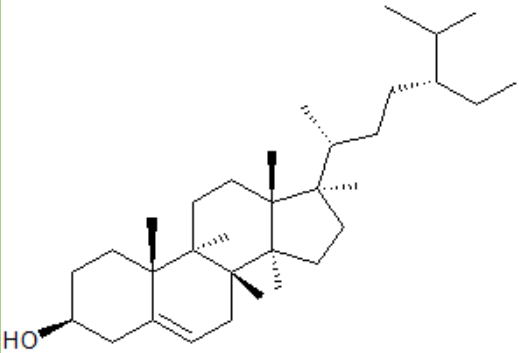
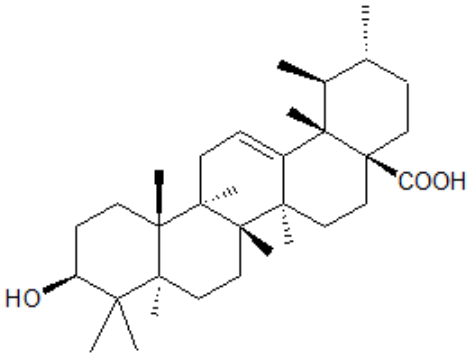
Fruto	Ácidos fenólicos	
Extracto metanólico	<p data-bbox="565 359 716 390">Ácido gálico</p> 	<p data-bbox="1057 359 1273 390">Ácido clorogénico</p> 
	<p data-bbox="565 791 716 823">Ácido cafeico</p> 	
Flavonoides		
Extracto metanólico	<p data-bbox="570 1297 711 1329">Kaempferol</p> 	<p data-bbox="1019 1297 1305 1329">Glicósido de kaempferol</p> 

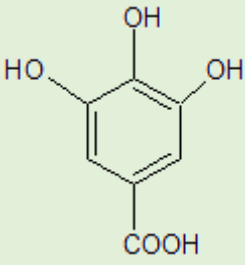
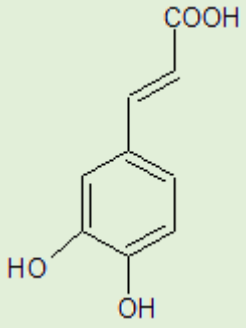
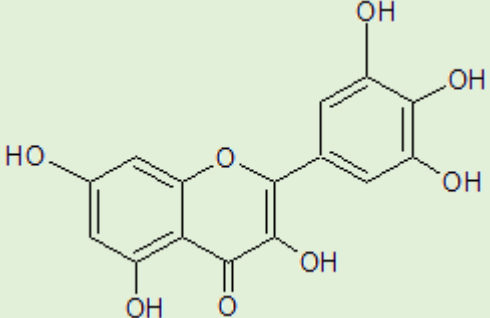
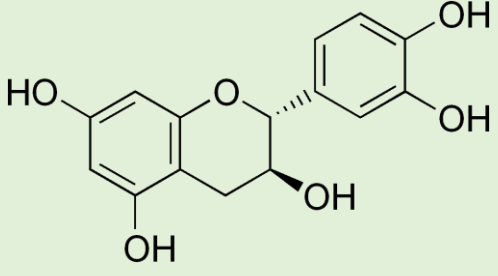
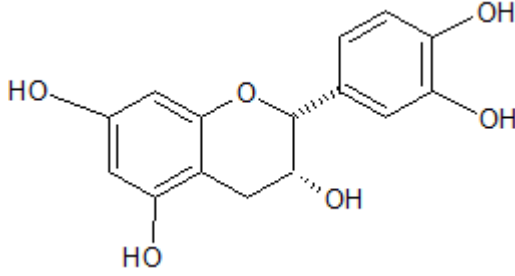
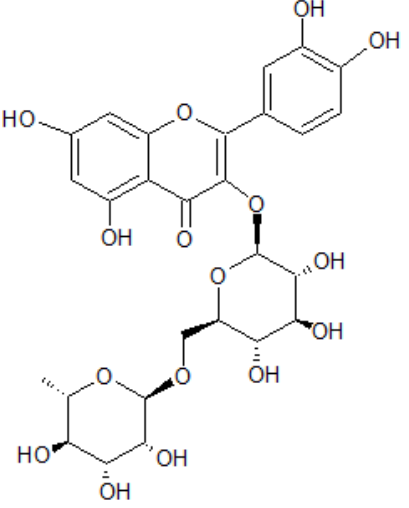


Cuadro 2. Compuestos presentes en hojas de *P. guajava* (Pérez et. al., 2008; Zhu et al., 2013)

Hojas	Flavonoides	
Extracto metanólico	<p data-bbox="407 369 867 401">Quercetina-3-O-β-D-galactopiranosido</p> 	<p data-bbox="915 369 1375 401">Quercetina-3-O-β-D-arabinopiranosido</p> 
	<p data-bbox="415 1020 878 1052">Quercetina-3-O-α-L-arabinofuranosido</p> 	<p data-bbox="919 999 1378 1136">2,4,6-trihidroxi-3,5-dimetilbenzofenona 4-O-(6''-O-galioil)-β-D-glucopiranosido</p> 

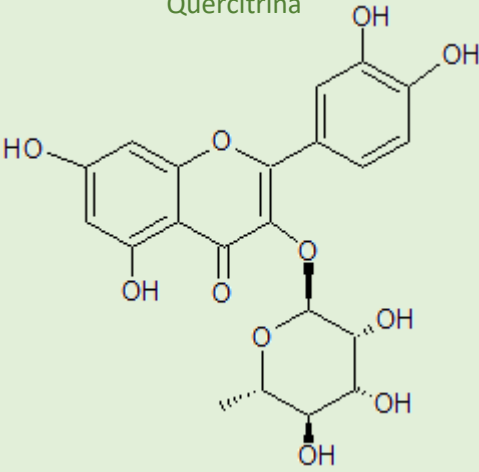
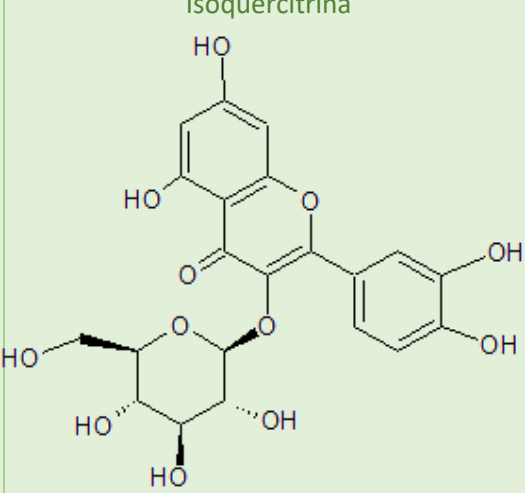
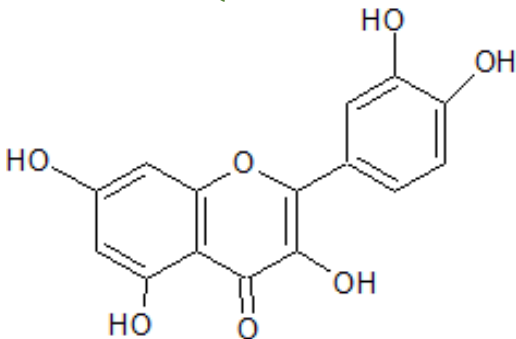
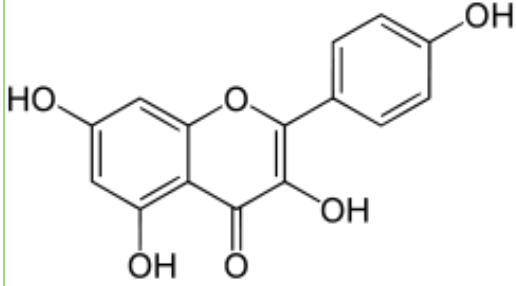
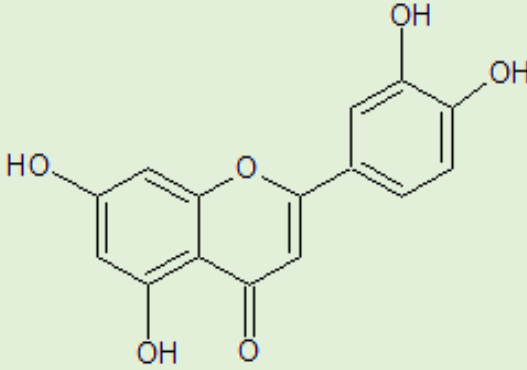
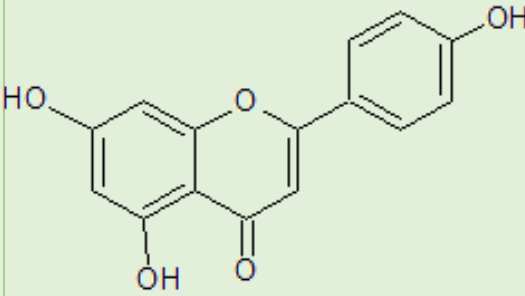
Cuadro 3. Compuestos presentes en el extracto metanólico de hojas de *P. guajava* (Pérez et. al., 2008; Zhu et al., 2013)

Hojas	Triterpenos	
Extracto metanólico	<p style="text-align: center;">Ácido guavanoico</p> 	<p style="text-align: center;">Ácido guavacoumarico</p> 
	<p style="text-align: center;">β-sitosterol</p> 	<p style="text-align: center;">Ácido ursólico</p> 

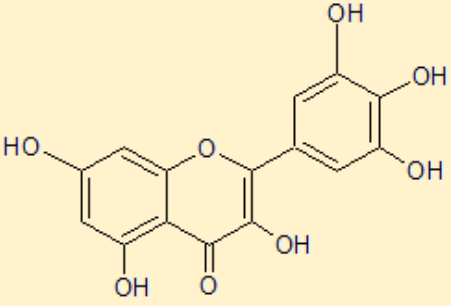
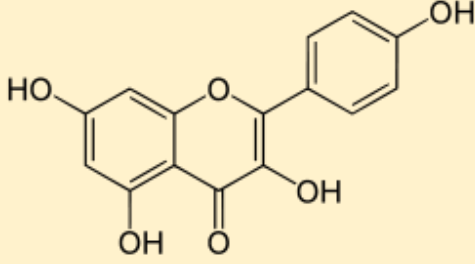
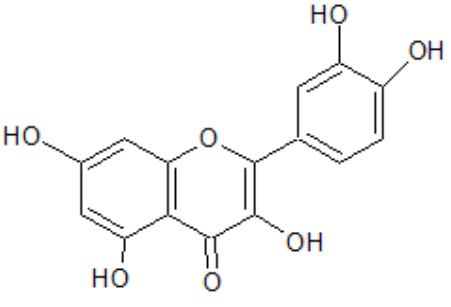
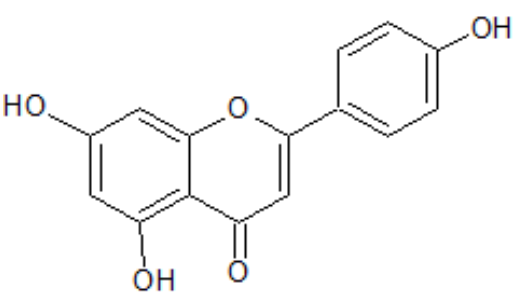
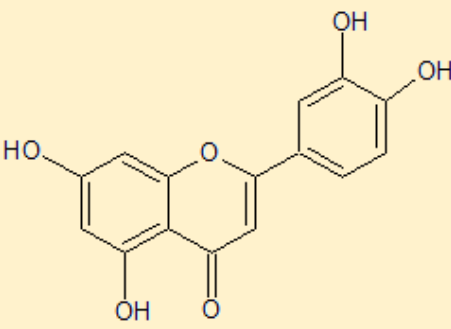
Ácidos fenólicos	
<p data-bbox="592 273 738 304">Ácido gálico</p> 	<p data-bbox="1120 273 1274 304">Ácido cafeico</p> 
Flavonoides	
<p data-bbox="600 829 730 861">Miricetina</p> 	<p data-bbox="1136 829 1258 861">Catequina</p> 
<p data-bbox="584 1302 747 1333">Epicatequina</p> 	<p data-bbox="1161 1302 1242 1333">Rutina</p> 

Extracto metanólico

Continúa cuadro 3

	<p style="text-align: center;">Quercitrina</p> 	<p style="text-align: center;">Isoquercitrina</p> 
<p>Extracto metanólico</p>	<p style="text-align: center;">Quercetina</p> 	<p style="text-align: center;">Kaempferol</p> 
	<p style="text-align: center;">Luteolina</p> 	<p style="text-align: center;">Apigenina</p> 

Cuadro 4. Compuestos en botón floral de *P. guajava* (Pérez et. al., 2008)

Botón floral	Flavonoides	
	<p data-bbox="602 359 716 390">Miricetina</p>  <p>The structure of Miricetin is a flavanone with a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at the 2-position and a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at the 7-position of the chromone ring.</p>	<p data-bbox="1097 359 1211 390">Apigenina</p>  <p>The structure of Apigenin is a flavanone with a 4-hydroxyphenyl group at the 2-position and a 5,7-dihydroxyphenyl group at the 7-position of the chromone ring.</p>
Extracto metanólico	<p data-bbox="594 800 724 831">Quercetina</p>  <p>The structure of Quercetin is a flavanone with a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at the 2-position and a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at the 7-position of the chromone ring.</p>	<p data-bbox="1089 800 1219 831">Kaempferol</p>  <p>The structure of Kaempferol is a flavanone with a 4-hydroxyphenyl group at the 2-position and a 5,7-dihydroxyphenyl group at the 7-position of the chromone ring.</p>
	<p data-bbox="602 1199 716 1230">Luteolina</p>  <p>The structure of Luteolin is a flavanone with a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at the 2-position and a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at the 7-position of the chromone ring.</p>	

Actualmente no se cuenta con información fitoquímica ni farmacológica de *Psidium guineense*.

3.5. Farmacología de *Psidium guajava* L.

La quercetina obtenida del botón floral muestra actividad antidiarreica significativa en la contracción de íleon de cobayo *in vitro* y en el movimiento peristáltico del intestino delgado del ratón. La quercetina y quercetina-3-arabinósido, extraídas de los brotes y las hojas de *P. guajava* en concentraciones de 1.6 µg/ml tienen una inhibición similar a la morfina en la liberación de acetilcolina en el íleon estimulado coaxialmente, junto con un incremento inicial en el tono muscular, seguido de una disminución gradual (Pérez *et. al.*, 2008).

Una decocción de las hojas de *P. guajava* se utiliza en todo el mundo para el tratamiento de diversas enfermedades inflamatorias, como el reumatismo. A los numerosos polifenoles, triterpenoides y otros compuestos químicos presentes en la planta, se le atribuyen los efectos antiinflamatorios y analgésicos de los extractos acuosos de hojas. La propiedad antiinflamatoria del extracto acuoso de hojas se realizó en ratas, utilizando el edema intraplantar (pata), inducido por albúmina de huevo fresco, mientras que el efecto analgésico del extracto de la planta se evaluó mediante los modelos de placas calientes y ácido acético en ratones. El extracto acuoso de las hojas de *P. guajava* (50-800 mg/kg, i.p.) produjo una inhibición dosis-dependiente significativa de la albúmina de huevo fresco, inducida por la inflamación aguda (edema) en las ratas. El extracto de hojas (50-800 mg/kg, i.p.) también produjo efectos analgésicos dependientes de la dosis y contra el dolor nociceptivo inducido térmicamente y químicamente en ratones (Pérez *et. al.*, 2008).

Se encuentran registros en donde los extractos acuosos y alcohólicos de hojas de *P. guajava* producen efectos antimicrobianos sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Proteus spp.*, *Shigella spp.* y *Escherichia coli* (Pérez *et. al.*, 2008).

Los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de las hojas de *Psidium guajava* mostraron actividad en el sistema nervioso central en ratones. Los tres extractos exhibieron principalmente efectos antinociceptivos en pruebas químicas y térmicas

de analgesia. Los extractos también produjeron una prolongación dependiente de la dosis del tiempo de sueño inducido por pentobarbital. Poco después de la administración intraperitoneal de este extracto de metanol, se observaron efectos similares a los narcóticos, incluyendo catalepsia, analgesia, cola de Straub, movimientos respiratorios poco profundos y exoftalmos. Estos resultados dan credibilidad farmacológica a los usos de la planta en el manejo y/o control de condiciones dolorosas, artríticas e inflamatorias (Pérez *et. al.*, 2008).

Las fracciones metanólicas de las tres etapas de maduración del fruto de *P. guajava* demostraron capacidad para neutralizar el DPPH (1,1-difeneil-2-picril-hidrazilo) de los radicales libres, mostrando que en la etapa madura tiene los mejores resultados. En una prueba adicional con iones Fe^{2+} , las fracciones metanólicas de las tres etapas de maduración del fruto demostraron capacidad para quelar dichos iones (Araújo *et al.*, 2015).

El extracto metanólico de las hojas de *P. guajava* presentó compuestos polifenólicos y actividad antioxidante revelada por los ensayos de FRAP (poder antioxidante reductor del hierro) y DPPH. Sin embargo, los compuestos polifenólicos son ampliamente conocidos por sus atributos anticancerosos, pero en el estudio, el extracto de metanol con dichos compuestos tuvo baja actividad citotóxica *in vivo* y mala actividad antitumoral *in vitro*. En cambio, se observaron excelentes actividades antitumorales *in vitro* y citotóxicas *in vivo* en el extracto de hexano, que podrían atribuirse al perfil de otros componentes bioactivos, tal como se identificó mediante el estudio GC-MS (cromatografía de gases-espectrometría de masas). Los resultados sugieren que la naturaleza química del disolvente de extracción tiene una fuerte influencia sobre los atributos biológicos y ayudarían a determinar la eficacia de las hojas de *P. guajava* para su uso potencial en neutraceuticos (Ashraf, *et. al.*, 2016).

La capacidad antioxidante de los extractos acuosos, metanólicos, etanólicos e hidroetanólicos de las hojas de *Psidium guajava*, se evaluó con base en el radical DPPH y las capacidades de barrido del radical 2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico). Los resultados demostraron que la capacidad antioxidante de los

extractos de hojas de *Psidium guajava* tiene una fuerte relación con el contenido de compuestos fenólicos, más que con el contenido de flavonoides. El contenido de compuestos fenólicos de las hojas de *Psidium guajava* extraídas con agua fue mayor en comparación con los extractos de etanol y metanol. Sin embargo, el contenido de compuestos fenólicos extraídos usando disolvente hidroalcohólico fue mayor que el agua, por lo tanto fue el disolvente más eficaz, ya que mostró una alta capacidad antioxidante (Seo et al., 2014).

Los extractos acuoso y acetona-agua (30:70) de las hojas en *P. guajava*, mostraron que el ácido gálico y las catequinas presentes en éstos extractos, poseen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y analgésicas en modelos biológicos en ratones (de Araújo et al., 2014).

3.6. Ansiedad

La ansiedad puede ser una emoción normal y un trastorno psiquiátrico, dependiendo de su intensidad y de su repercusión sobre la actividad de la persona. La ansiedad se convierte en patológica cuando en lugar de favorecer el comportamiento, interfiere en él, y cuando alcanza tal protagonismo que el individuo desplaza hacia ella toda su atención. En términos patológicos, la ansiedad puede describirse como un sentimiento de amenaza, de expectación tensa ante el futuro y de alteración del equilibrio psicosomático en ausencia de un peligro real o, por lo menos, desproporcionada en relación con el estímulo desencadenante (Flórez *et al.*, 2008).

3.6.2 Clasificación y epidemiología

La Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica 2003 en México muestra que los Trastornos de Ansiedad son los Trastornos Mentales más frecuentes, encontrándose que los subtipos con prevalencias más altas son la Fobia Específica (FE), la Fobia Social (FS) y el Trastorno de Estrés Postraumático (TEP) y en todos ellos la prevalencia es mayor en mujeres que en hombres. Suelen iniciar en la adolescencia y tienen su máxima prevalencia en la etapa más productiva de la vida laboral, social y afectiva. Con base en lo anterior se considera esencial que se

realicen estudios de ansiedad para que se identifiquen los trastornos oportunamente a los pacientes afectados y sean tratados adecuadamente para así reducir la discapacidad laboral y funcional para la actividad diaria (Medina-Mora, 2003).

En México existen estudios que muestran una mayor prevalencia entre los 15 y los 45 años de edad, con una proporción mayor para las mujeres que para los hombres, de 2 a 1 respectivamente. Es común que coincidan con trastornos depresivos y esto complique aún más su manejo, viéndose esto en aquellas personas con tratamiento tardío (Virgen et al., 2005).

Los trastornos de ansiedad, dependiendo de la intensidad y duración de sus síntomas se clasifican de la siguiente manera:

1) Trastorno de ansiedad generalizada y agorafobia. La agorafobia comúnmente acompaña a la ansiedad generalizada, se caracteriza por presentar una preocupación y temor intensos a encontrarse en lugar muy concurridos o en espacios abiertos (Virgen et al., 2005).

2) Crisis de pánico. Se presentan episodios de ansiedad intensa, desproporcionada o sin motivo aparente que duran relativamente poco tiempo (normalmente menos de una hora) y se acompañan de síntomas somáticos, es decir, se experimenta sensaciones desagradables o dolorosas en alguna parte del cuerpo, como palpitaciones o taquipnea (respiración rápida) (Virgen et al., 2005).

3) Fobia social. Se experimenta miedo a sentirse avergonzados ante los demás, temen o evitan situaciones en las que podrían interactuar con otras personas o que estas puedan detectar y ridiculizar su ansiedad (Virgen et al., 2005).

4) Fobia específica. Difieren de las anteriores en el elemento desencadenante de dicha sintomatología, siendo este muy diverso (animales, objetos, situaciones, etc.)(Virgen et al., 2005).

5) Trastorno obsesivo compulsivo. El trastorno obsesivo-compulsivo se caracteriza por obsesiones, que son pensamientos, impulsos o imágenes recurrentes y persistentes que se experimentan como inapropiados y causan ansiedad o malestar (Virgen et al., 2005).

6) Trastorno de estrés postraumático. Se genera posterior a que la persona ha estado expuesta (ya sea en plática o personalmente) a un acontecimiento caracterizado por muertes o amenazas para su integridad física o la de los demás. La persona entonces responde con un temor u horror intensos, siendo esto reexperimentado persistentemente a través de recuerdos recurrentes del evento, sueños, flashbacks, una forma de actuar nuevamente el acontecimiento y a la exposición de estímulos que evoquen tal situación (Virgen et al., 2005).

En cuanto a la etiología de estos trastornos se han propuesto los procesos que explican cómo se generan los síntomas ansiosos se basan en hipótesis, entre las cuales destacan las siguientes: anomalías en la función respiratoria, alteración en la función del *Locus Coeruleus*, un punto donde se concentran los neurotransmisores noradrenérgicos en el cerebro, disfunción serotoninérgica y adenosinérgica; tanto la noradrenalina, la serotonina y la adenosina son receptores neuronales que modulan normalmente las respuestas emocionales, afectivas y cognitivas en el cerebro (Virgen et al., 2005).

3.6.3 Fármacos usados en el tratamiento de la ansiedad

En la actualidad, las benzodiazepinas (BZD) son los medicamentos más comúnmente empleados para la ansiedad. Las BZD producen sus acciones farmacológicas a través de sitios de unión de alta afinidad específicos en un complejo supramolecular compuesto de GABA-A y un receptor BZD junto con un canal de iones cloruro (Chatterjee et al., 2013).

Un fármaco ansiolítico es aquel que alivia o suprime el síntoma de ansiedad, sin producir sedación o sueño. Las benzodiazepinas se acercaron al ansiolítico ideal porque, aunque a dosis elevadas producen sedación y sueño, es posible manejarlas con mayor eficacia y menor riesgo. Un enorme paso adelante en la definición de la acción ansiolítica ha sido poder diferenciar subtipos de receptores GABA responsables de las acciones ansiolítica e hipnótica de benzodiazepinas que, además, está permitiendo el diseño de nuevas moléculas con acción ansiolítica mucho más selectiva (Flórez et al., 2008).

Desde un punto de vista funcional, los ansiolíticos se clasificaron de la siguiente manera:

- I. Fármacos moduladores del receptor GABA_A: **benzodiazepinas**.
- II. Fármacos agonistas de receptores 5-HT_{1A}: las azaspirodecanodionas: **buspirona, ipsapirona y gepirona**.
- III. Fármacos con acción antidepresiva: Benzodiazepinas y derivados (Flórez et al., 2008).

a) Benzodiazepinas.

Estos medicamentos a dosis terapéuticas, no alteran la realización de ejercicios físicos o mentales, pero a dosis mayores y en función del ambiente y del producto empleado causan sopor, letargia, sueño, ataxia y debilidad muscular. En los pacientes con ansiedad alivian tanto la tensión subjetiva como los síntomas objetivos: sudor, taquicardia, molestias digestivas, etc. En ciertas personas, a la vez que alivian la ansiedad, pueden aumentar los signos objetivos de irritabilidad y hostilidad (Flórez et al., 2008). Las benzodiazepinas son los fármacos de elección para el tratamiento a corto plazo de los trastornos de la ansiedad generalizada (Fig. 5) (Flórez et al., 2008).

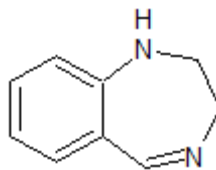


Fig. 5 Estructura química de las benzodiazepinas.

La principal ventaja clínica de las benzodiazepinas como ansiolíticos es la rapidez de la respuesta en contraposición con el efecto retardado de la buspirona y los antidepresivos. Prácticamente todas las benzodiazepinas presentan la misma eficacia, pero el modo de utilizarlas varía en función de la duración del efecto y de la relación o posibilidad de separación del efecto sedante. Por eso es preciso ajustar el tipo de benzodiazepina y su dosis a la forma clínica y la gravedad del cuadro ansioso. Los estados de pánico pueden ceder con ansiolíticos, como el alprazolam. La fobia social generalizada puede responder a benzodiazepinas como clonazepam o alprazolam (Flórez et al., 2008).

El diazepam (Fig. 6) y otras benzodiazepinas producen relajación de la musculatura esquelética. La acción miorrelajante se ejerce sobre el sistema nervioso central a varios niveles: a) en la propia médula espinal, donde facilita fenómenos de inhibición presináptica; b) en la formación reticular activadora descendente del tronco del encéfalo; c) en los ganglios basales, y d) en el cerebelo. En la práctica, la acción miorrelajante se observa con dosis que también producen sedación, lo que puede limitar su utilidad (Flórez et al., 2008).

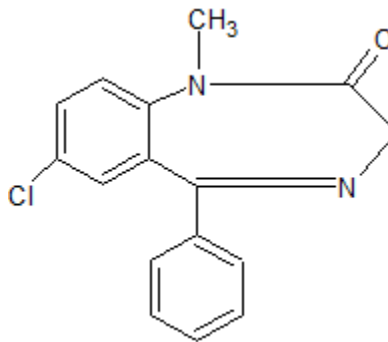


Fig. 6 Estructura química del diazepam.

Las acciones de las benzodiazepinas, con frecuencia se acompañan de efectos colaterales como la sedación, somnolencia, ataxia, disartria, incoordinación motora e incapacidad de coordinar movimientos finos o de responder verbal o

motóricamente a estímulos que requieren una respuesta rápida. Pueden producir amnesia anterógrada, es decir, limitada a hechos que suceden después de la inyección. Más que a alteraciones en la percepción, se debe a alteraciones en los procesos de consolidación y almacenamiento. Las benzodiazepinas más potentes, como el lorazepam, tienen un potencial más elevado de producir amnesia (Flórez et al., 2008).

b) Azaspirodecanodionas

Representan un nuevo grupo de ansiolíticos cuyo principal representante es la buspirona, junto con la gepirona y la ipsapirona (Fig. 7) (Flórez et al., 2008). Su perfil farmacológico es distinto al de las benzodiazepinas, pues su mecanismo de acción no está vinculado al receptor GABA y carecen de acción hipnótica, anticonvulsivante y miorrelajante. Más que sedación producen insomnio. No alteran la memoria, ni provocan trastornos cognitivos o psicomotores. No interactúan con el alcohol ni otros depresores del SNC. Su eficacia ansiolítica es similar a la de las benzodiazepinas, pero su principal inconveniente es la lentitud con que comienza su actividad terapéutica, tardando hasta más de dos semanas en instaurarse la acción ansiolítica (Flórez et al., 2008). Su principal indicación terapéutica en este momento es el trastorno de ansiedad generalizado. También se ha confirmado su actividad antidepresiva a determinadas dosis (Flórez et al., 2008).

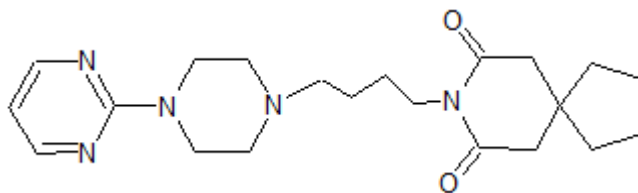


Fig. 7 Estructura química de la buspirona.

Aunque estos fármacos son eficaces en la mayoría de los casos, también poseen efectos secundarios como náuseas, mareos, vértigo, dolor de cabeza, boca seca, estreñimiento, diarrea, etc. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de un fármaco que posea una mayor eficacia, efectos indeseables menores con mínima o ninguna

tolerancia y la dependencia. A fin de superar estos efectos adversos, las investigaciones se han ampliado para la búsqueda de nuevas y mejores moléculas biocompatibles de origen vegetal (Chatterjee et al., 2013).

3. 7 Herbolaria

Las plantas son ampliamente aceptadas como fuentes medicinales, que desempeñan un papel importante en el programa de cuidado de la salud en todo el mundo (Verma et al., 2010). La búsqueda de nueva farmacoterapia de las plantas medicinales para enfermedades psiquiátricas ha progresado significativamente en la última década y su potencial terapéutico ha sido evaluada en una variedad de modelos animales (Carlini, 2003; Zhang, 2004; Chatterjee et al, 2012).

Las hierbas medicinales tienen una serie de medidas psicoterapéuticas que pueden incluir efectos antidepresivos, ansiolíticos, nootropicos (mejora cognitiva), sedantes, hipnóticos y analgésicos (Spinella, 2001). Otros efectos comprobados tradicionalmente que no puede seguir la terminología estándar incluyen acciones "tónicas", que se postularon para proporcionar una mayor adaptación a los factores estresantes exógenos mediante efectos complejos sobre la neuroquímica y el sistema endocrino "adaptógeno" (Panossian y Wikman, 2009). Estas acciones pueden ser clínicamente relevantes para una amplia gama de trastornos psiquiátricos, como los trastornos del humor, ansiedad y del sueño, que son condiciones prevalentes (Kessler et al., 2005).

En nuestro país desde la época prehispánica se cuenta con un amplio conocimiento de las propiedades terapéuticas que tienen las plantas en muchos padecimientos que afectan a la población mexicana, debido a esto se propone a la medicina tradicional como una alternativa confiable para el tratamiento de muchas enfermedades que dañan no sólo a la población mexicana, sino a la del mundo. A pesar del extenso uso medicinal que se tiene de la diversidad vegetal mexicana, aún falta mucho por estudiar, ya que se desconoce la composición química de muchas plantas utilizadas ancestralmente, lo cual podría ocasionar un riesgo a la

población que recurre a la herbolaria, ya que no se garantiza la seguridad y eficacia de cualquier especie que no cuente con estudios químicos, toxicológicos y farmacológicos.

El uso de productos a base de plantas medicinales ha existido desde la época precolombina y ha subsistido hasta nuestros días, en cada mercado popular, a lo largo y ancho del territorio mexicano. Se pueden encontrar expendios de plantas medicinales de diversa índole contra cualquier padecimiento humano. El INEGI menciona que en México existen alrededor de 10 millones de indígenas, sin acceso a la medicina “occidental”, quienes recurren a la Medicina Tradicional para curar sus afecciones. De igual manera, más de 80 millones de mestizos, han conservado el uso de medicinas a base de hierbas medicinales, salvaguardados por las mujeres y los hombres campesinos, que por cientos de años han reconocido las diferentes hierbas y han heredado a sus hijos tales conocimientos acerca de las plantas silvestres útiles, comestibles o medicinales y aún de las tóxicas o peligrosas (Figueroa, 2009).

Por otro lado, en México, a los productos derivados de las plantas se les ha dado el denominador absurdo de “complementos alimenticios” y se ha evitado a toda costa incluirlos en el rubro de medicamentos, correctamente de medicamentos herbolarios o de fitofármacos, con la excepción de algunas decenas presentes en la “Farmacopea herbolaria”. Tal situación ha propiciado el abuso por parte de los comerciantes, quienes han inundado el mercado nacional con una serie de productos que escapan a las regulaciones sanitarias a que son sometidos los medicamentos de patente y carecen de un control de calidad estricto, de métodos de conservación que erradiquen la presencia de hongos y de esporas en los productos simples como los preparados para té (Figueroa, 2009).

3.7.1. Principios activos aislados de plantas con actividad ansiolítica

El cuadro 5 muestra los principales ansiolíticos vegetales, sus especies productoras, mecanismos de acción, aplicaciones clínicas (Sarris et. al., 2011; López-Rubalcava & Estrada-Camarena, 2016).

Cuadro 5. Ansiolíticos vegetales reportados en la literatura

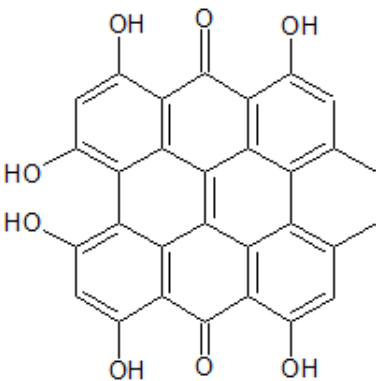
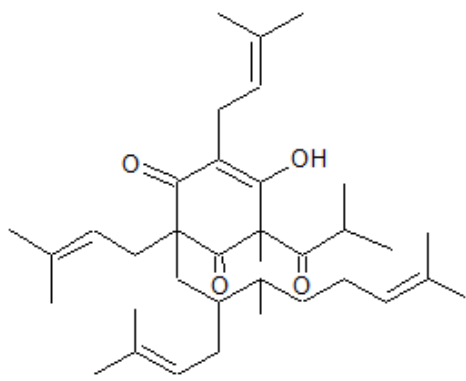
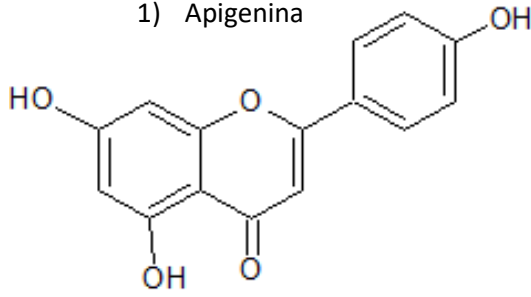
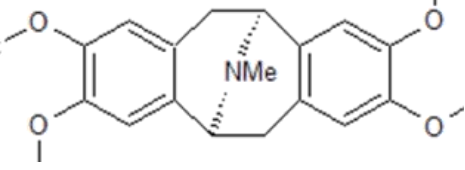
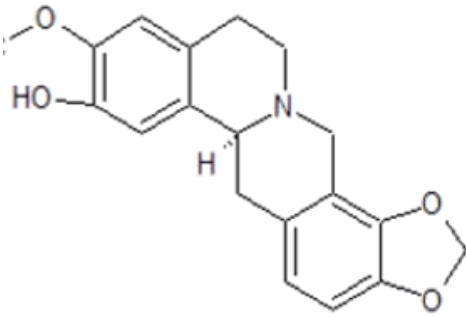
Ansiolíticos vegetales: mecanismos de acción y aplicaciones clínicas			
Plantas medicinales	Mecanismos de Acción	Aplicación clínica potencial	Componentes activos principales (ver cuadro 6)
Hierba de San Juan (<i>Hypericum perforatum</i>)	Inhibición no selectiva de la recaptación de la serotonina, dopamina, norepinefrina. Liberación neuronal inhibidores de glutamato. Modulación neuroendocrina. Antidepresivo y ansiolítico actividad en modelos animales.	Deterioro cognitivo Ansiedad Depresión Agotamiento	1, 2
Milenrama <i>Achillea millefolium</i> L.	Receptores GABA _A /BZD	Depresión Ansiedad	1
Amapola de California (<i>Eschscholzia californica</i>)	La afinidad de unión con los receptores de GABA (flumazenilo antagonista). Ansiolisis en modelos animales (pruebas anti-conflicto y ambiente familiar).	Ansiedad Insomnio Miedo	1, 2
Manzanilla (<i>Matricaria recutita</i>)	La unión a los receptores de GABA. Modula la neurotransmisión de monoaminas. Modulación neuroendocrina.	Ansiedad Insomnio Estrés	1, 2
Ginkgo (<i>Ginkgo biloba</i>)	La modulación de las vías colinérgicas y monoaminas. Antioxidantes, anti-inflamatorios. Efectos GABAérgicos.	Discapacidad Cognitiva Ansiedad Depresión	1, 2
Cola de Gato (<i>Centella asiatica</i>)	La inhibición de la GABA-transaminasa. Los modelos animales han demostrado efectos ansiolíticos (laberinto elevado, campo abierto y pruebas de interacción social).	Ansiedad Estrés Discapacidad Cognitiva	1
Kava (<i>Piper methysticum</i>)	Modulación de canal GABA (estructura de la membrana lipídica y la función del canal de sodio). Débil unión GABA (aumento del efecto sinérgico de [3H] muscimol a receptores GABA- α) Regulación a la baja β -adrenérgico. Inhibición de la monoamina oxidasa B	Ansiedad Depresión comórbida Insomnio ansioso TDAH	1, 2
Toronjil (<i>Melissa officinalis</i>)	Potente inhibidor <i>in vitro</i> en cerebro de rata de la GABA transaminasa (GABA-T) Inhibición de la MAO (monoamina oxidasa) Administración de dosis aguda favoreció la disminución de la actividad	Ansiedad Estrés agudo Depresión	1, 2
Pasiflora (<i>Passiflora</i> spp.)	Ansiolítico mediado por el sistema GABA. Agonista parcial del receptor de benzodiazepinas. Modelos de comportamiento en animales han demostraron efectos ansiolíticos, no sedantes (laberinto elevado, las pruebas de caja luz/oscuridad).	Ansiedad Insomnio	1, 2
Escutelaria (<i>Scutellaria lateriflora</i>)	Postula afinidad de unión GABA- α . Ansiolítico en el modelo de laberinto.	Ansiedad Agotamiento Insomnio	1, 2
Tila <i>Tilia americana</i> L. var. <i>mexicana</i> (Schltdl)	Aumenta la liberación GABA	Ansiedad	1, 2, 3

Continúa cuadro 5

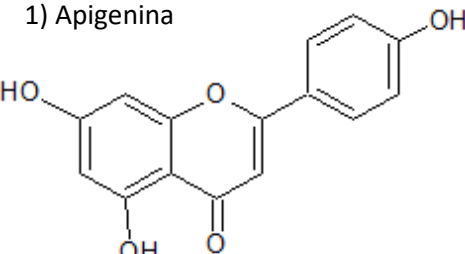
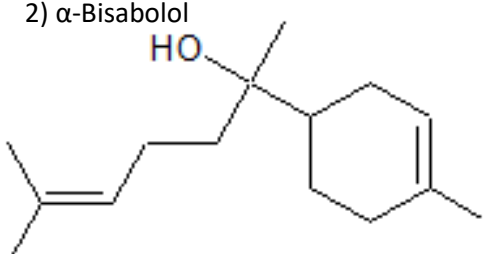
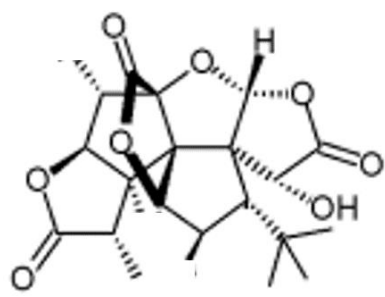
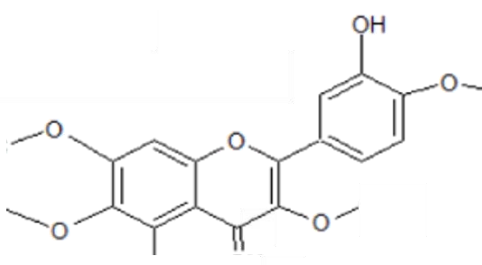
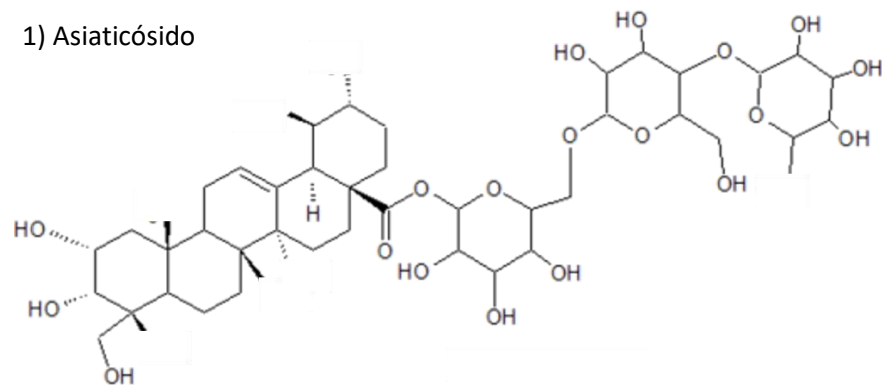
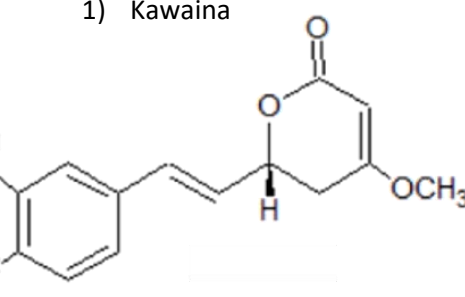
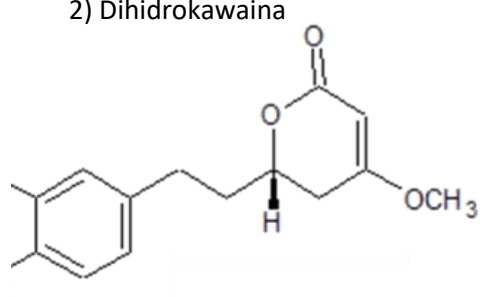
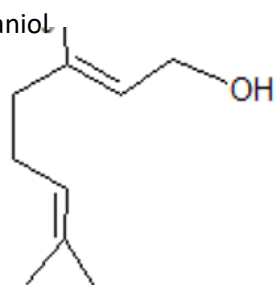
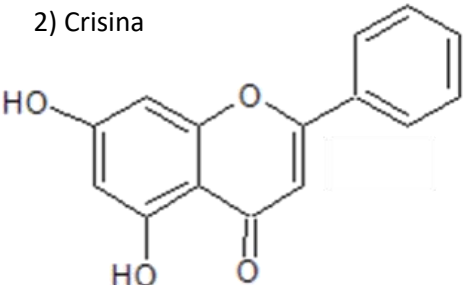
Zapote <i>Annona diversifolia</i> Saff.	No determinado	Ansiedad	1
---	----------------	----------	---

En el siguiente cuadro se presentan los compuestos activos de las especies vegetales mencionadas en el cuadro 5 (Sarris et. al., 2011; López-Rubalcava & Estrada-Camarena, 2016).

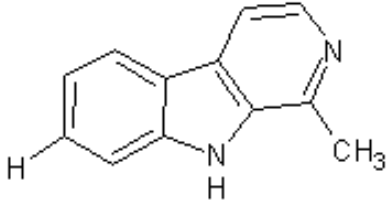
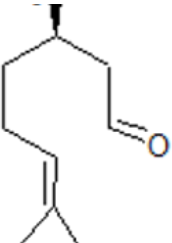
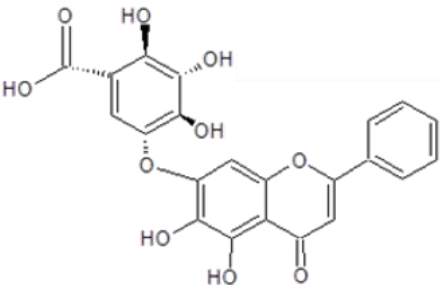
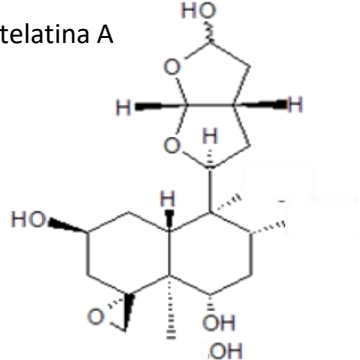
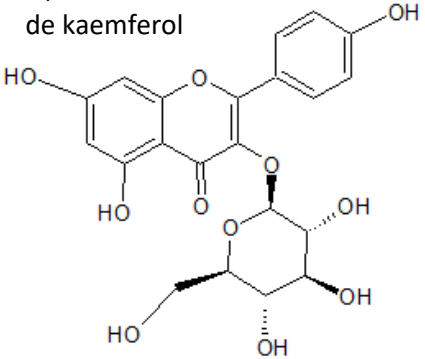
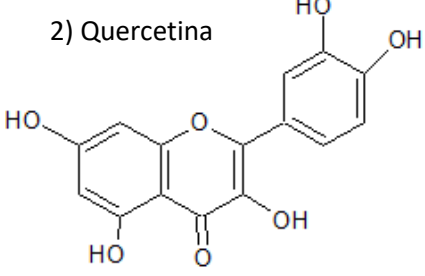
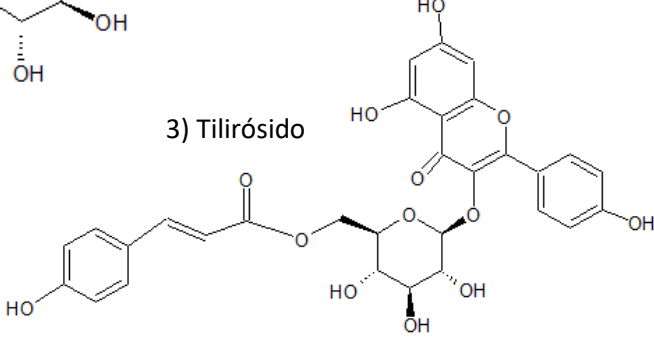
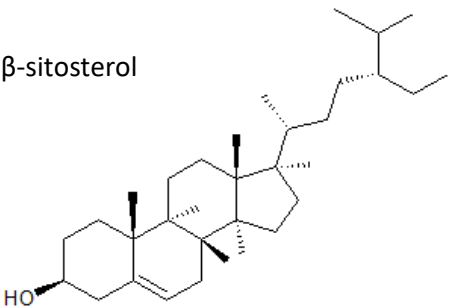
Cuadro 6. Compuestos activos de los vegetales ansiolíticos

Planta	Compuesto / Estructura química	
Hierba de San Juan	<p>1) Hipericina</p> 	<p>2) Hiperforina</p> 
Milenrama	<p>1) Apigenina</p> 	
Amapola de California	<p>1) Escolidina</p> 	<p>2) Queilantifolina</p> 

Continúa cuadro 6

Manzanilla	<p>1) Apigenina</p> 	<p>2) α-Bisabolol</p> 
Ginkgo	<p>1) Ginkgolido</p> 	<p>2) Bilobalido</p> 
Cola de gato	<p>1) Asiaticósido</p> 	
Kava	<p>1) Kawaina</p> 	<p>2) Dihidrokawaina</p> 
Toronjil	<p>1) Geraniol</p> 	<p>2) Crisina</p> 

Continúa cuadro 6

<p>Pasiflora</p>	<p>1) Harmano</p> 	<p>2) Citronelal</p> 
<p>Escutellaria</p>	<p>1) Baicalina</p> 	<p>2) Escutelatina A</p> 
<p>Tila</p>	<p>1) Glucósido de kaemferol</p> 	<p>2) Quercetina</p>  <p>3) Tilirósido</p> 
<p>Zapote</p>	<p>1) β-sitosterol</p> 	

4. HIPÓTESIS

Si *Psidium guajava* y *Psidium guineense* sintetizan terpenos y flavonoides con actividad depresora sobre el SNC, entonces potenciarán la hipnosis inducida por el pentobarbital sódico y aumentarán la actividad de los ratones produciendo efecto ansiolítico y/o sedante; lo cual permitirá proponer el uso de ambas especies como agentes terapéuticos en el tratamiento de la ansiedad, enfermedad recurrente en la población mexicana.

5. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto ansiolítico y sedante de los extractos metanólicos de *Psidium guajava* y *Psidium guineense* y realizar el análisis fitoquímico de dichos extractos.

Objetivos particulares

1. Identificar y determinar la concentración de los terpenos (usando estándares de carnosol, ácido ursólico, ácido oleanólico, α -amirina, β -amirina, β -sitosterol y estigmasterol) y flavonoides (estándares de kaempferol, floretina, florizidina, galangina, miricetina, apigenina, quercetina, rutina, luteolina y naringenina) presentes en los extractos metanólicos de las hojas de *P. guajava* y *P. guineense* mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR).
2. Evaluar el efecto ansiolítico de los extractos metanólicos mediante el uso de dos modelos experimentales (cruz elevada y tablero con orificios) y su actividad exploratoria.
3. Determinar el efecto depresor del SNC de los extractos metanólicos de *P. guajava* y *P. guineense* en la potenciación a la hipnosis inducida por pentobarbital sódico.
4. Establecer la dosis letal (DL_{50}) producida por la administración vía intraperitoneal y esofágica de los extractos activos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Material biológico y obtención de los extractos

Se colectaron las hojas frescas de *P. guajava* y *P. guineense* en la localidad de Zacango, municipio de Olinalá en el estado de Guerrero, México, el 25 de febrero de 2012. Se prepararon ejemplares de herbario, los cuales fueron depositados en el Herbario de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Las hojas de *Psidium guajava* y *Psidium guineense* fueron secadas a temperatura ambiente y molidas. Posteriormente, se le realizaron tres extracciones por maceración, en un tiempo de 24 horas cada una, utilizando tres disolventes de distinta polaridad creciente (hexano, acetato de etilo (AcOEt) y metanol (MeOH)). En el diagrama 1, se muestra la obtención de los extractos orgánicos de ambas especies.

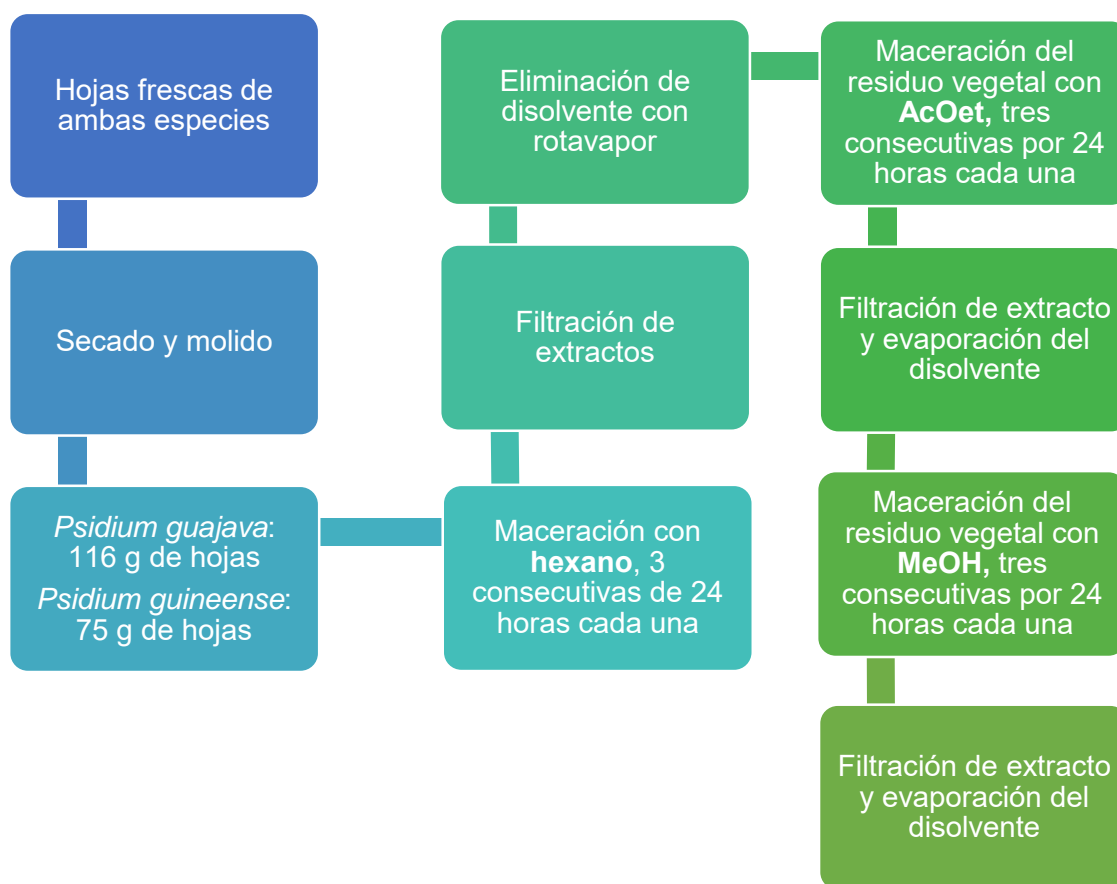


Diagrama 1. Obtención de los extractos orgánicos de *Psidium guajava* y *Psidium guineense*.

El exceso de disolvente de los extractos fue eliminado mediante evaporación a presión reducida en un rotavapor Yamato BM 500 (Fig. 8).



Fig. 8 Evaporación del disolvente

6.2 Fraccionamiento cromatográfico de los extractos metanólicos de *P. guajava* y *P. guineense*.

La separación de los compuestos de los extractos metanólicos de *Psidium guajava* y *Psidium guineense* se realizó por cromatografía en columna (CC). La columna se empacó con sílica gel para cromatografía en capa fina. Como fase móvil se emplearon los disolventes (hexano, acetato de etilo, metanol y mezclas de éstos) de polaridad creciente: hexano (100 %), mezclas de hexano-acetato de etilo (9:1, 8:2, 7:3, 1:1), acetato de etilo (100 %) mezclas de acetato de etilo-metanol (9:1,8:2, 7:3, 1:1) y metanol (100 %) (Figura 9).



Fig. 9 Columnas cromatográficas de *P. guajava* y *P. guineense*.

Se colectaron fracciones de 50 mL de cada una, obteniendo un total de 151 de *Psidium guajava* y 119 de *Psidium guineense*. Todas las fracciones de ambas especies se analizaron por cromatografía en capa fina (CCF) y aquellas fracciones que mostraron el mismo patrón cromatográfico se reunieron.

6.3 Análisis por CLAR de los extractos metanólicos de *P. guajava* y *P. guineense*

La determinación y cuantificación de terpenos y flavonoides de los extractos metanólicos de ambas especies se realizó en un cromatógrafo marca Agilent serie 1100 equipado con un detector de arreglo de diodos.

6.3.1. Análisis de terpenos.

Para la identificación y cuantificación de terpenos se utilizó una columna Zorbax Eclipse XDB-C8 (125 x 4.0 mm de diámetro interno y 5 µm de tamaño de partícula) con una fase móvil de acetonitrilo (A)-agua (80:20), el flujo fue de 1 ml/min y una temperatura de 40 °C. El equipo se calibró a una longitud de onda de 215 y 220 nm, el tiempo de análisis fue de 21 minutos. Los terpenos de los extractos de metanol de *Psidium guajava* y tlahuanda fueron identificados y cuantificados al compararlos con estándares de carnosol, ácido ursólico, ácido oleanólico, α-amirina, β-amirina, β-sitosterol y estigmasterol de los laboratorios Sigma-Aldrich.

6.3.2. Análisis de flavonoides

Para la identificación de flavonoides se utilizó una columna C18 Hypersil ODS (125 mm x 4 mm de diámetro interno y 5 µm de tamaño de partícula). El flujo de la fase móvil se mantuvo a 1 ml/min y consistió de agua (A) a pH 2.5 con ácido trifluoroacético y acetonitrilo (B) con el siguientes gradiente: 0-10 min, A:B 85:15; 20 min, A:B 65:34; 25 min, A:B 65:35. La temperatura fue de 30 °C. El equipo se calibró para detectar longitud de onda de 365, 316 y 254 nm. El tiempo de análisis para este método fue de 25 minutos. Para identificar y cuantificar los flavonoides presentes en los extractos se usaron estándares de kaempferol, fletina, florizidina,

galangina, miricetina, apigenina, quercetina, rutina, luteolina, naringina y naringenina marca Sigma-Aldrich, mediante su tiempo de retención.

6.3.3. Preparación de las muestras para inyección en el CLAR

Se pesaron 4 mg de los extractos secos y estándares y se disolvieron cada uno de ellos por separado en 1 mL de metanol grado CLAR, dichas disoluciones se filtraron mediante discos de nylon de 0.45 µm de poro y se inyectaron 20 µL de cada muestra.

6.3.4. Elaboración de curvas patrón

Para la cuantificación de los terpenos y flavonoides presentes en los extractos metanólicos de *Psidium guajava* y *Psidium guineense* se elaboraron curvas de calibración para cada uno de los estándares, se inyectaron 5 puntos desde 0.048 µg hasta 0.4 µg de cada compuesto. Las interpolaciones se hicieron con el programa Chem Station de Agilent Co. La variación del área en unidades de absorbancia de cada inyección fue utilizada para construir el modelo matemático de regresión lineal con la fórmula $Y = mX + b$, la cual se comparó posteriormente con los extractos y de esta manera se determinó la concentración de cada compuesto.

6.4 Animales utilizados en los modelos experimentales

Se utilizaron ratones machos de la cepa CD1 (proporcionados por el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz y la Facultad de Medicina de la UNAM con un peso entre 25-30 g. Los sujetos experimentales se colocaron en cajas de acrílico en grupos de seis animales, sin restricción de alimento y agua, manteniéndolos a una temperatura controlada de 22 ± 1 °C con ciclo de luz/oscuridad de 12 h y siguiendo las recomendaciones de los comités de ética e investigación científica y la NOM-062-Z00-1999 (Figura 10).



Fig. 10 Ratones machos CD1

6.5 Preparación de los extractos y fármacos

El pentobarbital sódico, el diazepam (fármaco de referencia) y los extractos de metanol se disolvieron en solución salina 0.9%. Tanto el fármaco como los extractos se utilizaron el mismo día de su elaboración. Para la obtención de las curvas dosis respuesta de los extractos metanólicos se probaron las dosis de 1, 10, 30, 50 y 100 mg/kg. Los tratamientos y los fármacos se administraron vía intraperitoneal (i.p) en un volumen de 10 mg/kg (Figura 11).



Fig. 11 Administración de los ratones vía intraperitoneal (i.p)

6.6 Evaluación farmacológica.

En cada uno de los tratamientos se utilizaron seis ratones. El diazepam y los tratamientos fueron evaluados a los 30 min después de su administración. Se compararon con un grupo control (SS) y un grupo al que se le administró el fármaco de referencia. Una vez terminadas las pruebas, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical.

6.6.1 Potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico (PS).

Se administraron las diferentes dosis de los extractos a los ratones se evaluaron en los diferentes modelos conductuales y 45 min después recibieron una dosis de 42 mg/kg de PS registrando la latencia de sedación, latencia de hipnosis y duración de la hipnosis (González-Trujano, 1998).

6.6.2 Evaluación de la actividad exploratoria.

La prueba consistió en colocar individualmente a los ratones en una caja de acrílico con 12 divisiones (cuadrados de 6 x 6 cm) y se registró durante 2 minutos el número de cuadros explorados por cada ratón para analizar la capacidad ambulatoria (Fig 12).

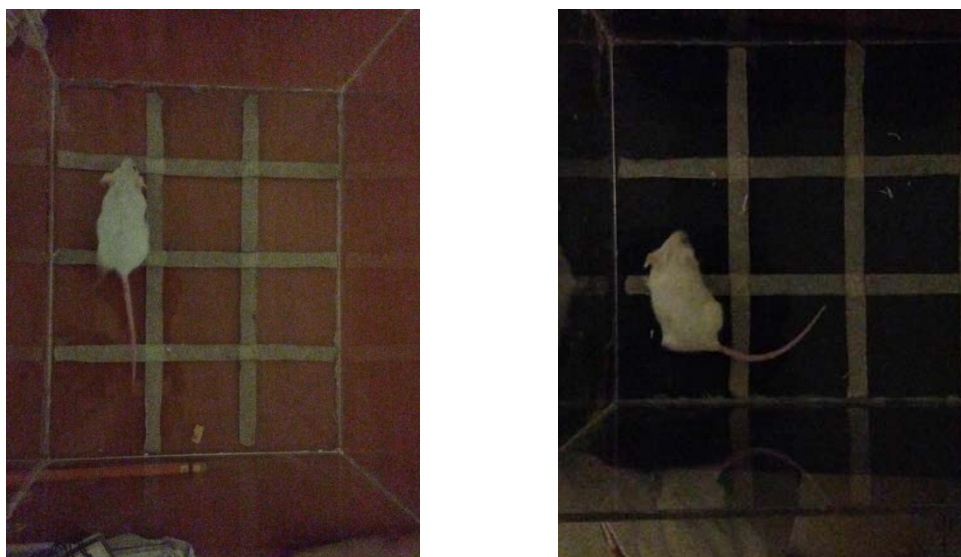


Fig. 12 Modelo de campo abierto

6.6.3 Efecto ansiolítico y/o sedante.

Para evaluar el efecto ansiolítico y/o sedante se utilizaron los siguientes modelos experimentales:

1. El modelo de cruz elevada (plus-maze).

Este aparato está hecho de madera y consta de una cruz elevada con dos brazos abiertos de 30 x 5 cm y dos brazos cerrados de 30 x 5 x 15 cm. Dichos brazos se extienden a partir de una plataforma central de 5 x 5 cm y se encuentran elevados a 50 cm del suelo. Los ratones fueron colocados en la parte central y se contó el tiempo que los animales permanecen en los brazos abiertos durante 5 minutos. La exploración incrementada en los brazos abiertos es indicativo del efecto ansiolítico (Fig 13)(Lister, 1987).



Fig. 13 Modelo de cruz elevada

2. Modelo del tablero con orificios (Hole Board).

Este modelo consiste de una caja de acrílico con un piso de madera con orificios distribuidos uniformemente. Los ratones fueron colocados sobre el tablero y se contaron el número de veces que los animales introdujeron su cabeza en los orificios en un periodo de tres minutos. Una disminución en el número de exploraciones será indicativo de efectos sedantes y/o ansiolíticos (Fig 14) (Clark, 1997).



Fig. 14 Modelo del tablero con orificios

6.7 Determinación de la DL₅₀

La toxicidad aguda de los extractos metanólicos de *P. guajava* y *P. guineense* se estimó por vía intraperitoneal (i.p.) y vía esofágica (p.o.), mediante la metodología propuesta por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). En dicha prueba, el extracto fue administrado en la mayor dosis recomendada (2000 mg/kg) a tres ratones por grupo. Después de la administración se registraron los efectos tóxicos tales como pérdida de la locomoción, temblores, convulsiones, ataxia, paro respiratorio o muerte durante 30 min y cada 2 h el primer día y diariamente hasta completar 14 días. El seguimiento del peso corporal de los ratones administrados con los extractos y s.s. al grupo control se realizó durante 14 días, posterior a los cuales, los animales fueron sacrificados y se les realizó una necropsia para observar daños a nivel macroscópico en esófago, estómago, riñones e hígado (Figura 15).



Fig. 15 Administración de los extractos vía i.p. y p.o.

6.8 Análisis estadístico.

Los datos se presentaron como la media \pm el error estándar. Los resultados se analizaron por medio de análisis de varianza (ANDEVA), seguido de la prueba de Dunnett. Se utilizó el programa GraphPad Prism versión 6.

7 RESULTADOS

7.1 Fitoquímica

7.1.1 Rendimiento

Se calculó el rendimiento de los extractos de ambas especies de plantas con base en su peso seco. En el cuadro 7 se observa que el extracto metanólico de *Psidium guajava* L. fue el que presentó mayor rendimiento. Asimismo, para ambas especies los extractos metanólicos fueron los mayoritarios con 24% para *Psidium guajava* y 15% para *Psidium guineense*. En este mismo sentido, cabe mencionar que el extracto de acetato de etilo obtenido de *Psidium guineense* fue el de menor porcentaje (0.6%).

Cuadro 7 Rendimiento de los extractos de *Psidium guajava* y *Psidium guineense*

Planta	Cantidad (Peso seco)	Extractos metanólicos	Rendimiento
<i>Psidium guajava</i> L.	116 g	27.5 g	24%
<i>Psidium guineense</i> Sw.	75 g	11.2 g	15%
	Cantidad (Peso seco)	Extractos acetato de etilo	Rendimiento
<i>Psidium guajava</i> L.		2.5 g	2.1%
<i>Psidium guineense</i> Sw.		0.5 g	0.6%
	Cantidad (Peso seco)	Extractos hexánicos	Rendimiento
<i>Psidium guajava</i> L.		2 g	1.72%
<i>Psidium guineense</i> Sw.		1 g	1.33%

7.2 Análisis por CLAR del extracto metanólico de *P. guajava*.

7.2.1 Identificación y cuantificación de terpenos

En el extracto metanólico se identificaron los terpenos ácido ursólico (157.66 $\mu\text{g}/\text{mg}$), ácido oleanólico (16.03 $\mu\text{g}/\text{mg}$), estigmasterol (78.17 $\mu\text{g}/\text{mg}$), α -amirina (9.37 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y β -sitosterol (86.53 $\mu\text{g}/\text{mg}$) (Figura 16).

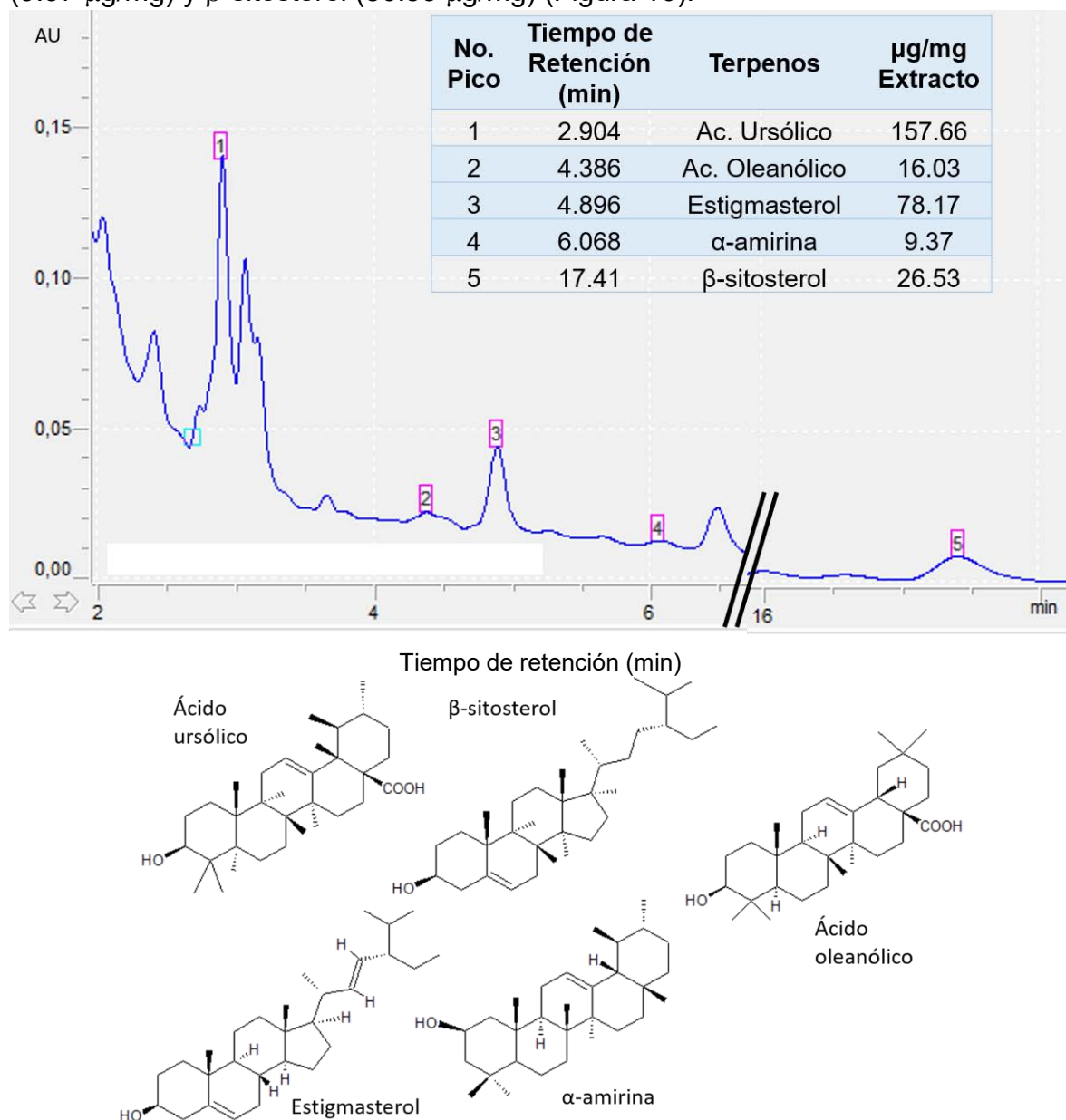


Fig. 16 Identificación de terpenos presentes en el extracto metanólico de *Psidium guajava*.

7.2.2 Identificación y cuantificación de flavonoides

En este extracto se identificaron 7 flavonoides, el más abundante fue la florizidina (158.6 $\mu\text{g}/\text{mg}$), seguido de rutina (4.24 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y apigenina (3.72 $\mu\text{g}/\text{mg}$) (Figura 17).

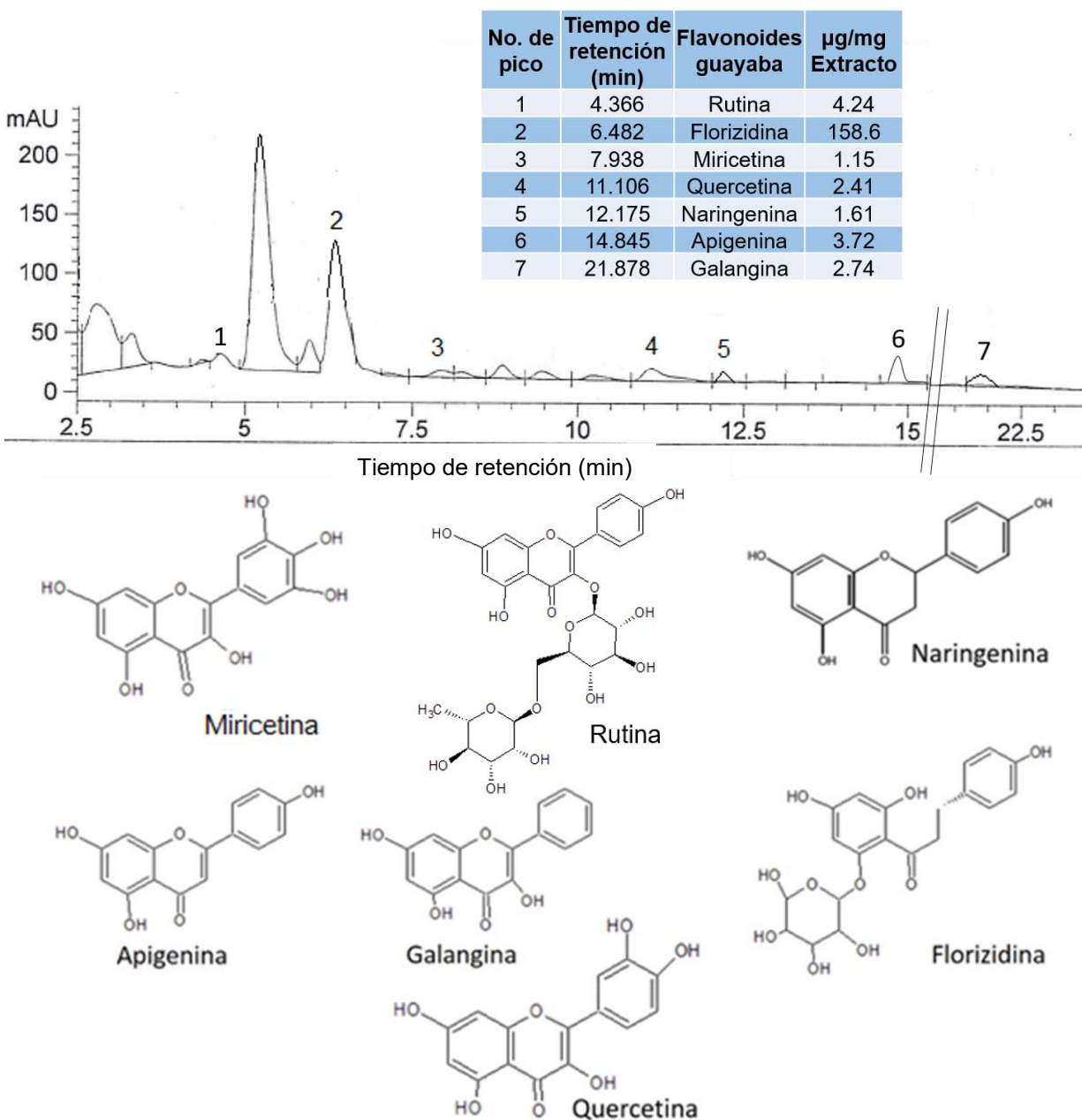


Fig. 17 Identificación de flavonoides presentes en el extracto metanólico de *P. guajava*.

7.3 Análisis por CLAR de los extractos metanólicos de *P. guineense*.

7.3.1. Identificación y cuantificación de terpenos

En el extracto se identificaron los terpenos ácido ursólico (55.2 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y ácido oleanólico (6.82 $\mu\text{g}/\text{mg}$) (Figura 18).

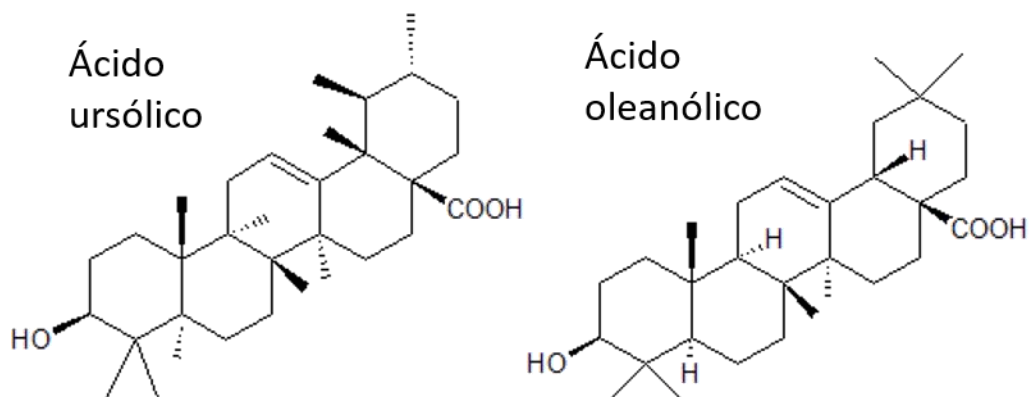
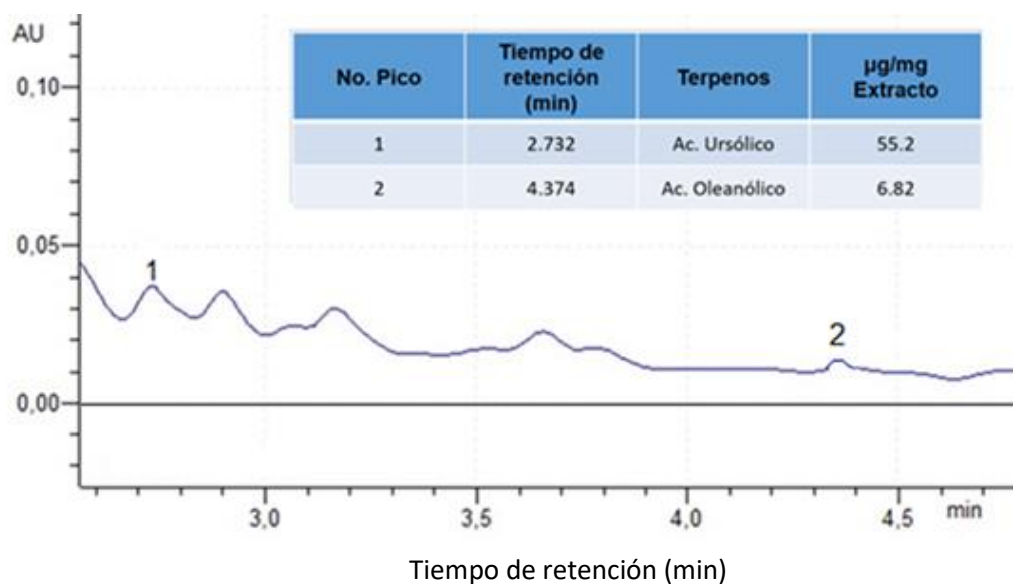


Fig. 18 Identificación de terpenos presentes en el extracto metanólico de *P. guineense*.

7.3.2. Identificación y cuantificación de flavonoides.

El método de flavonoides del extracto de metanol de *Psidium guineense* permitió la identificación y cuantificación de 7 compuestos, de los cuales los mayoritarios fueron la florizidina (21.05 $\mu\text{g}/\text{mg}$), rutina (12.95 $\mu\text{g}/\text{mg}$) y apigenina (6.88 $\mu\text{g}/\text{mg}$) (Figura 19).

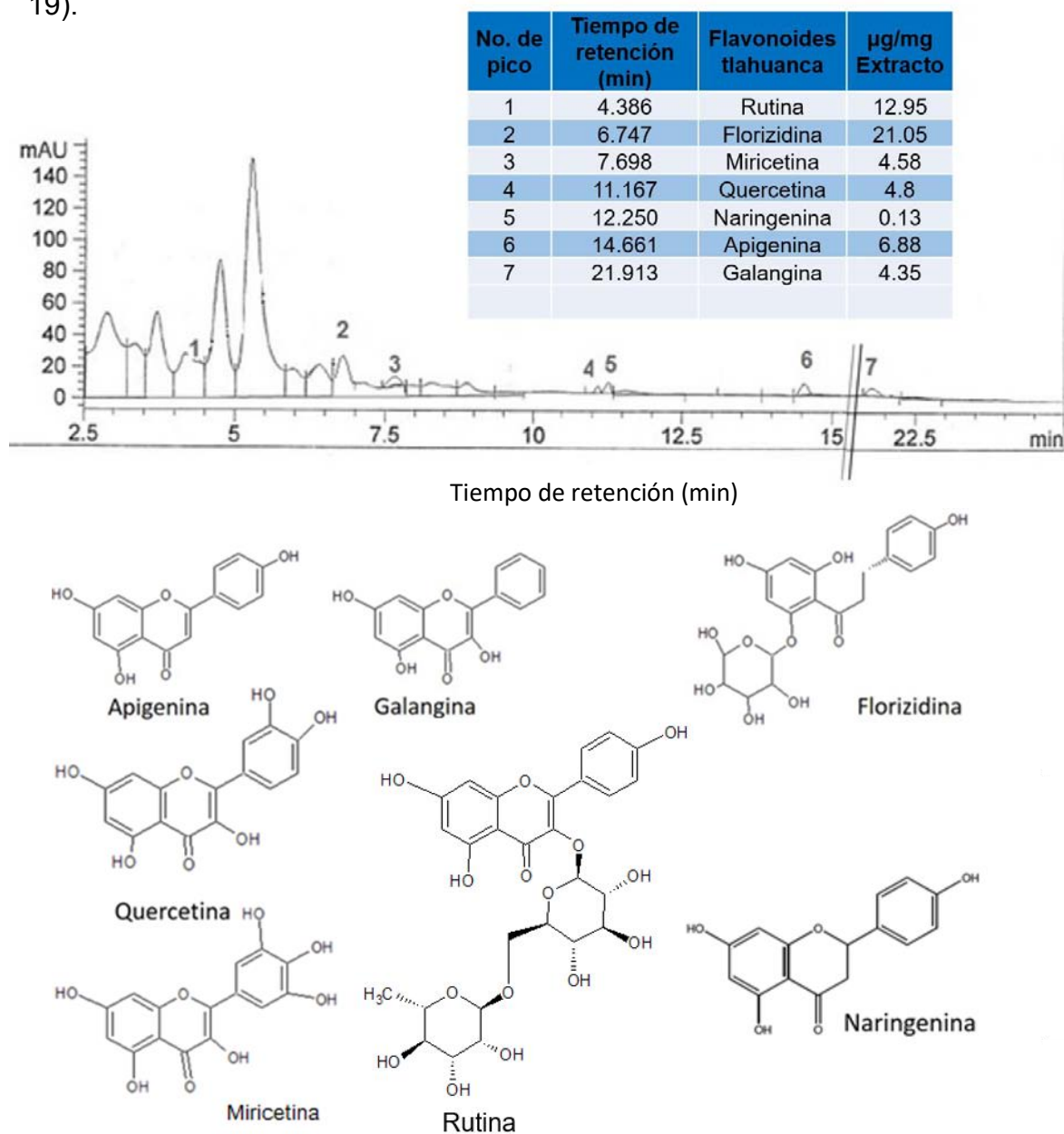


Fig 19 Identificación de flavonoides presentes en el extracto metanólico de *P. guineense*.

7.4. Concentración de metabolitos en los extractos metanólicos de *Psidium guajava* y *Psidium guineense*

El análisis CLAR permitió identificar cinco terpenos en el extracto metanólico de *Psidium guajava* y dos en el extracto metanólico de *Psidium guineense*. En el cuadro 8 se observa que *Psidium guajava* presenta mayor concentración de ácido ursólico y ácido oleanólico con respecto al extracto de *Psidium guineense*.

Cuadro 8 Concentraciones de terpenos identificados en *Psidium guajava* y *Psidium guineense*

Terpenos guayaba	µg/mg Extracto	Terpenos tlahuanca	µg/mg Extracto
Ac. Ursólico	157.66	Ac. Ursólico	55.2
Ac. Oleanólico	16.03	Ac. Oleanólico	6.82
Stigmasterol	78.17		
α-amirina	9.37		
β-sitosterol	26.53		

Se identificaron 7 flavonoides en los extractos metanólicos de ambas especies. En el cuadro 9 se muestra que *Psidium guineense* presenta mayores concentraciones de flavonoides en comparación con los de *Psidium guajava*, excepto en la florizidina.

Cuadro 9 Concentraciones de flavonoides identificados en *Psidium guajava* y *Psidium guineense*

Flavonoides guayaba	µg/mg Extracto	Flavonoides tlahuanca	µg/mg Extracto
Rutina	4.24	Rutina	12.95
Florizidina	158.6	Florizidina	21.05
Miricetina	1.15	Miricetina	4.58
Quercetina	2.41	Quercetina	4.8
Naringenina	1.61	Naringenina	0.13
Apigenina	3.72	Apigenina	6.88
Galangina	2.74	Galangina	4.35

7.5 Evaluación farmacológica del extracto metanólico de *P. guajava*

7.5.1 Efecto ansiolítico y actividad exploratoria del extracto administrado

En la figura 20 se observa que el extracto metanólico produjo un efecto ansiolítico significativo en las dosis de 1 y 10 mg/kg (Figura 20 B y C) y un efecto sedante a las dosis de 30, 50 y 100 mg/kg en los modelos experimentales: tablero con orificios (B) y cruz elevada (C). También se observa una disminución en la actividad exploratoria en dichas dosis (A).

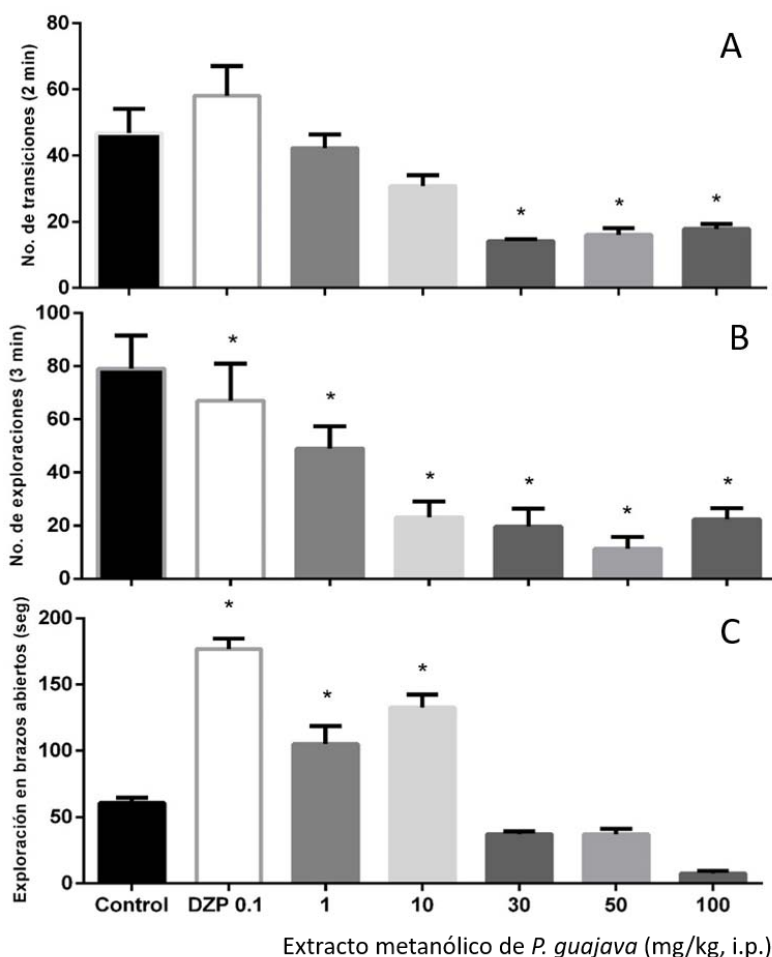


Fig 20 Evaluación del efecto ansiolítico y la actividad exploratoria del extracto metanólico de *Psidium guajava* L. Modelo de actividad exploratoria (A), tablero con orificios (B) y cruz elevada (C). Las barras representan el promedio \pm E.E.M. de seis animales. * $p < 0.05$, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett.

7.5.2 Potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico del extracto de *Psidium guajava*

Como se puede observar en la Figura 21 A, solamente la dosis de 10 mg/kg del extracto metanólico de las hojas de *P. guajava* modifica la latencia a la sedación. Los resultados de la duración de la hipnosis (Fig. 21 C) muestran que todas las dosis evaluadas incrementan significativamente la hipnosis en comparación con el grupo control, sin embargo, cabe destacar, el efecto hipnótico mayor del extracto en la dosis de 100 mg/kg.

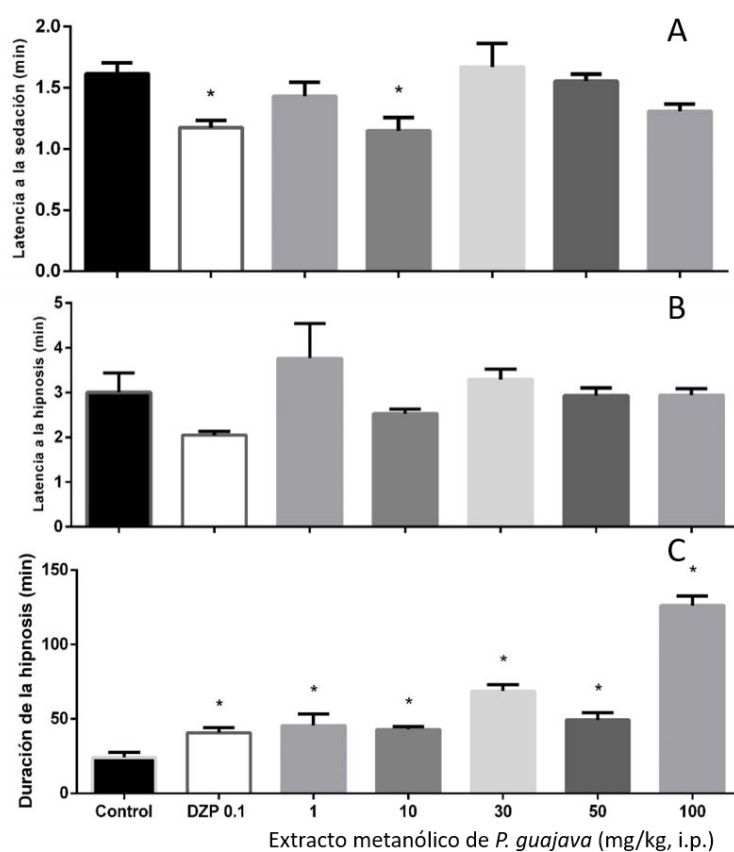


Fig. 21 Evaluación del modelo de potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico (42 mg/kg) del extracto metanólico de *Psidium guajava* (1, 10, 30, 50 y 100 mg/kg) y DZP (0.1 mg/kg) vía i.p. Las barras representan el promedio \pm E.E.M. de seis animales. * $p < 0.05$, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett.

7.6 Evaluación farmacológica del extracto metanólico de *P. guineense*

7.6.1 Efecto ansiolítico y actividad exploratoria del extracto administrado

El extracto metanólico de *Psidium guineense* produjo una reducción significativa de la exploración de los ratones en los tres modelos evaluados (Fig. 22). En la prueba ambulatoria y en tablero con orificios se aprecia una disminución significativa en la actividad de los roedores en la dosis de 30 y 50 mg/kg (Fig. 22 A y 22 B respectivamente). En el modelo de brazos abiertos (Fig. 22 C), en todas las dosis evaluadas se observa una mayor exploración de los sujetos experimentales en brazos cerrados, confirmando de esta manera, el efecto sedante del extracto.

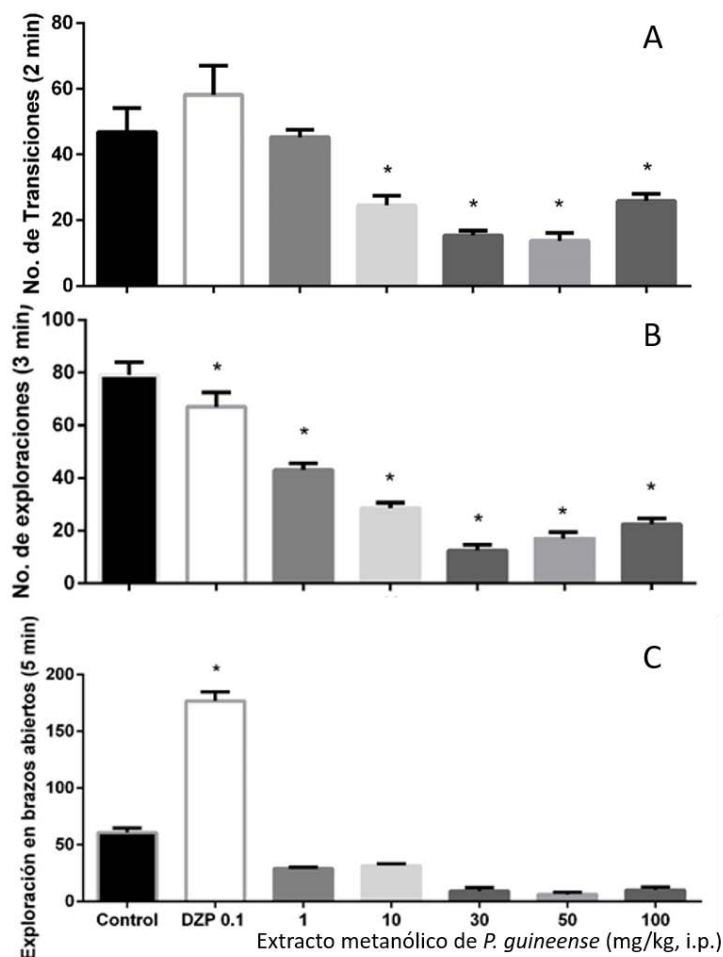


Fig 22 Evaluación del efecto ansiolítico y la actividad exploratoria del extracto metanólico de *Psidium guineense* Sw. Modelo de actividad exploratoria (A), tablero con orificios (B) y cruz elevada (C). Las barras representan el promedio \pm E.E.M. de seis animales. * $p < 0.05$, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett.

7.6.2 Potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico del extracto de *Psidium guineense*

En la Figura 23 A, el extracto metanólico de las hojas de *Psidium guineense* no muestra modificación en cuanto a la latencia a la sedación. En este mismo sentido, sólo las dosis de 10 y 50 mg/kg tienen un comportamiento similar al fármaco de referencia y un efecto significativo con respecto al control (Fig. 23 B). Finalmente, todas las dosis evaluadas, a excepción de la de 1mg/kg, incrementan significativamente la duración del sueño, observándose un mayor efecto en las dosis de 50 y 100 mg/kg (Fig. 23 C).

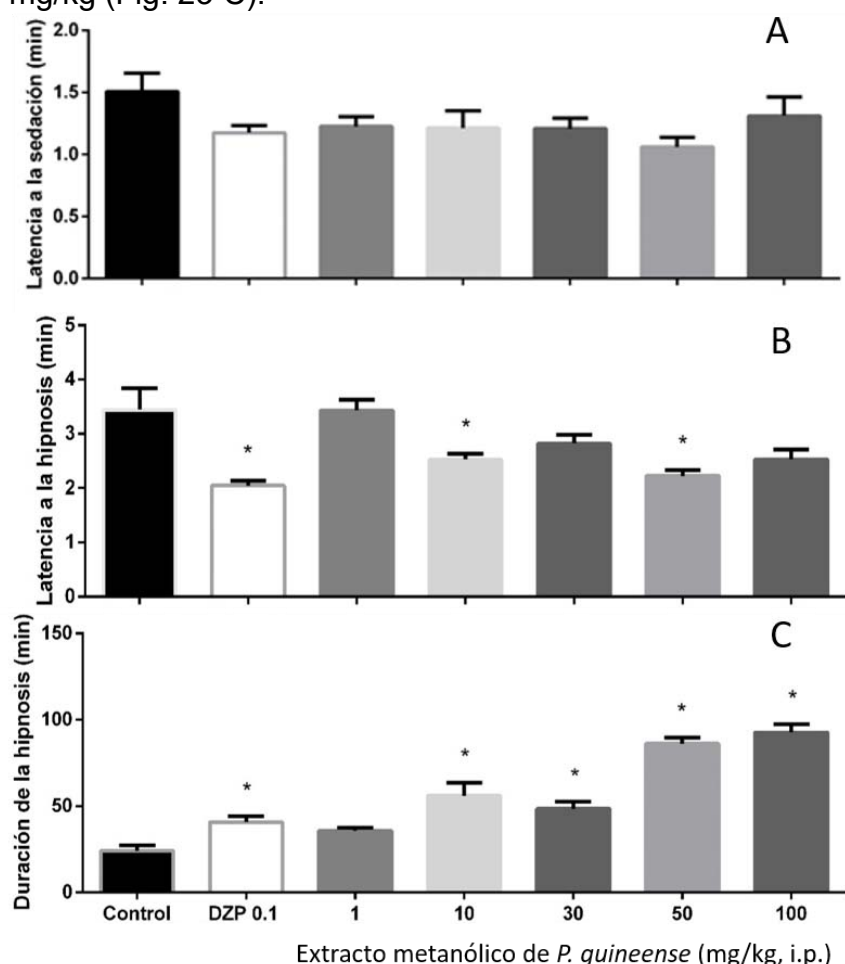


Fig. 23 Evaluación del modelo de potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital sódico (42 mg/kg) del extracto metanólico de *Psidium guineense* Sw. (1, 10, 30, 50 y 100 mg/kg) y DZP (0.1 mg/kg) vía i.p. Las barras representan el promedio \pm E.E.M. de seis animales. * $p < 0.05$, ANADEVa seguida de la prueba de Dunnett.

7.7 Dosis letal 50

Los extractos metanólicos de ambas especies produjeron una mortalidad del 66.6% en la dosis de 2000 mg/kg vía i.p. Por el contrario, en la dosis de 1000 mg/kg no se observaron efectos tóxicos (pérdida de locomoción, paro respiratorio o muerte), ni reducción de peso significativo (Fig. 24). La evaluación macroscópica de los órganos: estómago, hígado, riñones y corazón, realizada en los ratones, posterior a los 14 días de la administración de los tratamientos, permitió apreciar que no hubo cambios en los tejidos en éstos.

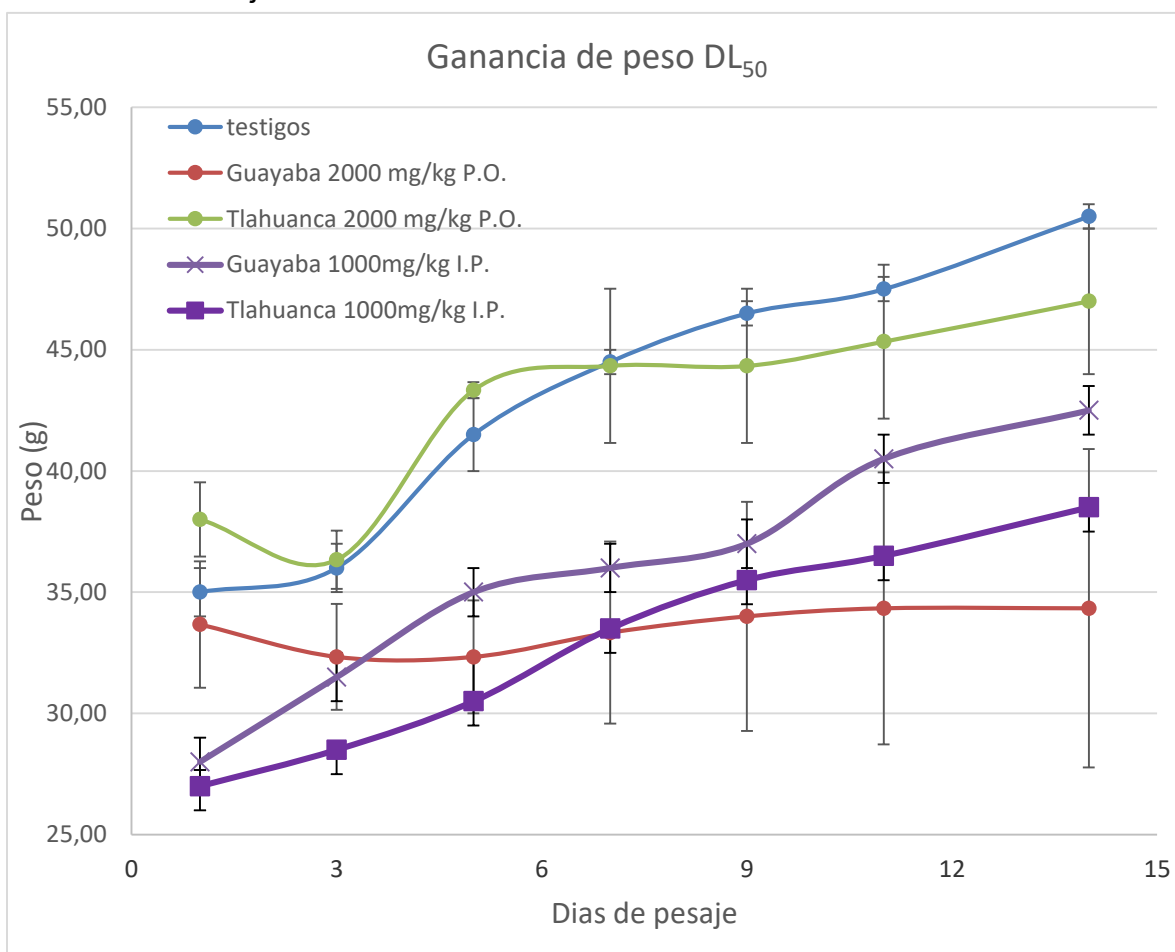


Fig 24 Ganancia de peso en la prueba Dosis Letal₅₀ del extracto metanólico de *Psidium guajava* y *Psidium guineense* en dosis de 1000 mg/kg y 2000 mg/kg comparado con el testigo. Los puntos representan el promedio de peso \pm E.E.M. de seis animales.

8 DISCUSIÓN

El análisis de CLAR permitió la identificación de terpenos y flavonoides en los extractos de ambas especies, difiriendo en el número y concentración de dichos compuestos. Estudios previos, reportan la presencia de gran diversidad de compuestos químicos de extractos polares de *P. guajava*, los cuales varían en presencia y cantidad dependiendo de la zona de colecta, clima, época del año, altitud y estado de crecimiento, siendo los flavonoides los compuestos de mayor presencia en dichos extractos (Pérez et al., 2008).

Los terpenos representan una gran familia de compuestos y comprenden más de 20,000 identificados, incluyendo **ácido ursólico (AU)**, el cual está presente en *P. guajava* y *P. guineense*, es un triterpeno, que existe, ya sea como ácido libre o glicosilado. En las últimas décadas, ha habido una extensa investigación para explicar el potencial farmacológico de este compuesto, pues se ha informado que tiene la capacidad de modular una variedad de vías asociadas con la supervivencia y progresión del cáncer, cardiovascular y lesiones neuronales de señalización. Además, los investigadores han sido capaces de sintetizar derivados de AU al hacer modificaciones químicas en la estructura básica que, además, conduce a mejorar su potencial terapéutico y la dosis activa requerida (Kashyap et al., 2016).

P. guajava y *P. guineense* presentan **ácido oleanólico (AO)** que también es un compuesto pentacíclico, ampliamente distribuido en todo el reino Plantae, incluyendo plantas medicinales. El AO se aisló de más de 1620 especies, incluyendo *Beta vulgaris* L., *Calendula officinalis* L., *Oleandra neriifolia* L., *Planax ginseng*, y muchas otras. Se han observado varias actividades farmacológicas de dicho compuesto AO, tales como anti-inflamatorias, antioxidantes, contra el cáncer, y efectos hepatoprotectores (Melo, et al., 2016).

Además, se cuenta con un estudio en donde se demuestra que el AU y el AO modulan los receptores GABA-A a través del sitio de unión de benzodiazepina. Así

mismo, demostraron actividad anticonvulsiva, ansiolítica y antidepresiva significativa en los modelos evaluados en ratones (Khan et. al., 2016).

El extracto metanólico de *Psidium guajava* presenta fitosteroles, el **estigmasterol** y el **β -sitosterol**. Al respecto, es bien sabido que los fitosteroles contribuyen a la minimización del riesgo de las enfermedades coronarias del corazón, por lo tanto se implementa en una variedad de productos alimenticios. El **estigmasterol**, en particular, se aplica ampliamente en la industria farmacéutica aquí se emplea como precursor de la vitamina D3, cortisona, andrógenos, estrógenos y progesterona. Aparte de sus usos industriales conocidos, el estigmasterol se ha empleado recientemente con éxito en muchos estudios de investigación, donde se ha demostrado que puede ayudar en la prevención de varios tipos de cáncer, como de ovario, próstata y mama. Jiménez (2013) reportó que al suministrar β -sitosterol aislado de *Tilia americana* var. *mexicana* en ratones y usar el modelo de cruz elevada presenta efecto ansiolítico, ya que aumenta el tiempo de exploración en brazos abiertos y es mediado por el receptor GABA_A/BDZ. También, *Psidium guajava* cuenta con la presencia de **α -amirina**, la cual ha demostrado tener efectos sobre el sistema nervioso central, al producir efectos anticonvulsivantes en el modelo de pentilentetrazol (PTZ) y efectos ansiolíticos en el tablero de brazos abiertos de manera semejante al DZP (Mora-Pérez y Hernández-Medel, 2015).

Los extractos metanólicos de hojas de *Psidium guajava* y *Psidium guineense* cuentan con presencia de quercetina, lo que coincide con lo reportado por Pérez, et al. (2008) quienes registran su presencia en las hojas de *P. guajava*, en una concentración de (288.31 mg/kg), atribuyéndole la actividad antidiarreica. Debido a esto, la empresa Genomma Laboratories México, S. A. de C. V. lanzó al mercado un producto farmacéutico, el cual contiene 166.6 mg de extracto estandarizado de hojas de *P. guajava* (flavonoides, equivalentes de 0.8 a 1.2 mg de quercetina) llamado QG5®, está indicado como auxiliar para el alivio de la colitis (SII) y sus síntomas como espasmo, inflamación, dolor en el bajo vientre, gases y distensión abdominal. Asimismo, ayuda en el alivio de la diarrea aguda no infecciosa y el cólico menstrual de la dismenorrea primaria (DEF PLM, 2016).

Por otro lado, se menciona que la **quercetina**, así como algunos de sus glicósidos identificados en especies del género *Tilia*, son potencialmente responsables de la respuestas sedante y ansiolítica de este género (Aguirre-Hernández *et al.*, 2009; Aguirre-Hernández *et al.*, 2010). Así mismo, la quercetina ha mostrado efectos ansiolíticos y antidepresivos en experimentos con animales. No obstante, dicho flavonoide en función de la dosis, aumenta el tiempo de interacción social, disminuyendo el tiempo de inmovilidad. También, minimiza los cambios en el comportamiento de los animales, tales como la prueba de nado forzado o inmovilización. Varios posibles mecanismos podrían explicar la capacidad de quercetina para mejorar el estado de ánimo, ya que pruebas *in vitro* e *in vivo* indican inhibe la monoamina oxidasa A, mientras que experimentos *in vivo* indican que disminuye los niveles de estrés en el cerebro inducido por el factor liberador de corticotropina (CRF), que está asociado con la ansiedad y la depresión. Además, el tratamiento de quercetina también reduce los aumentos inducidos por el estrés, tanto de la corticosterona en plasma y la hormona adrenocorticotrópica (D'Andrea, 2015).

Otro flavonoide identificado en ambas especies fue la **rutina**. Se sabe que las plantas aumentan la producción de ésta aglicona glicosilada como mecanismo de defensa (Rice-Evans, *et. al.*, 1997). Ésta propiedad de las plantas es también una ventaja en la medicina popular, ya que pueden usarse como tranquilizantes, entre otras propiedades terapéuticas. Con respecto a la importancia de la rutina como compuesto ansiolítico y sedante, se ha demostrado que éste además de la quercetina y el kaempferol tienen actividad sobre el Sistema Nervioso Central que involucra al sistema inhibidor GABAérgico (Salgueiro *et. al.*, 1997; Viola *et. al.*, 1994; Pripem *et. al.*, 2008;). Así mismo, el efecto ansiolítico de la mezcla de quercetina y rutina son mediadas por sistemas GABAérgicos y serotoninérgicos (Nassiri-Asl *et al.*, 2008).

Hay evidencia de la presencia de flavonoides en *Psidium guajava* que han sido reportados en otras especies medicinales, por ejemplo, la **apigenina** presente en

especies pertenecientes a los géneros *Matricaria*, *Passiflora* y *Perilla*, comúnmente utilizadas por sus propiedades ansiolíticas, sedantes y antidepresivas (Losi *et al.*, 2004). Aunque la apigenina no es el flavonoide mayoritario en *Psidium guajava*, cuenta con estudios en donde la dosis de 1 mg/kg de ésta, administrada vía i.p., aumenta el número de entradas y el tiempo en los brazos abiertos de los ratones (Avallone *et al.*, 2000).

La **naringenina** (aglicona) identificada en ambas especies cuenta con estudios sobre su participación en los efectos ansiolíticos y sedantes en ratones (Fernández *et al.*, 2006, 2009). Este metabolito no mostró efecto sobre la actividad locomotora espontánea en una dosis de 15 mg/kg, i.p. (Fernández *et al.*, 2006), pero su presencia se asoció a las respuestas ansiolíticas y sedantes de *Mentha aquatica* (100 mg/kg, i.p.) (Anderson *et al.*, 2012). Lo anterior apoya los resultados obtenidos en este estudio, ya que la naringenina produjo efecto ansiolítico en la prueba de brazos abiertos y tablero con orificios sin alterar la actividad exploratoria en campo abierto.

La galangina, florizidina y miricetina presentes en el extracto metanólico de *P. guajava* y *P. guineense* no cuenta con estudios sobre sus efectos ansiolíticos/sedantes, sin embargo, de la **galangina**, se mencionan sus actividades contra cáncer de hígado (Su *et al.*, 2013) y para el tratamiento de la dermatitis atópica. La mayoría de los estudios revisados, mencionan el uso de la **florizidina** para tratar la diabetes, la obesidad, la hiperglucemia de estrés y su actividad antioxidante (Gosch *et al.*, 2010). Finalmente, para la **miricetina** se reporta su efecto antioxidante (Hou *et al.*, 2004).

En el análisis por CLAR de ambas especies, se presentan picos cromatográficos no identificados, los cuales podrían ser compuestos que pueden tener algún efecto en los modelos biológicos evaluados, por lo que es importante que se continúe con esta investigación para identificar dichos compuestos activos.

Los resultados farmacológicos obtenidos demuestran que los extractos metanólico de las hojas de *Psidium guajava* y *Psidium guineense*, producen efectos depresores sobre el SNC. Ambos extractos, administrados por vía i.p. incrementaron el tiempo de sueño en los ratones en la prueba de potenciación de hipnosis inducida por PS. En el caso de *Psidium guajava*, se observa una respuesta ansiolítica a dosis bajas y efecto sedante a dosis mayor de 10 mg/kg en los modelos donde fue evaluada. Dicha actividad ansiolítica del extracto se ratifica al comparar la respuesta obtenida con la dosis de DZP, ya que anteriormente se ha demostrado que a ciertas dosis, este fármaco aumenta el tiempo de exploración en brazos abiertos (Ariza *et al.*, 2006) y disminuye la respuesta obtenida en el modelo de tablero con orificios (Redolat *et al.*, 2005). Por el contrario, *Psidium guineense* posee un efecto sedante muy potente en todas las dosis evaluadas, reportado por primera vez en este trabajo. Por lo tanto, produjo una disminución significativa del tiempo de exploración en todas las dosis evaluadas, tanto en el modelo de cruz elevada como en el de tablero con orificios.

El modelo de hipnosis inducida con pentobarbital sódico (42mg/kg, i.p.) se basa en confirmar el efecto depresor de cualquier sustancia que esté a prueba, así como determinar si hay sinergia de potenciación del efecto con dicho compuesto sedante/hipnótico (González-Trujano *et al.*, 1998). Los resultados señalan que los efectos depresores de los extractos metanólicos de *Psidium guajava* y *Psidium guineense* potencializan el efecto del pentobarbital sódico, probablemente por un mecanismo de acción similar al del fármaco. Los resultados de *Psidium guajava* en esta prueba, confirma el trabajo de Pérez *et al.* en 2008, quien utilizando extractos de la misma naturaleza obtuvieron una respuesta similar, ya que produjeron una prolongación del tiempo de sueño dependiente de la dosis inducido por pentobarbital sódico.

Los resultados obtenidos de *P. guineense* señalan un efecto depresor del Sistema Nervioso Central en todas las dosis administradas que se relaciona a la sedación, debido a la presencia de compuestos químicos de diferente naturaleza, como la quercetina, rutina y apigenina. El presente estudio muestra evidencia del potencial

de esta especie para el tratamiento de la ansiedad, proporcionando una nueva alternativa de uso en la Medicina Tradicional Mexicana. Además, es el primer trabajo que muestra el perfil químico de *Psidium guineense* y sus propiedades sedantes.

P. guajava mostró efectos ansiolíticos en dosis bajas, indicando una posible sinergia entre los compuestos presentes como la quercetina, rutina, apigenina, α -amirina y β -sitosterol, los cuales presentan evidencia de efectos ansiolíticos. Los resultados apuntan el uso de *Psidium guajava* como producto ansiolítico, complementario a sus propiedades antidiarreicas, antibacterianas y antioxidantes ya reportadas.

Con base en lo mencionado anteriormente, se muestran diferencias en la concentración de flavonoides identificados en ambas especies y la presencia de mayor cantidad de terpenos en *Psidium guajava* en comparación con *Psidium guineense*, lo que puede sugerir el efecto ansiolítico de *Psidium guajava* y el efecto sedante de *Psidium guineense*, porque se menciona previamente que α -amirina y β -sitosterol, ausentes en *Psidium guineense*, tienen propiedades ansiolíticas.

En cambio, las altas concentraciones de flavonoides presentes en *Psidium guineense* en comparación con *Psidium guajava*, sugieren ser los principales compuestos involucrados en el efecto sobre el sistema nervioso central, ya que se observa una disminución en la actividad exploradora en los diferentes modelos evaluados, por tal motivo se considera que son los responsables de la actividad sedante.

Con base en la DL_{50} calculada, se sugiere el uso terapéutico de ambas especies en dosis menores a 1000 mg/kg i.p. y 2000 mg/kg p.o., tomando en cuenta los modelos biológicos empleados.

9 CONCLUSIÓN

Los resultados farmacológicos muestran la actividad depresora sobre el SNC de *P. guajava* y *P. guineense*, proponiendo su uso terapéutico para los trastornos de ansiedad. La dosis letal cincuenta (DL_{50}) sugiere que la administración oral de los extractos es segura al menos en dosis aguda.

Se identificaron principalmente terpenos y flavonoides en los extractos metanólicos de ambas especies, y de acuerdo con las referencias bibliográficas se proponen como los responsables de los efectos ansiolítico y sedante.

10 RECOMENDACIÓN

A la comunidad de Zacango, municipio de Olinalá, Guerrero, se les propone el uso terapéutico adicional de *Psidium guajava* como ansiolítico y *Psidium guineense* como producto sedante, con base en los resultados obtenidos.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre- Hernández E. 2009. Composición química y evaluación del efecto ansiolítico y sedante de *Tilia americana* var. *mexicana* (Tiliaceae). Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 102 pp.
2. Aguirre-Hernández E., González-Trujano M. E., Martínez A. L., Moreno J., Kite G., Terrazas T., Soto-Hernández M. 2010. HPLC/MS analysis and anxiolytic-like effect of quercetin and kaempferol flavonoids from *Tilia americana* var. *Mexicana*. *Journal of Ethnopharmacology* 127:91–97
3. Akerele, O. 1991. Traditional herbal medicines around the globe: modern perspectives. *Traditional Medicine Programme. Swiss Pharma.* 13:57-62.
4. Anderson W., Barrows M., Lopez F., Rogers S., Ortiz-Coffie A., Norman D., Hodges J., McDonal K., Barnes D., McCall S., et al. 2012. Investigation of the anxiolytic effects of naringenin, a component of *Mentha aquatica*, in the male Sprague-Dawley rat. *Holistic Nursing Practice.* 26:52-57.
5. Araújo, H., Rodrigues F. G., Costa W. D., Nonato C. F. A., Rodrigues F. G, Boligon A., Athayde M., Costa J. G. M. 2015. Chemical profile and antioxidant capacity verification of *Psidium guajava* (myrtaceae) fruits at different stages of maturation. *Experimental and Clinical Sciences Journal* 14:1020-1030
6. Ariza, S. Y., Rincón, J., Guerrero, M.F. 2006. Actividad anticonvulsivante de metabolitos secundarios tipo cumarina. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas.* 35:106-119.
7. Ashraf A., Adil S., Abid R. M., Mahmood A., Muhammad S., Noor N. 2016. Chemical composition, antioxidant, antitumor, anticancer and cytotoxic effect of *Psidium guajava* leaf extracts. *Pharmaceutical Biology* 54: 1971–1981

8. <http://www.biologydiscussion.com/angiosperm/dicotyledonae/classification-of-myrtiflorae-9-families-dicotyledonae/42588>. Consultado: septiembre 2016.
9. Buller B, Legrand V. 2001. Novel treatments for anxiety and depression: hurdles in bringing them to the market. *Drug Discovery Today*. 6:1220-1230.
10. Carlini, E.A. 2003. Plants and the central nervous system. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 75:501–512.
11. Chatterjee, M., Verma, R., Lakshmi, V., Sengupta S., Verma, A. K., Mahdi, A. A., Palit, G., 2013. Anxiolytic effects of *Plumeria rubra var. acutifolia* (Poiret) L. flower extracts in the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Asian Journal of Psychiatry*. 6:113–118
12. Chavarría, F., Masís, A., Espinoza, R., Guadamuz, A., Pérez, D. 1998. Species Page de *Psidium guineense* (Mytaceae). Species Home Pages, Area de Conservación Guanacaste, Costa Rica.
13. Choi J.K., Kim S.-H. 2014. Inhibitory effect of galangin on atopic dermatitis-like skin lesions. *Food and Chemical Toxicology* 68:135–141.
14. Clark, G., Koster, A.G., Person, D.W., 1997. Exploratory behaviour in chronic disulfoton poisoning in mice. *Psychopharmacologia* 20:169–171.
15. De Araújo, A. A., Lira S., L. A, Assunção F., M. A., de Souza M. A., Ribeiro S. G., Fernandes de A. R., Bernardo G., Nunes de Melo M. C. 2014. Quantification of polyphenols and evaluation of antimicrobial, analgesic and anti-inflammatory activities of aqueous and acetone–water extracts of *Libidibia ferrea*, *Parapiptadenia rigida* and *Psidium guajava*. *Journal of Ethnopharmacology* 156:88–96

16. D'Andrea, G. 2015. Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications?. *Fitoterapia*. 106:256-271.
17. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas PLM. 2016. Editorial PLM México. Medicamentos PLM®. Consultado el 27 de octubre de 2016. Disponible en: <http://www.medicamentosplm.com/Home/Medicamento>
18. Ehrenkranz, J.R.L., Lewis, N.G., Kahn, C.R., Roth, J., 2005. Phlorizin: a review. *Diabetes Metabolism Reserch and Reviews*. 21:31–38.
19. Fernandez S.P., Wasowski C., Loscalzo L.M., Granger R.E., Johnston G.A.R., Paladini A.C., Marder M. 2006. Central nervous system depressant action of flavonoid glycosides. *European Journal of Pharmacology*. 539:168-176.
20. Fernandez S.P., Nguyen M., Yow T.T., Chu C., Johnston A.R., Hanrahan J.R., Chebib M. 2009. The Flavonoid glycosides, myricitrin, gossypin and naringin exert anxiolytic action in mice. *Neurochemical Research*. 34:1867-1875.
21. Figueroa, J. 10 de septiembre 2009. Reflexiones respecto a plantas medicinales y su enseñanza en medicina. *Revista digital Universitaria ISSN: 10: 1067-6079*.
22. Flórez, J., Armijo, J. A., Mediavilla, A. 2008. *Farmacología humana*. Barcelona, España. 5ª Edición. Elsevier Masson. pp. 543-565.
23. *Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y Tratamiento de los trastornos de Ansiedad en el Adulto*. México; Secretaría de Salud, 2010

24. González-Trujano, M. E., Navarrete, C.A., Reyes, B., Hong, E., 1998. Some pharmacological effects of the ethanol extract of leaves of *Annona diversifolia* on the central nervous system in mice. *Phytotherapy Research* 12:600–602.
25. Gosch C., Halbwirth H., Stich K. 2010. Phloridzin: Biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. *Phytochemistry* 71:838-843.
26. Hiller, K., Zetler, G., 1996. Neuropharmacological studies on ethanol extracts of *Valeriana officinalis*: behavioral and anticonvulsant properties. *Phytotherapy Research* 10:145–151.
27. Hou H., Zhou B., Yang L., Liu Z.-L. 2004. Inhibition of human low density lipoprotein oxidation by flavonols and their glycosides. *Chemistry and Physics of Lipids*. 129:209–219.
28. Jiménez, J. M. 2013. Evaluación de la participación del receptor GABA/BZD en el efecto como ansiolítico de β -sitosterol aislado de *Tilia americana* var. *Mexicana*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. Ciudad de México, México. 43 pp.
29. Kamei, J., Matsunawa, Y., Miyata, S., Tanaka, S., y Saitoh, A. 2004. Effects of nociception on the exploratory behavior of mice in the hole-board test. *European Journal of Pharmacology* 489:77-87.
30. Kashyap, D., Tuli S., H., Sharma, A. K. 2016. Ursolic acid (UA): A metabolite with promising therapeutic potential. *Life Sciences* 146:201–213.
31. Kessler, R.C., Chiu, W.T., Demler, O., Merikangas, K.R., Walters, E.E., 2005. Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 62:617–627.

32. 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 1:1-12
33. Lara, O.F. & Marquez, A.C. 1996. Plantas Medicinales de México. Composición. Usos y Actividad Biológica. UNAM, México. pp. 137–139.
34. Lister, R.G., 1987. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. Psychopharmacology 92: 180–185.
35. López-Rubalcava C., Estrada-Camarena E. 2016. Mexican medicinal plants with anxiolytic or antidepressant activity: Focus on preclinical research. Journal of Ethnopharmacology. 186:377–391.
36. Losi G., Puia G., Garzon G., M. C. de Vuono M. C., Baraldi M. 2004. Apigenin modulates GABAergic and glutamatergic transmission in cultured cortical neurons. European Journal of Pharmacology. 502:41– 46.
37. Martins, P. F., de Melo M. M. R., Sarmiento, P., Silva, C. M. 2016. Supercritical fluid extraction of sterols from *Eichhornia crassipes* biomass using pure and modified carbon dioxide. Enhancement of stigmasterol yield and extract concentration. Journal of Supercritical Fluids 107:441–449.
38. Medina-Mora M.E., Borges G., Lara M.C, Benjet C., Blanco J.J., Fleiz B.C. 2003. Prevalencia de trastornos mentales y uso de servicios: Resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México. Salud Mental 26:1-16.
39. Melo, S. T., Rocha G., C., Costa S., D., Rodrigues C., M., Ferreira, C., Temotheo T., M., Saraiva, E., Parise-Filho, R., Braden, H., Delorenzi, J. C.

2016. Oleonic acid (OA) as an antileishmanial agent: Biological evaluation and in silico mechanistic insights. *Parasitology International* 65 (3): 227–237
40. Mora S., Díaz-Véliz G., Millán R., Lungenstrass H., Quirós S., Coto-Morales T., Hellión-Ibarrola M.C. 2005. Anxiolytic and antidepressant-like effects of the hydroalcoholic extract from *Aloysia polystachya* in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 82: 373–378.
41. Mora-Pérez, A., Hernández-Medel, M. del R. 2015. Actividad anticonvulsivante del extracto metanólico de tallo y raíz de *Kalanchoe pinnata* Lam. en ratones: Comparación con diazepam. *Neurología*. 31:161-168.
42. Moragrega, I, Carrasco, M. C. y Redolat, R. 2005. Effects of housing and nicotine on shuttle-box avoidance in male NMRI mice. *Behavioural Brain Research* 164: 178–187.
43. Nassiri-Asl M., Shariati-Rad S., Zamansoltani F. 2008. Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 32:989–993.
44. Panossian, A., Wikman, G., 2009. Evidence-based efficacy of adaptogens in fatigue, and molecular mechanisms related to their stress protective activity. *Current Clinical Pharmacology* 4:198–219.
45. OCDE, O. 2002a. Test No. 423: Acute oral toxicity – Acute toxic Class Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, section 4: Health effects. OECD Publishing /Editions OCDE.
46. Parpinello G. P., Versari A., Galassi S. 2009. Phloretin Glycosides: Bioactive Compounds in Apple Fruit, Purées, and Juices. *Journal of Medicinal Food*. 3:149-151.

47. Pennington, T. D. & Sarukhán, J. 2005. Arboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. UNAM, México. Fondo de Cultura Económica. 3ª Edición.
48. Pérez G., R. M., Mitchell, S., Vargas S., R. 2008. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 117:1–27.
49. Priprem A., Watanatorn J., Sutthiparinyanont S., Phachonpai W., Muchimapura S. 2008. Anxiety and cognitive effects of quercetin liposomes in rats. *Nanomedicine*. 4:70-78.
50. Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 2:152-159.
51. Ríos, C.D., Salazar, C.R., Cardona, C., Victoria, K., Torres M. 1977. *Psidium guajava*. Manual de Asistencia Técnica No. 4. Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá, Colombia: 2ª edición. 221–248.
52. Salgueiro J.B., Ardenghi P., Díaz M., Ferreira MBC., Izquierdo I., Medina J.H. 1997. Anxiolytic natural and synthetic flavonoid ligands of the central benzodiazepine receptor have no effect on memory tasks in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 58:887-891.
53. Sánchez-Vindas, P. E. 1990. Flora de Veracruz; Myrtaceae. Fascículo 62. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz y la Universidad de California, Riverside.
54. 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*. 21:841–860

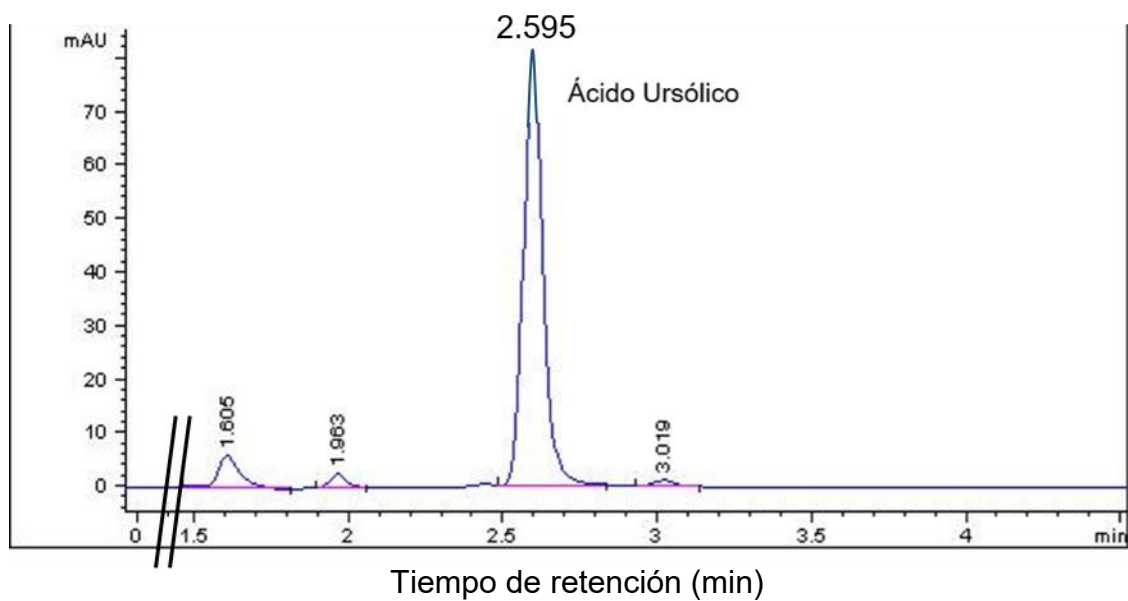
55. Seo S., Lee S., Elam M. L., Johnson S. A., Kang J., Arjmandi B. H. 2014. Study to find the best extraction solvent for use with guava leaves (*Psidium guajava* L.) for high antioxidant efficacy. *Food Science & Nutrition* 2:174–180.
56. Spinella, M., 2001. The Psychopharmacology of Herbal Medicine: Plant Drugs That Alter Mind, Brain and Behavior. *Psychosomatics* 44:1-89.
57. Stone, B. C. 1970. The flora of Guam. A Manual for the Identification of the Vascular Plants of the Island. *Micronesica* 6:454–455.
58. Su L., Chen X., Wu J., Lin B., Zhang H., Lan L., Luo H. 2013. Galangin inhibits proliferation of hepatocellular carcinoma cells by inducing endoplasmic reticulum stress. *Food and Chemical Toxicology* 62:810–816.
59. Verma, R., Hanif, K., Sasmal, D., Raghubir, R., 2010. Resurgence of herbal antihypertensives in management of hypertension. *Current Hypertension Reviews* 6:109–198.
60. Viola H., Wolfman C., Levi de Stein M., Wasowski C. et al. 1994. Isolation of pharmacologically active benzodiazepine receptor ligands from *Tilia tomentosa* (Tiliaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 44:47-53.
61. Virgen, M., R., Lara, A. C., Morales, G., Villaseñor, S. J. 2005. Los trastornos de ansiedad. 6:1-11
62. Weissman, M.M., Markowitz, J.S., Ouellette, R., Greenwald, S., Kahn, J.P., 1990. Panic disorder and cardiovascular/cerebrovascular problems: results from a community survey. *American Journal of Psychiatry* 147:1504–1508.

63. Zhang, Z.J., 2004. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. *Life Sciences* 75:1659–1699.
64. Zhu Y., Liu Y., Zhan Y., Liu L., Xu Y., Xu T., Liu T. 2013. Preparative Isolation and Purification of Five Flavonoid Glycosides and One Benzophenone Galloyl Glycoside from *Psidium guajava* by High-Speed Counter-Current Chromatography (HSCCC). *Molecules* 18:15648-15661.

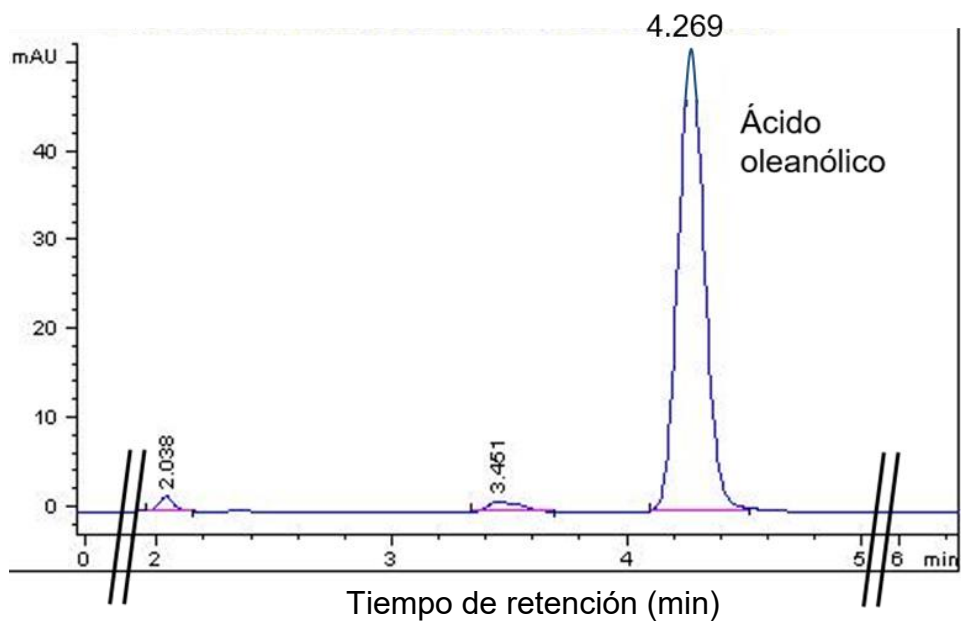
12. ANEXOS

Cromatogramas del análisis por CLAR de los estándares de terpenos presentes en *Psidium guajava* y *Psidium guineense*

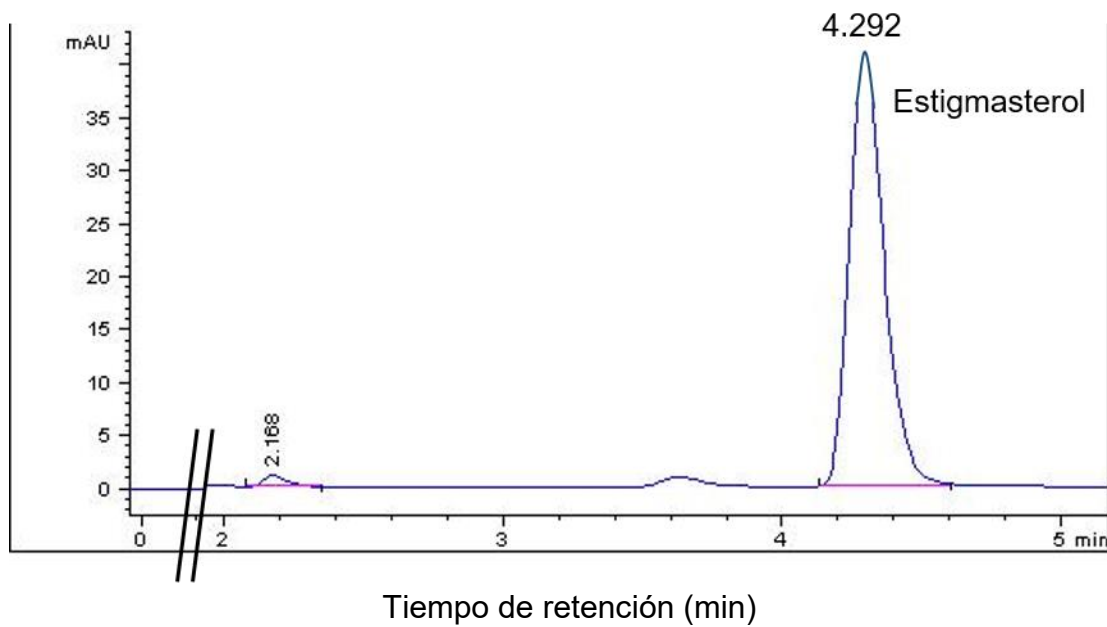
Estándar de ácido ursólico.



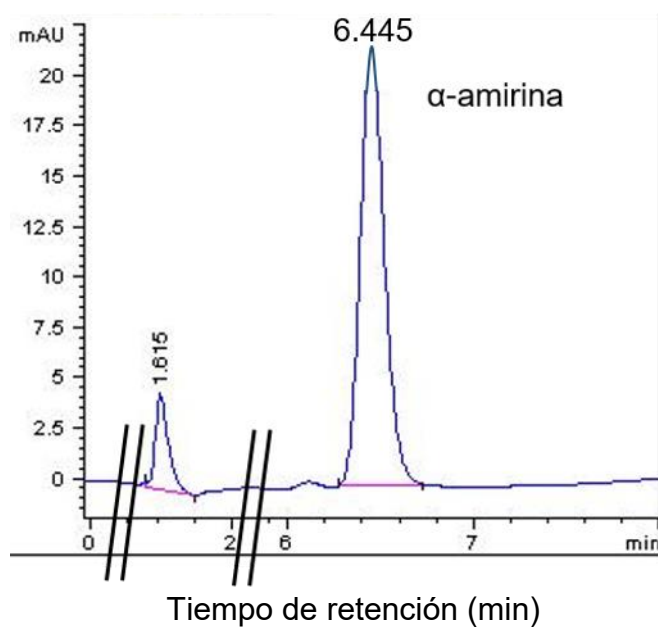
Estándar de ácido oleanólico.



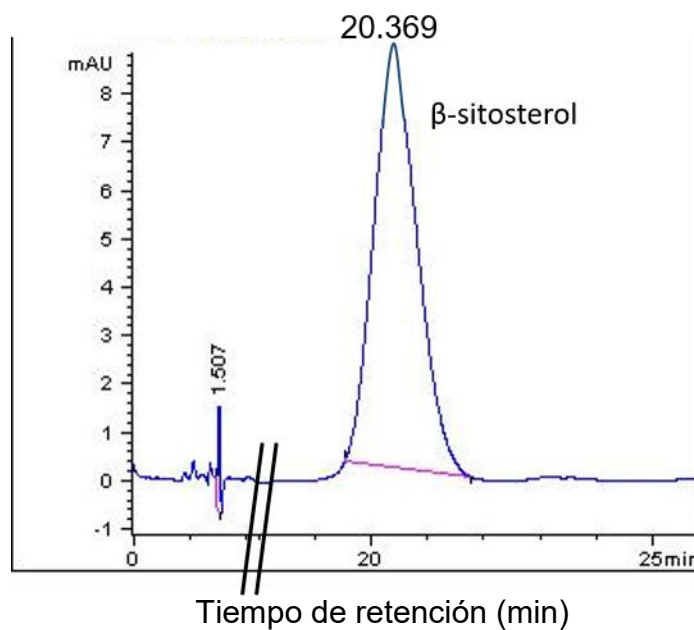
Estándar de estigmasterol.



Estándar de α -amirina.

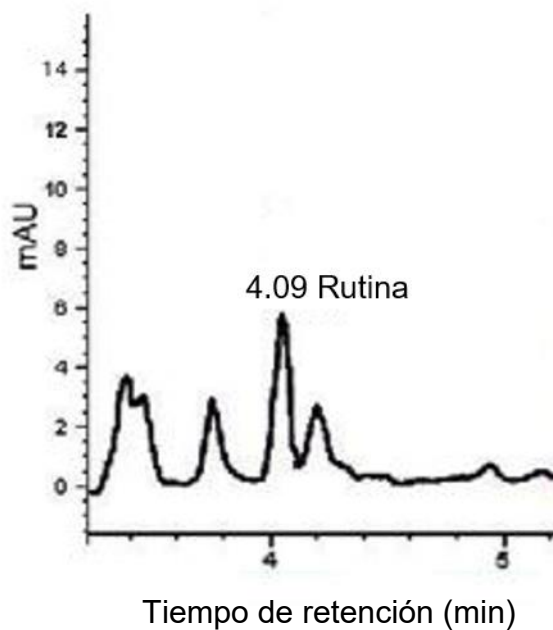


Estándar de β -sitosterol.

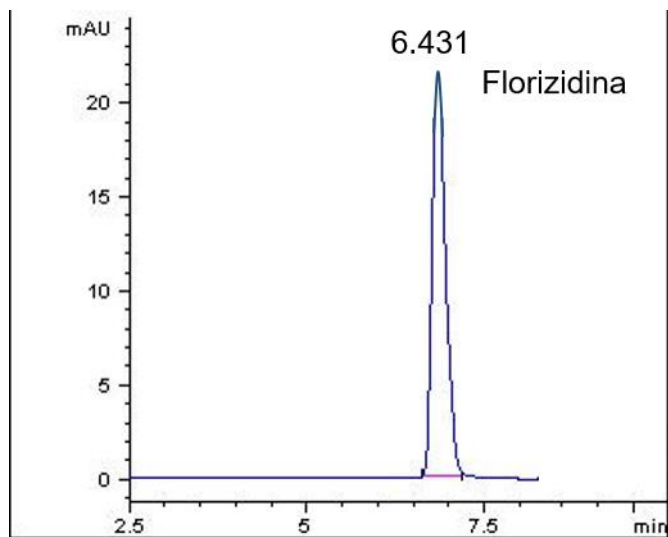


Cromatogramas del análisis por CLAR de los estándares de flavonoides presentes en *Psidium guajava* y *Psidium guineense*

Estándar de rutina.

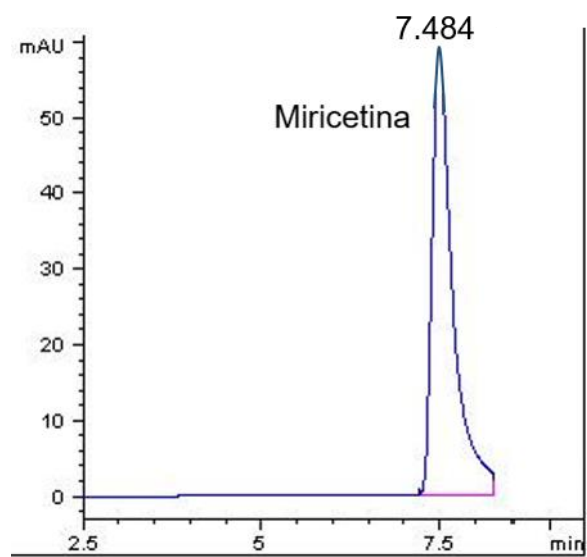


Estándar de florizidina.



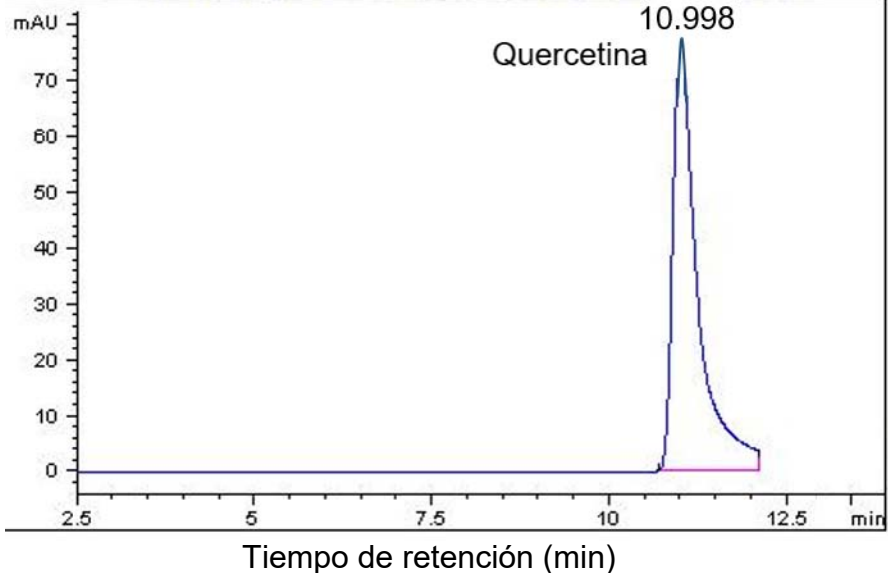
Tiempo de retención (min)

Estándar de miricetina.

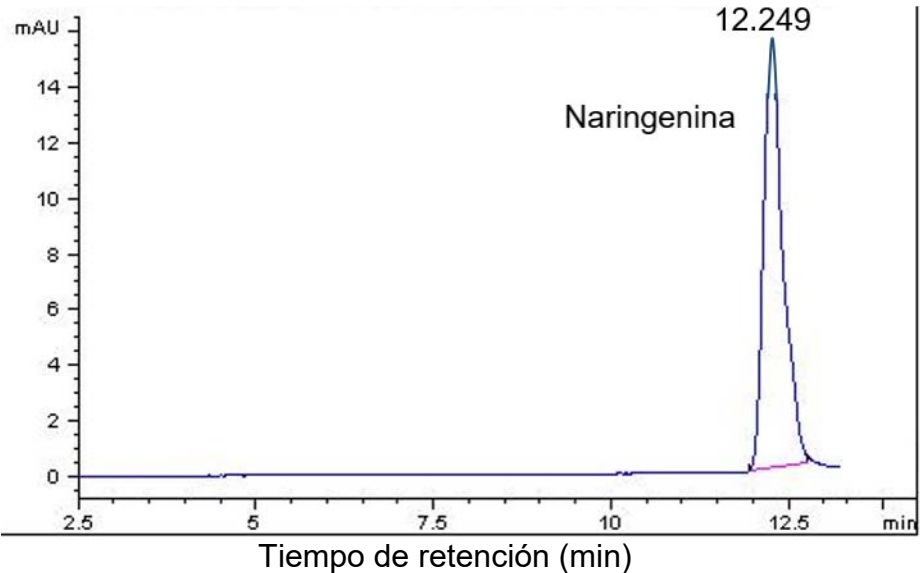


Tiempo de retención (min)

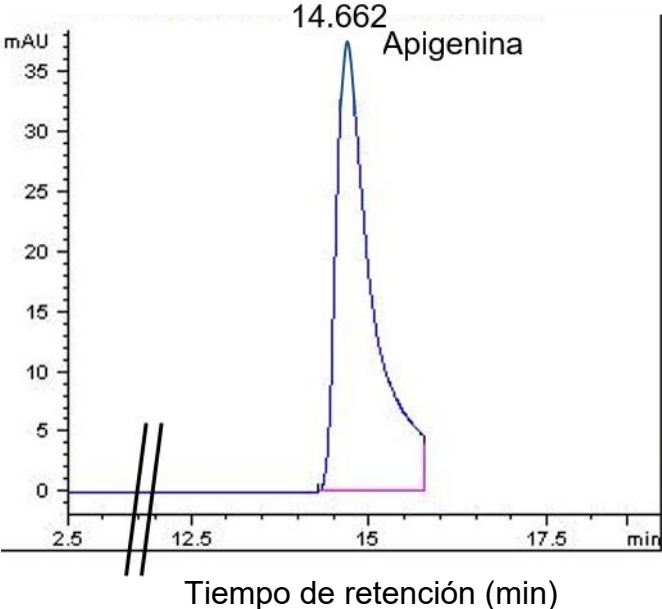
Estándar de quercetina.



Estándar de naringenina.



Estándar de apigenina.



Estándar de galangina.

