



Anticonvulsant and antidepressant effect of the ethanolic extract of *Annona reticulata* leaves in rat

Efecto anticonvulsivo y antidepressivo del extracto etanólico de hojas de *Annona reticulata* en rata

Barón-Flores V^a  | Martínez-Rodríguez E^a | Hernández-López D^a | Romero-Paredes M^b
González-Trujano ME^c | Díaz-Ruiz A^d | Ríos C^{a,d}

a. Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Calzada del Hueso Num. 1100, Col. Villa Quietud, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México.

b. Jefatura de Laboratoristas Químicos, Preparatoria ARA, Calle del hospital Num. 35, Col. Rancho Nuevo, C.P. 62731, Yautepec, Morelos, México.

c. Dirección de Investigaciones en Neurociencias, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, Calzada México Xochimilco Num. 101, Alcaldía Tlalpan, Ciudad de México. México.

d. Departamento de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, Insurgentes Sur 3877, Col. La Fama, Alcaldía Tlalpan, C.P. 14269, Ciudad de México. México.

Correspondence

Dra. Verónica Barón Flores. Depto. de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Calz. del Hueso, Num. 1100, Col. Villa Quietud, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México. México.

 vbaron@correo.xoc.uam.mx

Abstract

Epilepsy and depression are Central Nervous System (CNS) conditions that cause suffering and morbidity among the Mexican population^{1,2}. Although there are drugs for its therapy, sometimes they are ineffective and promote adverse effects that lead to the abandonment of treatment by the patient.^{3,4} Species of the annonaceae family are used in traditional Mexican medicine for their anxiolytic, anticonvulsant, anticancer, antioxidant and anti-inflammatory properties, however, the therapeutic properties of the species of *Annona reticulata* (*A. reticulata*)^{5,6} are not known. The objective of this study consisted in making a discernment of the possible anticonvulsant and antidepressant effects in experimental models in rats. Method: the dried leaves of *A. reticulata* prepared as an ethanolic extract were used to evaluate its effects as an anticonvulsant in the pentylenetetrazole-induced seizure test and as an antidepressant in the forced swim test. In Wistar rats, sodium valproate and imipramine were used as reference drugs, respectively. Results: *A. reticulata* increased latency and decreased the severity of seizures and reduced depressive behavior. Conclusion: this study provides preclinical evidence of the anticonvulsant and antidepressant properties of *A. reticulata* leaves, reinforcing its potential in the search for therapeutic alternatives for CNS disorders.

Key words: *Annona reticulata*, epilepsy, depression, pentylenetetrazole, forced swimming test

Resumen

La epilepsia y la depresión son afecciones del Sistema Nervioso Central (SNC) que causan sufrimiento y morbilidad entre la población mexicana^{1,2}. Si bien existen fármacos para su terapéutica, en ocasiones éstos resultan ineficaces y promueven efectos adversos que conllevan al abandono del tratamiento por parte del paciente^{3,4}. Especies de la familia annonaceae son utilizadas en la medicina tradicional mexicana por sus propiedades terapéuticas ansiolíticas, anticonvulsivas, anticancerígenas, antioxidantes y antiinflamatorias⁴, sin embargo; no se conocen propiedades las propiedades terapéuticas de la especie de *Annona reticulata* (*A. reticulata*)^{5,6}, de modo que el objetivo de este estudio consistió en realizar un discernimiento de los posibles efectos anticonvulsivos y antidepressivos en modelos experimentales en rata. Método: se utilizaron las hojas secas de *A. reticulata* preparadas como un extracto etanólico para evaluar sus efectos como anticonvulsivo en la prueba de crisis convulsivas inducidas con pentylenetetrazol y como antidepressivo en la prueba de nado forzado, en rata Wistar, valproato de sodio e imipramina, se utilizaron como fármacos de referencia, respectivamente. Resultados: *A. reticulata* aumentó la latencia y disminuyó la severidad de las crisis convulsivas y redujo la conducta depresiva. Conclusión: este estudio da evidencia preclínica de las propiedades como anticonvulsivo y antidepressivo de las hojas de *A. reticulata*, reforzando su potencial en la búsqueda de alternativas terapéuticas para afecciones del SNC.

Palabras clave: *Annona reticulata*, epilepsia, depresión, pentylenetetrazol, prueba de nado forzado



Introducción

Los trastornos que afectan al SNC tienen actualmente gran repercusión social y económica en la población mundial. La epilepsia es una enfermedad que afecta aproximadamente a 50 millones de personas en el mundo⁷, a pesar del desarrollo de nuevos medicamentos antiepilépticos en las últimas décadas, el 30% de los pacientes con epilepsia no responden adecuadamente al tratamiento de primera línea⁸. La actividad cerebral anormal puede propagarse desde su foco de origen hacia otras áreas cerebrales, por lo que el SNC puede ser afectado con la recurrencia de episodios convulsivos dejando consecuencias y secuelas neurológicas⁹. La frecuencia de las convulsiones en algunos casos complica su tratamiento, lo que conlleva a la epilepsia resistente al tratamiento (TRE). En este tipo de epilepsia se recomienda la administración de al menos dos fármacos anticonvulsivos, o bien recurrir a la intervención quirúrgica¹⁰.

La depresión es otro trastorno que afecta a más de 300 millones de personas a nivel mundial¹¹, es una de las principales causas de discapacidad, morbilidad e incluso comorbilidad de la epilepsia, que puede ser recurrente y crónica¹². De acuerdo con la OMS, afecta más a mujeres que a hombres y está caracterizada por la presencia de intensa tristeza, insatisfacción, baja autoestima, insomnio, anorexia o bulimia, cansancio y dificultad de concentración que afectan el desempeño laboral, escolar y personal, que puede culminar con el suicidio¹². Cada año se suicidan cerca de 800,000 personas, siendo el suicidio la segunda causa de muerte en personas de 15 a 29 años. Aunque la mayoría de los fármacos antidepresivos mejoran los síntomas depresivos se sabe que ejercen múltiples efectos no deseado¹³.

México se caracteriza por ser un país con una extensa herbolaria, que no solamente sirve para consumo alimenticio, también se pueden utilizar con fines terapéuticos alternativos o complementarios¹⁴, la Red de *Annonáceas*¹⁵ recolectó 547 accesiones de cuatro especies de las 12 reportadas en México, las cuales corresponden 7 de *A. muricata*, 267 de *A. cherimola*, 241 de *A. diversifolia* 32 de *A. squamosa*¹⁶, la especie de *A. reticulata* se localiza en el Estado de Morelos y alrededores, es una especie endémica que no se encuentra en resguardo, pero con los resultados de éstos estudios preliminares del efecto depresor en el SNC, se podría aportar la información a la red de *annonáceas* y proteger la especie. De las especies del género *Annona*: tales como: la *A. diversifolia*^{17,18,19}, la sobre el SNC como ansiolíticos y anticonvulsivos preparados en extractos polares.

Se ha reportado que la *A. reticulata* tiene propiedades hipoglucemiantes²², antihelmínticas, analgésicas-antiinflamatorias²³, antipiréticas y cicatrizantes, aunque también se han reportado efectos citotóxicos. De estudios fitoquímicos previos, se sabe que esta especie contiene compuestos como: taninos, alcaloides, fenoles, glucósidos, flavonoides y esteroides, además se ha estudiado la actividad inhibitoria sobre el SNC, en estudios de sueño inducido⁶, pero no en modelos de epilepsia y depresión, por lo anterior en este estudio se realizó el discernimiento para conocer sus posibles efectos como anticonvulsivo y antidepresivo utilizando modelos experimentales en rata.

Objetivo

Evaluar el efecto inhibitor del SNC del extracto etanólico de *A. reticulata*, al realizar un análisis del potencial de la especie *A. reticulata* como tratamiento en el modelo experimental de epilepsia y depresión.

Material y método

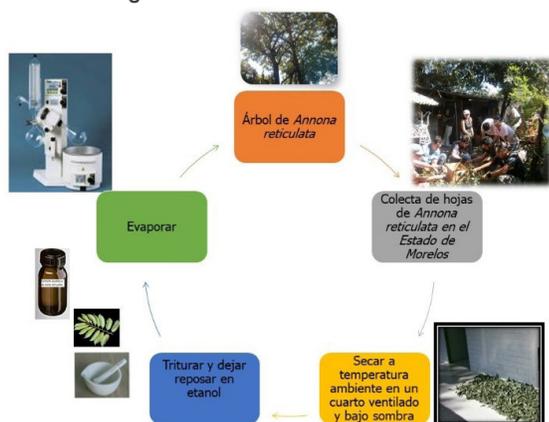
Animales: Ratas de la cepa Wistar (200-250 g) se utilizaron como material biológico, alojados en cajas de acrílico en grupos de seis animales, sin restricción de alimento y agua y mantenidos a una temperatura controlada de 22°C con ciclo de luz/oscuridad de 12:12h. Los experimentos se realizaron en conformidad con los estándares éticos de investigación (NOM-062ZOO-1999), aprobados por el *Comité Nacional de Cuidados Animales* y contenidos en la *Ley General de Salud*. Los animales fueron obtenidos del Bioterio de la *Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco*, de acuerdo al protocolo aprobado por el CICUAL-UAM-Xochimilco No. 115/2018. Todas las administraciones se realizaron durante 5 días diariamente a la misma hora antes de la evaluación de los modelos experimentales.

Material vegetal

Annona reticulata se colectó en los meses de septiembre a noviembre, en Yautepec Morelos, una de las regiones de México donde se utilizan varias especies de plantas en la medicina tradicional, originaria de América central, su fruto es aromático de sensación suave y sabor dulce, el mayor y más importante uso de esta fruta, es para elaborar ricas aguas frescas, helados y dulces, se encuentra en forma de arbustos y árboles, su producción es endémica, y se puede conseguir en los mercados y viveros locales de Yautepec. Preparación del extracto: se colectaron hojas maduras y se pusieron a secar bajo sombra en un cuarto oscuro, libre de humedad, a temperatura ambiente, una semana después

cuando las hojas se secaron, se trituraron en un mortero hasta obtener un polvo fino (271.45 g). El polvo se colocó en maceración en etanol absoluto (1 L) por una semana a temperatura ambiente. El solvente se filtró y evaporó a presión reducida, utilizando un *Rotavapor R-300 Buchi*, a 45°C para obtener un rendimiento de 19.8 g (7.3%) del extracto etanólico crudo (Figura 1). Los extractos se resuspendieron en Tween 80 al 0.5% en solución salina (0.9% NaCl). Los fármacos de referencia fueron: valproato de sodio y clorhidrato de imipramina adquiridos de *Sigma Aldrich* (St. Louis MO, USA). Las soluciones o suspensiones de los fármacos y los extractos se prepararon el mismo día de la administración y se administraron en sus respectivas dosis bajo un volumen de inyección de 0.1 mL/100 g.

Figura 1. Recolección de *A. reticulata*



El diseño del estudio consistió en 2 ensayos

Prueba de crisis tónico-clónicas inducidas con pentilentetrazol (PTZ). Se utilizaron 18 ratas Wistar de 250 g, divididas en grupos de 6 ratas: grupo control, solución salina 0.9% NaCl, grupo referencia, valproato de sodio (60 mg/Kg) y grupos experimentales, *A. reticulata* 800mg/Kg y 1600mg/Kg, después de 30 minutos de administrar, se indujeron las crisis convulsivas con 60 mg/Kg de pentilentetrazol, vía intraperitoneal, y se midió la latencia a la primera crisis tónico-clónica²⁴.

Prueba de nado forzado. Se utilizaron 30 ratas colocadas aleatoriamente en grupos de 6 ratas, para realizar la prueba de nado forzado se utilizó un cilindro de vidrio transparente (40 cm de alto x 20 cm de diámetro), el cual se llenó a ¾ de su capacidad con agua a temperatura de 23°C; se realizó un entrenamiento previo de 10 minutos, después del nado las ratas se secaron con una toalla y se colocaron en una jaula individual; después de 24 h se realizó la prueba de nado forzado durante 5 minutos, la evaluación del comportamiento de la rata, se realizó a través de videograbaciones en un lugar aislado de movimientos

y ruido; en la prueba de nado forzado las ratas generalmente adoptan ciertas actitudes, una de ellas es que simplemente se mantienen a flote, lo que sugiere una actitud para conservar energía, otra respuesta es que hacen mínimos movimientos para mantener la nariz por fuera de la superficie del agua e incluso estiran las extremidades posteriores o el rabo, manteniendo el cuerpo en un ángulo entre 30 y 45 grados. En este segundo caso se asume que el animal ha encontrado una forma de resolver el conflicto, mediante la adopción de la inmovilidad, pero que ha abandonado la motivación por escapar de la situación, un indicador de “desesperanza”, latencia a la inmovilidad, otro parámetro que se contabilizó fue las veces que la rata trato de escalar para escapar y las vueltas que dio (nado)^{25,26,27,28} (Figura 2). Se utilizaron 30 ratas, 6 en cada grupo, la administración se realizó media hora antes del ensayo: grupo control, solución salina 0.9% NaCl, referencia imipramina 20 mg/Kg y *A. reticulata* 400, 600 y 800 mg/Kg, administrados por vía oral.

Figura 2. Prueba de nado forzado



Se realizaron pruebas preliminares de toxicidad hepática y de inducción del sueño, para ver si producía efectos colaterales. Se utilizó el modelo de daño hepático inducido por acetaminofén: Se utilizaron 18 ratas hembra Wistar de 250 g de peso; grupo control: solución salina 0.9% 1ml/Kg de peso durante 6 días; grupo daño hepático: acetaminofén 400 mg/kg de peso por 2 días y 600 mg/kg por 4 días; grupo daño hepático/hepatoprotector: 400 mg/kg por 4 días de acetaminofén y 200 mg/Kg de *annona reticulata* y por 2 días más 600 mg/kg de acetaminofén y 200 mg/Kg de *annona reticulata*, todas las administraciones fueron por vía oral^{29,30}. Se realizó la disección del hígado y se observaron los efectos macroscópicos, además se realizaron cortes histológicos que se observaron por microscopía.

Prueba de sueño inducido por pentobarbital

Se utilizaron 18 ratas Wistar hembra de 250 g de peso, 6 ratas por grupo; grupo control: pentobarbital sódico 35 mg/Kg de peso; grupo benzodiacepinas: pentobarbital sódico 35 mg/Kg

de peso y diazepam 1 mg/Kg de peso; grupo *annona*: pentobarbital sódico 35 mg/kg y 200mg/Kg) de *annona reticulata*. El tiempo desde la inyección a la pérdida de la postura (tiempo de inducción) y el tiempo desde la pérdida de la postura hasta el despertar (tiempo de sueño en minutos)³¹.

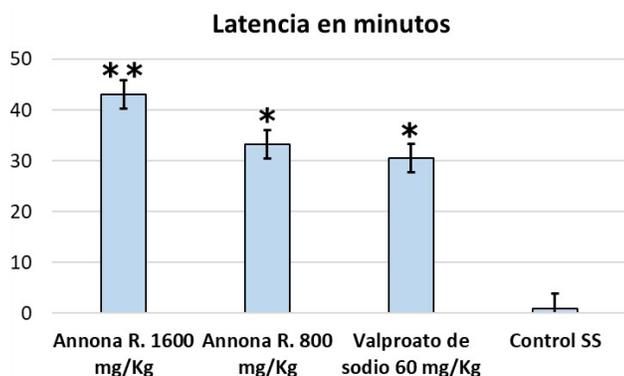
Análisis estadístico

Los datos se representan como la media \pm EEM de 6 repeticiones. Para el análisis se utilizó análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguido de la prueba de Tukey-Kramer. Un valor de $P < 0.05$ se consideró significativo.

Resultados

Prueba de crisis tónico-clónicas inducidas con pentilentetrazol (PTZ): El extracto de *A. reticulata* (800 mg/Kg) incrementó significativamente ($P < 0.05$) la latencia a la primera crisis tónico-clónica inducida con el PTZ de 1 ± 0.01 a 34 ± 3.26 minutos (Figura 3), igual a lo observado con el fármaco de referencia valproato de sodio 30 ± 0.96 . La dosis de *A. reticulata* de 1600 mg/Kg tuvo una latencia de 43.93 ± 2.32 minutos. Se puede observar que los tratamientos, incrementaron la latencia a la crisis convulsiva de PTZ, y que no hay diferencias significativas entre los grupos de tratamiento de *annona*, se observa que entre la dosis de *A. reticulata* de 1600 mg/Kg. Sin embargo ésta dosis presento efectos colaterales, como incoordinación motora y sueño.

Figura 3. Modelo de Epilepsia, por administración de pentilentetrazol (PTZ)



Prueba de nado forzado: Las ratas permanecieron inmóviles (Figura 4a), nadaron (Figura 4b) y escalaron (Figura 4c) al ser expuestas a la prueba de nado forzado durante 5 minutos; el grupo control permaneció inmóvil 4.37 ± 0.22 min, al inicio de la prueba se movió con mucha rapidez, dando giros enérgicamente, con un tiempo de nado de 0.41 ± 0.03 min,

y un tiempo de escala de 0.38 ± 0.02 , durante las vueltas de nado también escalaban con gran velocidad de manera simultánea, tratando de huir desesperadamente, por lo que se cansaron muy rápido, y dejaron de nadar y de escalar.

El grupo control antidepressivo que fue el de imipramina 20 mg/kg, un antidepressivo tricíclico, prolongó el tiempo de inmovilidad en el agua 4.37 ± 0.03 y el tiempo de nado 2.66 ± 0.06 , pero no el de escalamiento 0.48 ± 0.03 , que no hubo diferencias significativas con el grupo control ($p < 0.05$), sin embargo; éste grupo tuvo un comportamiento diferente al colocarlos en el agua, se movieron nadando y escalando, inspeccionando el área e hicieron el intento de huir y de escalar, pero sin agresividad, ni de forma violenta, casi mitad del tiempo permanecieron explorando, hasta que adoptaron una conducta de inmovilidad.

El análisis de datos de los grupos tratados fue el siguiente: tiempo de inmovilidad *A. reticulata* 400 mg/kg, 2.62 ± 0.28 ; 600 mg/kg, 0.62 ± 0.01 , 800 mg/kg 4.63 ± 0.05 , todos los grupos con respecto al grupo control de solución salina, pero no con imipramina fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$); sin embargo, el comportamiento fue diferente; al principio, los grupos de 400 mg/Kg y 600 mg/Kg empezaron a nadar con fuerza y rapidez, después comenzaron a moverse y escalar más lento y continuaron explorando, tiempo de nado de la dosis de 400mg/kg fue de 2.02 ± 0.25 , éste grupo tuvo mucha variabilidad, tiempo de escalamiento 0.41 ± 0.03 ; el tiempo de nado de la dosis de 600 mg/Kg fue de 3.97 ± 0.08 y el de escalamiento de 0.35 ± 0.02 ; ambas dosis fueron diferentes significativamente con el control de solución salina. La dosis de 800 desde que se colocó en el agua, se mantuvo tranquilo, no nadaron ni exploraron, pero se mantuvieron a flote durante todo el ensayo, el tiempo de nado fue 0.33 ± 0.05 sin escalamiento.

Figura 4a. Prueba de nado forzado: inmovilidad

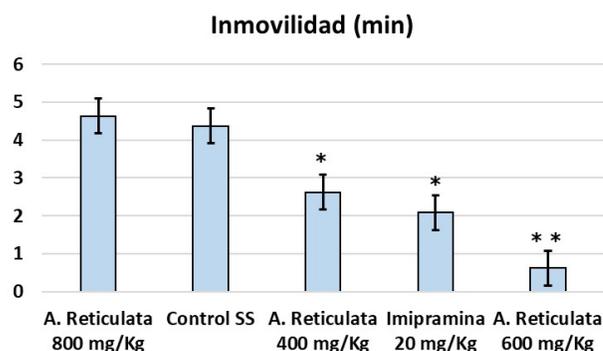


Figura 4b. Prueba de nado forzado: nado

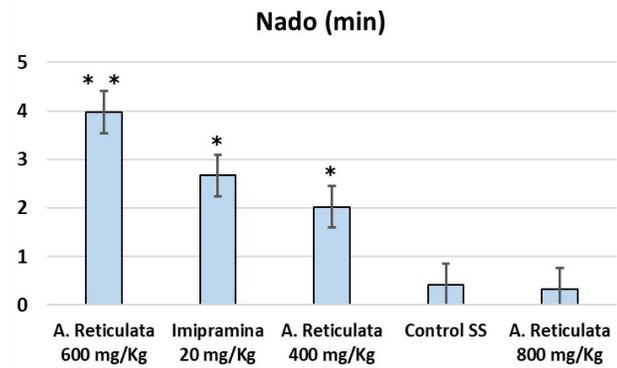
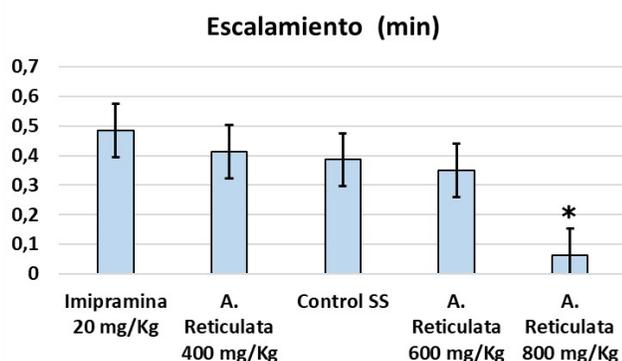


Figura 4c. Prueba de nado forzado: escalamiento



Prueba de sueño inducido por pentobarbital sódico

Se observa que no hubo diferencias significativas con respecto al control, comportamiento parecido al de las benzodiazepinas, lo que si se observó fue que la desviación estándar fue grande comparada con el diazepam y el control, en lo que respecta al tiempo de sueño no existen diferencias significativas respecto al grupo blanco, con la dosis ensayada, lo que sugiere que el extracto de *A. reticulata* no tiene efecto depresor a nivel del sistema nervioso central, (Figura 5a y 5b).

Figura 5a. Sueño inducido por pentobarbital

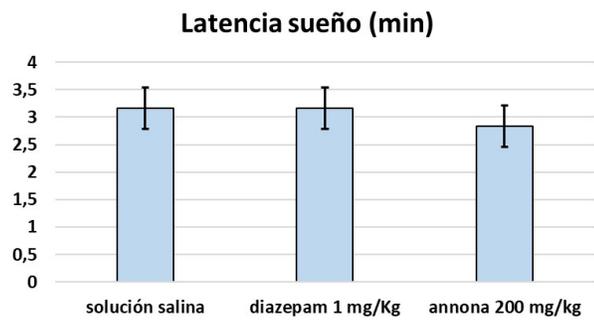
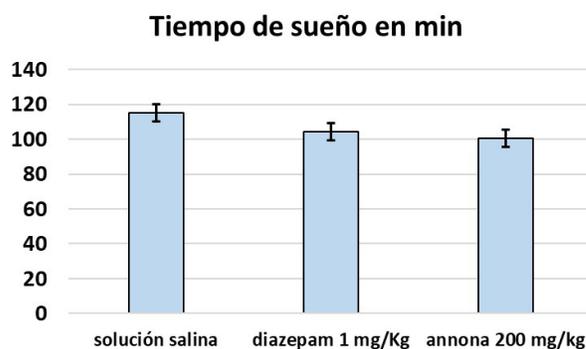


Figura 5b. Sueño inducido por pentobarbital



El resultado macroscópico, (Figura 6a) indica que el grupo administrado con *A. reticulata*, no presenta inflamación, varices o abscesos que indiquen algún daño, el color que se aprecia es parecido al grupo control que solo se le administró solución salina. En el resultado por microscopia se observa congestión y tumefacción en el hígado dañado con acetaminofén, en cambio en *A. reticulata*, los daños disminuyeron, (Figura 6b).

Figura 6a. Daño hepático, hígado de rata



Figura 6b. Daño hepático, cortes histológicos



Discusión y conclusiones

En el presente estudio se demuestra que el extracto etanólico de las hojas de *A. reticulata* posee propiedades como anticonvulsivo y antidepressivo como lo observado en el discernimiento con diferentes modelos experimentales.

En este estudio se evidenció que el extracto de las hojas de *A. reticulata* produce diversos efectos sobre el SNC semejantes a los reportados para otras especies de *annona*, de los que se han aislado principios activos como palmitona, 1,2-dimetoxi-5, 6, 6a, 7-tetrahidro-4H-dibenzoquinolina-3, 8, 9, 10-tetrol, anonaína, norciferina y liriodenina, es probable que el efecto del extracto sea debido alguna de éstas sustancias, los resultados que se presentan avalan el empleo del extracto etanólico de *annona reticulata*, se espera que se realicen más investigaciones sobre la extensa herbolaria mexicana, ya sea como medicamentos alternativos o complementarios.

Sin embargo; se debe considerar que, los productos herbolarios, pueden presentar efectos adversos, debido a los efectos depresores; por lo que debe tomarse con cautela la administración de los extractos, en la interacción con sustancias depresoras del SNC, ya que pueden presentarse efecto de antagonismo o sinergismo. Los resultados hepatotóxicos y de inducción del sueño, dan soporte para recomendar el uso del extracto.

En conclusión, éste discernimiento farmacológico de los efectos depresores en el SNC del extracto etanólico de las hojas de *A. reticulata* da evidencia preliminar de que esta especie de *A. reticulata* comparte las propiedades como anticonvulsivo y antidepressivo, igual que otras especies del género *Annona*.

Referencias

- Fernández-Suárez E, Villa-Estébanez R, García-Martínez A, Fidalgo-González JA, Zanabali Al-Sibbai AA, Salas-Puig J. Prevalencia, tipo de epilepsia y uso de fármacos antiepilépticos en atención primaria [Prevalence, type of epilepsy and use of antiepileptic drugs in primary care]. *Rev Neurol*. 2015; 60(12):535-42. Doi:<https://doi.org/10.33588/rn.6012.2015038>
- Emslie GJ, Ryan ND, Wagner KD. Major depressive disorder in children and adolescents: clinical trial design and antidepressant efficacy. *J Clin Psychiatry*. 2005; 66(S7):14-20. <https://www.psychiatrist.com/jcp/depression/major-depressive-disorder-children-adolescents-clinical/>
- Pérez-Pérez D, Frías-Soria CL, Rocha L. Drug-resistant epilepsy: From multiple hypotheses to an integral explanation using preclinical resources. *Epilepsy Behav*. 2021; 121(PtB):106430. doi: 10.1016/j.yebeh.2019.07.031
- Thijs RD, Surges R, O'Brien TJ, Sander JW. Epilepsy in adults. *Lancet*. 2019; 16,393(10172):689-701. doi:10.1016/S0140-6736(18)32596-0
- N'Gouemo P, Koudogbo B, Tchivounda H, Akono C, Etoua M. Effects of ethanol extract of *Annona muricata* on pentylenetetrazol-induced convulsive seizures in mice. *Phytother Res*. 1996; 11(3):243-245. Doi: 10.1002/(SICI)1099-1573(199705)11:33.O.CO;2-A
- Jamkhande PG, Wattamwar AS. *Annona reticulata* Linn. (Bullock's heart): Plant profile, phytochemistry and pharmacological properties. *J Tradit Complement Med*. 2015; 10, 5(3):144-52. doi: 10.1016/j.jtcm.2015.04.001
- Rocha L, Cinar R, Guevara-Guzmán R, Alonso-Vanegas M, San-Juan D, Martínez-Juárez I, Castañeda-Cabral JL, Carmona-Cruz F. Endocannabinoid System and Cannabinoid 1 Receptors in Patients With Pharmacoresistant Temporal Lobe Epilepsy and Comorbid Mood Disorders. *Front Behav Neurosci*. 2020; 6;14:52. doi: 10.3389/fnbeh.2020.00052
- Rocha L, Frías-Soria CL, Ortiz JG, Auzmendi J, Lazarowski A. Is cannabidiol a drug acting on unconventional targets to control drug-resistant epilepsy?. *Epilepsia Open*. 2020; 5(1):36-49. doi: 10.1002/epi4.12376
- López González FJ, Rodríguez Osorio X, Gil-Nagel Rein A, Carreño Martínez M, Serratos Fernández J, Villanueva Haba V, Donaire Pedraza AJ, Mercadé Cerdá JM. Drug-resistant epilepsy: definition and treatment alternatives. *Neurología*. 2015; 30(7):439-46. doi: 10.1016/j.nrl.2014.04.012
- Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J Jr. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005; 46(4):470-2. doi: 10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x
- Emslie GJ, Heiligenstein JH, Wagner KD, Hoog SL, et al. Fluoxetine for acute treatment of depression in children and adolescents: a placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2002; 41(10):1205-15. doi: 10.1097/00004583-200210000-00010
- Fava M, Rush AJ, Alpert JE, Carmin CN, Balasubramani GK, Wisniewski SR, Trivedi MH, Biggs MM, Shores-Wilson K. What clinical and symptom features and comorbid disorders characterize outpatients with anxious major depressive disorder: a replication and extension. *Can J Psychiatry*. 2006; 51(13):823-35. doi: 10.1177/070674370605101304
- Chiriță AL, Gheorman V, Bondari D, Rogoveanu I. Current understanding of the neurobiology of major depressive disorder. *Rom J Morphol Embryol*. 2015; 56(2):651-8. <https://rjme.ro/RJME/resources/files/561215651658.pdf>
- Tortoriello J, Romero O. Plants used by Mexican traditional medicine with presumable sedative properties: an ethnobotanical approach. *Arch Med Res*. 1992 Autumn; 23(3):111-6. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/01884409>

15. Agustín JA, Segura S. Conservación y uso de los recursos genéticos de Annonaceae en México. *Rev. Bras. Frutic.* 2014; 36(1):118-124. Doi: 10.1590/S0100-29452014000500014
16. Hernández Fuentes LM, López MA, Castañeda Vildózola A, Hernández Ortiz V, Mario Orozco Santos M. No-Host Status of Fruit Flies *Anastrepha ludens* and *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae) in Soursoop Fruit, *Annona muricata* (Magnoliales: Annonaceae). *Southwestern Entomologist*, 38(1), 85-97. <https://bioone.org/journals/southwestern-entomologist/volume-38/issue-1/059.038.0109/No-Host-Status-of-Fruit-Flies-Anastrepha-ludens-and-A/10.3958/059.038.0109.short>
17. González Trujano ME, Navarrete A, Reyes B, Hong E. Some pharmacological effects of an ethanol extract of leaves of *Annona diversifolia* on the central nervous system. *Phytother Res.* 1998; 12(8):600-602. [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199812\)12:8%3C600::AID-PTR363%3E3.0.CO;2-N](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1099-1573(199812)12:8%3C600::AID-PTR363%3E3.0.CO;2-N)
18. González-Trujano ME, Navarrete A, Reyes B, Cedillo-Portugal E, Hong E. Anticonvulsant properties and bio-guided isolation of palmitone from leaves of *Annona diversifolia*. *Planta Med.* 2001; 67(2):136-41. doi: 10.1055/s-2001-11504.
19. Eva González-Trujano M, Tapia E, López-Meraz L, Navarrete A, Reyes-Ramírez A, Martínez A. Anticonvulsant effect of *Annona diversifolia* Saff. and palmitone on penicillin-induced convulsive activity. A behavioral and EEG study in rats. *Epilepsia.* 2006; 47(11):1810-7. doi: 10.1111/j.1528-1167.2006.00827.x
20. Foong C, Abdul R. Evaluation of anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Annona muricata* leaves. *Brazilian J Pharmacognosy.* 2012; 22(6):1301-1307. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000096>
21. Martínez-Vázquez M, Estrada-Reyes R, Araujo Escalona AG, Ledesma Velázquez I, Martínez-Mota L, Moreno J, Heinze G. Antidepressant-like effects of an alkaloid extract of the aerial parts of *Annona cherimolia* in mice. *J Ethnopharmacol.* 2012; 6,139(1):164-70. doi: 10.1016/j.jep.2011.10.033
22. Quílez AM, Fernández-Arche MA, García-Giménez MD, De la Puerta R. Potential therapeutic applications of the genus *Annona*: Local and traditional uses and pharmacology. *J Ethnopharmacol.* 2018; 28, 225:244-270. doi: 10.1016/j.jep.2018.06.014
23. Kandimalla R, Dash S, Kalita S, Choudhury B, Malampati S, et al. Bioactive Fraction of *Annona reticulata* Bark (or) *Ziziphus jujuba* Root Bark along with Insulin Attenuates Painful Diabetic Neuropathy through Inhibiting NF- κ B Inflammatory Cascade. *Front Cell Neurosci.* 2017; 22, 11:73. doi: 10.3389/fncel.2017.00073
24. Kandimalla R, Dash S, Kalita S, Choudhury B, Malampati S, Kalita K, Kotoky J. Bioactive Guided Fractions of *Annona reticulata* L. bark: Protection against Liver Toxicity and Inflammation through Inhibiting Oxidative Stress and Proinflammatory Cytokines. *Front Pharmacol.* 2016; 22, 7:168. doi: 10.3389/fphar.2016.00168
25. López-Meraz ML, González-Trujano ME, Neri-Bazán L, Hong E, Rocha LL. 5-HT_{1A} receptor agonists modify epileptic seizures in three experimental models in rats. *Neuropharmacology.* 2005; 49(3):367-75. doi: 10.1016/j.neuropharm.2005.03.020
26. Yankelevitch-Yahav R, Franko M, Huly A, Doron R. The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *J Vis Exp.* 2015 2; (97):52587. doi: 10.3791/52587
27. Can A, Dao DT, Arad M, Terrillion CE, Piantadosi SC, Gould TD. The mouse forced swim test. *J Vis Exp.* 2012; 29(59):e3638. doi: 10.3791/3638
28. Fitzgerald PJ, Yen JY, Watson BO. Stress-sensitive antidepressant-like effects of ketamine in the mouse forced swim test. *PLoS One.* 2019; 14(4):e0215554. doi: 10.1371/journal.pone.0215554
29. Bogdanova OV, Kanekar S, D'Anci KE, Renshaw PF. Factors influencing behavior in the forced swim test. *Physiol Behav.* 2013; 118:227-39. doi: 10.1016/j.physbeh.2013.05.012.
30. Mossanen JC, Tacke F. Acetaminophen-induced acute liver injury in mice. *Lab Anim.* 2015; 49(1):30-6. doi: 10.1177/0023677215570992
31. Subramanya SB, Venkataraman B, Meeran MFN, Goyal SN, Patil CR, Ojha S. Therapeutic Potential of Plants and Plant Derived Phytochemicals against Acetaminophen-Induced Liver Injury. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(12):3776. doi: 10.3390/ijms19123776
32. Sakina MR, Dandiya PC, Hamdard ME, Hameed A. Preliminary psychopharmacological evaluation of *Ocimum sanctum* leaf extract. *J Ethnopharmacol.* 1990; 28(2):143-50. doi: 10.1016/0378-8741(90)90023-m

Artículo sin conflicto de interés

© Archivos de Neurociencias