



Universidad Autónoma



Metropolitana Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas

Reporte de Servicio Social

Evaluación farmacológica y estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Hedeoma piperita*.

Asesor interno: Dr. Luis Alfonso Moreno Rocha


Asesor externo: Dra. Rosa Estrada Reyes

Residente: Gabriela Anayeli Tapia Estrella

Matricula: 2172030841

Licenciatura: Química Farmacéutica Biológica

Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz



Dr. Luis Alfonso Moreno Rocha

Profesor Asociado "D" T.C. No.
Eco. 35135. Laboratorio N-102
Farmacocinética y Farmacodinamia.



Dra. Rosa Estrada Reyes

Investigadora en Ciencias Médicas.
Ced. Prof. 4488867. Dirección de
investigación de neurociencias.
Laboratorio de Fitofarmacología.

Contenido

1	Introducción	3
2	Antecedentes	4
	2.1 Hedeoma piperita.....	4
	2.2 Ansiedad y depresión.....	4
	2.3 Modelos animales	5
	2.3.1 Nado forzado	5
	2.3.2 Suspensión de cola.....	5
	2.3.3 Tablero perforado.....	5
	2.3.4 Laberinto elevado en cruz	6
3	Materiales y métodos	6
	3.1 Preparación del extracto hidroetanólico	6
	3.2 Animales de experimentación	6
	3.3 Tratamiento	7
	3.4 Actividad de tipo ansiolítica	7
	3.4.1 Prueba Tablero perforado.....	7
	3.4.2 Laberinto elevado en cruz	7
	3.5 Actividad de tipo antidepresiva	8
	3.5.1 Suspensión de cola.....	8
	3.5.2 Nado Forzado	8
4	Resultados	9
	4.1 Laberinto elevado en cruz.....	9
	4.2 Tablero perforado	11
	4.3 Suspensión de cola	15
	4.4 Nado forzado	16
5	Discusión.....	17
6	Conclusión	17
7	Bibliografía	18

1 Introducción

El introducir nuevos fármacos de origen natural al mercado con propiedades ansiolíticas o antidepresivas; como una respuesta a la necesidad sanitaria de la población que sufre de trastornos del Sistema Nervioso Central (SNC), como la depresión y la ansiedad. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad de tipo ansiolítica y antidepresiva de un extracto hidroetanólico de las partes aéreas de *Hedeoma piperita* (*Lamiaceae*) en modelos de conducta en ratones macho Swiss Webster. La actividad ansiolítica fue evaluada en las pruebas del Tablero con Perforaciones y el Laberinto Elevado en forma de Cruz, mientras que, la actividad antidepresiva se evaluó con las pruebas de Nado forzado y Suspensión de Cola.

En México, los trastornos de ansiedad y depresión son un problema de salud pública, que aqueja a gran parte de la población; en 2021 el INEGI realizó encuestas en el territorio nacional, con el fin de producir datos estadísticos sobre las personas que padecen ansiedad y otras enfermedades mentales en los habitantes de las diferentes entidades federativas; obteniendo como resultado que en promedio 5.07% de la población adulta mexicana sufren de ansiedad y/o depresión.

Existen una gran variedad de plantas medicinales mexicanas que se utilizan empíricamente para tratar estos trastornos mentales, *Hedeoma piperita*, conocida comúnmente como tabaquillo chico; es una planta que se encuentra en los estados de Hidalgo, Michoacán y en la Ciudad de México, en la alcaldía Milpa Alta (Herrera, M. *et al*, 2021), y que se utiliza para calmar los “nervios”, por esto se eligió como objeto de estudio evaluar sus efectos de tipo ansiolítico y/o antidepresivo en diferentes modelos animales.

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar los efectos de tipo ansiolíticos y/o antidepresivos de un extracto hidroetanólico de las partes aéreas de *Hedeoma piperita*, en modelos de conducta en ratones macho. Para evaluar el efecto ansiolítico se utilizaron las pruebas de tablero perforado y laberinto elevado en cruz y para evaluar su efecto antidepresivo se utilizaron las pruebas de suspensión de cola y nado forzado. Con la finalidad de proponer nuevos tratamientos alternativos a base de extractos de plantas medicinales mexicanas como posibles tratamientos para la ansiedad y la depresión.

2 Antecedentes

2.1 Hedeoma piperita

Pertenece a la familia de las Lamiaceae, la cual incorpora una amplia variedad de plantas aromáticas con gran importancia en la medicina tradicional, como lo son el tomillo, la menta, el orégano, la albaca, entre otras (Ceja, H. S. 2017).

También conocida comúnmente como hierba de Santo Domingo, “Quiensabe”, “tabaquillo”; es una planta utilizada principalmente para aliviar el dolor estomacal, trastornos digestivos y/o diarreas; a la cual se le atribuyen efectos analgésicos. Es una planta endémica de los estados del centro de México, como Hidalgo, Michoacán y Morelos. La recolecta de la planta es en la temporada de lluvias, es decir de Junio a Agosto (Herrera-Arroyo, M. *et al*, 2021).

Otros usos registrados son para tratar la presión arterial baja, cólicos, tos, nerviosismo y hasta como un afrodisiaco. Las personas lo consumen en preparaciones de té (Herrera-Arroyo, M. *et al*, 2020).

2.2 Ansiedad y depresión

La depresión es un trastorno de salud mental, que se caracteriza por la pérdida del interés de las actividades, así como de pensamientos y actos negativos; afectando la funcionalidad de los individuos; mientras que la ansiedad es un estado de intranquilidad excesiva, ante situaciones ambiguas o amenazadoras que son persistentes y que generan emociones negativas como el miedo. La depresión y la ansiedad pueden ser originadas por problemas laborales, sociales y/o académicos que dan como consecuencia la afectación de la calidad de vida (Martínez-García, J. A., *et al.*, 2022).

Como lo ha descrito la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades mentales han aumentado a nivel mundial, siendo estas la principal causa de discapacidad y muerte prematura, la mayoría de las veces por enfermedades físicas prevenibles. Solamente la ansiedad y depresión aumentaron un 25% en el primer año de la pandemia (OMS, 2022).

El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) presentó los resultados de la Primera Encuesta Nacional de Bienestar Autor reportado (ENBIARE) realizadas en todo el territorio nacional, con el fin de dar a conocer que dentro de la población adulta el 15.4% sufre síntomas de depresión y un porcentaje mayor del 19.5% se adjudica solo a las mujeres; en cuanto a la ansiedad se dio a conocer que el 19.3% de los mexicanos sufre de síntomas severos de ansiedad y un 31.3% con síntomas mínimos o en algún grado (INEGI, 2021).

2.3 Modelos animales

Los modelos animales para evaluar la ansiedad y depresión, particularmente se basan en la exposición a una condición amenazante y/o estresante, con la finalidad de poder medir su respuesta fisiológica y de comportamiento. En muchos casos estos modelos se han desarrollado con la finalidad de identificar fármacos con efecto ansiolítico o antidepresivo (Acikgoz, B., *et al.*, 2022).

2.3.1 Nado forzado

Es uno de los modelos animales más utilizados para medir la actividad antidepresiva. Está basado en el principio de la “desesperanza aprendida”, en donde se establece que todo organismo vivo que es expuesto a situaciones de estrés que no puede controlar ni escapar, desarrolla ansiedad y mientras más prolongado se mantenga el estado de estrés se convierte en depresión (Hao, Y., *et al.*, 2019). Se realiza un entrenamiento o aprendizaje un día antes, en el cual se pone a nadar por un periodo de tiempo de 15 min en el cilindro. Esta prueba tiene una duración de 5 min y se registra el tiempo de nado del animal desde que se coloca en el agua, hasta que se queda inmóvil (tiempo de latencia), así como el tiempo de inmovilidad. Se le llama inmovilidad cuando el animal apenas y realiza los mínimos movimientos necesarios para mantener la cabeza fuera del agua (Daniel, D. G., *et al.*, 2020). Al obtener un aumento en la actividad de nado, disminuyendo así la inmovilidad en la prueba, se puede apreciar un efecto de tipo antidepresivo (Hao, Y., *et al.*, 2019).

2.3.2 Suspensión de cola

Esta prueba está basada en la desesperación conductual de los roedores, la cual se induce a través de estrés a corto plazo mediante la inmovilización del animal al estar suspendido de la cola. El ratón al estar suspendido por primera vez realizara movimientos vigorosos y al cabo de unos minutos permanece inmóvil. De la misma forma que la prueba de nado forzado, la inmovilidad se reduce cuando se tiene un efecto de tipo antidepresivo (Hao, Y., *et al.*, 2019). El ratón se suspende desde la punta de la cola, utilizando cinta adhesiva, (Shao, S., *et al.*, 2020).

2.3.3 Tablero perforado

Esta es una prueba utilizada para evaluar el efecto de tipo ansiolítico, ansiogénico y sedante de fármacos o principios activos midiendo la actividad exploratoria de los roedores, consiste en una caja con un tablero, ya sea cuadrado o rectangular con agujeros distribuidos uniformemente que lo perforan, los animales impulsados por la curiosidad exploran los agujeros, pero al mismo tiempo temen al entorno desconocido (Lalonde, R., & Strazielle, C., 2022). El animal se coloca en el

centro del tablero y se examina por un periodo de tiempo de 5 a 10 min; la conducta de asomar la cabeza por los agujeros es fundamental para medir la actividad exploratoria y la ansiedad. El número de asomadas en los agujeros y su tiempo se puede prolongar debido al efecto de los ansiolíticos (Acikgoz, B., *et al.*, 2022).

2.3.4 Laberinto elevado en cruz

Esta prueba está validada y es ampliamente utilizada para medir los niveles de ansiedad en roedores, la cual se basa en los estímulos de exploración ante un ambiente novedoso, así como el miedo por los espacios altos y al descubierto (Brolese, G., *et al.*, 2017). Se utiliza un aparato en forma de cruz, el cual tiene 2 brazos abiertos, 2 brazos cerrados y un área central; el cual se encuentra elevado del suelo. El ratón es colocado al centro del laberinto y se le permite explorar las zonas por un tiempo de 5 min; se evalúa el tiempo de permanencia en cada brazo, así como el número de entradas a estos. Cuando existe un incremento en el tiempo de permanencia y exploración en brazos abiertos de los roedores; se puede decir que se tiene un efecto de tipo ansiolítico (Alonso-Castro Á. J. *et al.*, 2022).

3 Materiales y métodos

3.1 Preparación del extracto hidroetanólico

Se pesaron 160 g de las partes aéreas de *Hedeoma piperita* previamente secas, las cuales se colocaron en un frasco de vidrio de 2.5 L, al cual se le añadió un sistema hidroetanólico etanol: agua (70:30), se dejó macerar durante una semana. Pasado este tiempo se filtró la solución y se pasó por el rotavapor para eliminar la mayor cantidad de agua y disolvente del extracto, posteriormente se pasó a un frasco tarado el cual se dejó por 7 días al vacío, para descartar cualquier residuo de agua y/o disolvente que haya quedado.

Para conocer la cantidad recuperada, se pesó nueva nuevamente el contenedor y mediante una resta del valor tarado se obtuvo un total neto de 38.1 g de extracto de *Hedeoma piperita* obtenidos.

3.2 Animales de experimentación

Se utilizaron ratones Swiss Webster machos de 2-3 meses de edad, con un peso de 25-35 gr, procedentes del bioterio de la División de Investigación en Neurociencias del Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz", los cuales tenían libre acceso al alimento y agua durante todos los experimentos y se manejaron de acuerdo con la Norma oficial mexicana (NOM-062-ZOO-1999) y a los principios generales del cuidado de animales de laboratorio (NIH publicación # 85-

23, revisado en 1985). Los animales se alojaron en jaulas de carbonato (27 cm x 17 cm x 15 cm), ocho ratones por jaula, en una habitación con temperatura y humedad controladas (20–21 °C), bajo ciclo de luz luz-oscuridad invertida (12:12h).

3.3 Tratamiento

Para la preparación de las dosis se tomó 1 g del extracto hidroetanólico y se disolvió en 10 mL de solución salina al 0.9 %, con concentración de 1000 mg/kg; de aquí se partió para construir las dosis de 1, 10, 50, 100, 200, 400 y 800 mg/kg. Como ansiolítico de referencia se utilizó Diazepam (DZ, control positivo), a dosis de 0.25, 0.5, 1, 2 y 3 mg/kg, administrado por vía intraperitoneal (IP), y como antidepresivo de referencia se utilizó Desipramina (DES), a dosis de 25 mg/kg, por vía IP. Se administró por vía oral solución salina al 0.9 % a los grupos de control negativo. El tiempo de latencia para el control, el extracto, DZ y DES fue de 30 min, después de la primera administración se inició la prueba correspondiente.

3.4 Actividad de tipo ansiolítica

3.4.1 Prueba Tablero perforado

El aparato está conformado por una plataforma con 4 agujeros equidistantes, con un diámetro de 3 cm, 70 cm de largo por 40 cm de ancho y con paredes de 10 cm de alto, la plataforma se encuentra cuadrículada con un rotulador, con un total de 10 cuadros sobre la superficie (5x2).

El número y la duración de las inmersiones espontáneas de la cabeza en cualquiera de los agujeros, así como el número de paradas (cuando un ratón se levanta sobre sus patas traseras) y el número de cruces (cuando un ratón pasa por los cuadros rotulados de la plataforma perforada), se midieron durante un período de 5 minutos. El tiempo acumulado de las asomadas (tiempo total que permaneció con la cabeza sumergida dentro de los agujeros) se midió en segundos. Los altos niveles de ansiedad dan como resultado una disminución de las sumergidas de cabeza y la elevación.

3.4.2 Laberinto elevado en cruz

El aparato está conformado de dos brazos abiertos opuestos uno del otro (30x8 cm), por dos brazos cerrados de las mismas dimensiones, los vales cuentan con paredes de 19 cm de alto. Los brazos estaban conectados a un cuadrado central (8x8 cm). El aparato se elevó 55 cm por encima del piso, en una habitación débilmente iluminada.

Al inicio de la prueba, el ratón se coloca en el centro del laberinto en cruz, frente a un brazo abierto; la prueba tiene una duración total de 5 minutos, en la cual se midió el tiempo de permanencia en cada brazo. El espacio convencional las mediciones temporales comprendían el número de entradas (todas las patas en brazos abiertos o cerrados y expresado como porcentaje del total de entradas), el tiempo pasado en Brazos abiertos (TBA) se expresó como porcentaje del Tiempo pasado en brazos abiertos (TBA), $\% TBA = TBA/TBC \times 100$ (Tiempo pasado en Brazos cerrados; TBC), $\% Entradas a brazos abiertos (\% EBA), EBA = Entradas de Brazo Abierto / [Entradas de Brazo Cerrado + Entradas de Brazo Abierto] \times 100$ y tiempo en la Plataforma Central (TC) = $[TBA + TBC] - 300$; (300 s = tiempo de prueba, de forma que $TBA + TBC + TC = 300$ s). El porcentaje de tiempo y el número de entradas en los brazos abiertos se consideran índices del comportamiento del nivel de ansiedad.

3.5 Actividad de tipo antidepresiva

3.5.1 Suspensión de cola

El aparato este conformado por un palo de madera que esta elevado una distancia 40 cm, con la ayuda de 2 soportes metálicos. Los ratones son colocados cuidadosamente en el palo de madera con ayuda de cinta adhesiva, tomando un 1 cm desde la punta de la cola. La prueba dura un total de 5 min por ratón. El tiempo de inmovilidad se mide en segundos. El comportamiento de inmovilidad se registró cuando el ratón se quedó suspendido en el aire sin realizar ningún movimiento de lucha/huida. Después de la prueba todos los ratones se regresaron a sus jaulas de origen. Todas las sesiones experimentales fueron grabadas en video y luego calificadas por un observador.

3.5.2 Nado Forzado

Los ratones se colocaron individualmente en cilindros de vidrio (altura: 21 cm, diámetro; 14,5 cm), los cuales contenían 15 cm de agua a 23 ± 1 °C. Todos los animales pasaron el pre-test al nadar durante un período de 15 min, 24 h después se pasó a realizar la prueba con una duración de 3 min de nado forzado. El tiempo total de inmovilidad se midió en segundos. El comportamiento de inmovilidad se registró cuando el ratón permaneció flotando en el agua, con los movimientos mínimos necesarios para mantener su nariz fuera del agua. Después de las sesiones de natación, los ratones se retiraron del cilindro y se secaron cuidadosamente, se colocaron en jaulas calentadas durante 20 minutos y luego se regresaron a sus jaulas de origen. Todas las sesiones experimentales fueron grabadas en video y luego calificadas por un observador.

4 Resultados

Los datos de conducta se presentaron como la media \pm el error estándar de la media (SEM). Se consideró un cambio significativo con una $p \leq 0.05$. Los análisis se realizaron con el programa SigmaPlot 12.5.

4.1 Laberinto elevado en cruz

La administración oral del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) a grupos independientes de ratones a dosis de 0.5, 1, 10, 50, 100 y 200 mg/kg como se muestra en la tabla 1 y 2, TbHA incremento significativamente el tiempo de exploración en los brazos abiertos, a las dosis de 1 y 10 mg/kg, en comparación con el grupo control ($H = 39.4$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$), mientras que el tiempo de exploración en brazos cerrados disminuyó significativamente a las dosis de 0.5, 1, 10 y 100 mg/kg, en comparación con el control ($H = 40.9$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$) y el tiempo de permanencia en el centro del laberinto aumento en la dosis de 200 mg/kg y disminuyo en la dosis de 100 mg/kg, en comparación con el control, ($H = 20.2$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$), Figura 1.

El número de entradas a brazos abiertos aumento significativamente a las dosis de 1, 10 y 100 mg/kg, en comparación con el control ($H = 28.8$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$); así como el número de entradas a brazos cerrados disminuyo significativamente a dosis de 1 y 10 mg/kg en comparación con el control ($H = 28.9$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$), Figura 2.

Tabla 1. Efecto de tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico de *H. piperita* en el laberinto elevado en cruz

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	% Tiempo (s)		
		TBA	TBC	TC
TbHA	CTL	35.1 \pm 22.6	77.3 \pm 64.8	32.6 \pm 15.0
	0.5	45.0 \pm 27.5	68.0 \pm 54.9**	40.1 \pm 15.3
	1	67.6 \pm 46.0***	53.9 \pm 32.3***	26.2 \pm 15.5
	10	58.3 \pm 41.6***	58.3 \pm 41.6***	37.9 \pm 14.3
	100	43.0 \pm 31.6	68.3 \pm 59.7**	25.8 \pm 11.6*
	200	34.7 \pm 21.6	78.3 \pm 65.2	35.6 \pm 26.3**

Efecto de tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico *H. piperita* (TbHA) en el laberinto elevado en cruz. Porcentaje de tiempo en brazos abierto (TBA), porcentaje de tiempo en brazos cerrados (TBC) y porcentaje de tiempo en el centro (TC). Se administró solución salina al 0.9 % como control (CTL). Los resultados se expresan como media \pm SEM ($n = 8-10$). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ y *** $p \leq 0.001$, significativamente diferente del control.

Tabla 2. Efecto de tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico de *H. piperita* en el número de entradas a brazos abiertos y brazos cerrados en el laberinto elevado en cruz

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	% Núm. de entradas	
		EBA	EBC
TbHA	CTL	39.1 ± 31.8	68.2 ± 60.8
	0.5	31.2 ± 36.1	68.7 ± 55.1
	1	68.1 ± 40.0***	60.0 ± 31.8***
	10	60.7 ± 36.8**	63.1 ± 39.2**
	100	55.0 ± 35.0**	65.0 ± 45.0
	200	41.6 ± 27.2	72.7 ± 58.3

Efecto de tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico *H. piperita* (TbHA) en el laberinto elevado en cruz del porcentaje de entradas en brazos abiertos (EBA) y porcentaje de entradas en brazos cerrados (EBC). Se administró solución salina al 0.9 % como control (CTL). Los resultados se presentan como media ± SEM (n= 8-10). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ y *** $p \leq 0.001$, significativamente diferente del control.

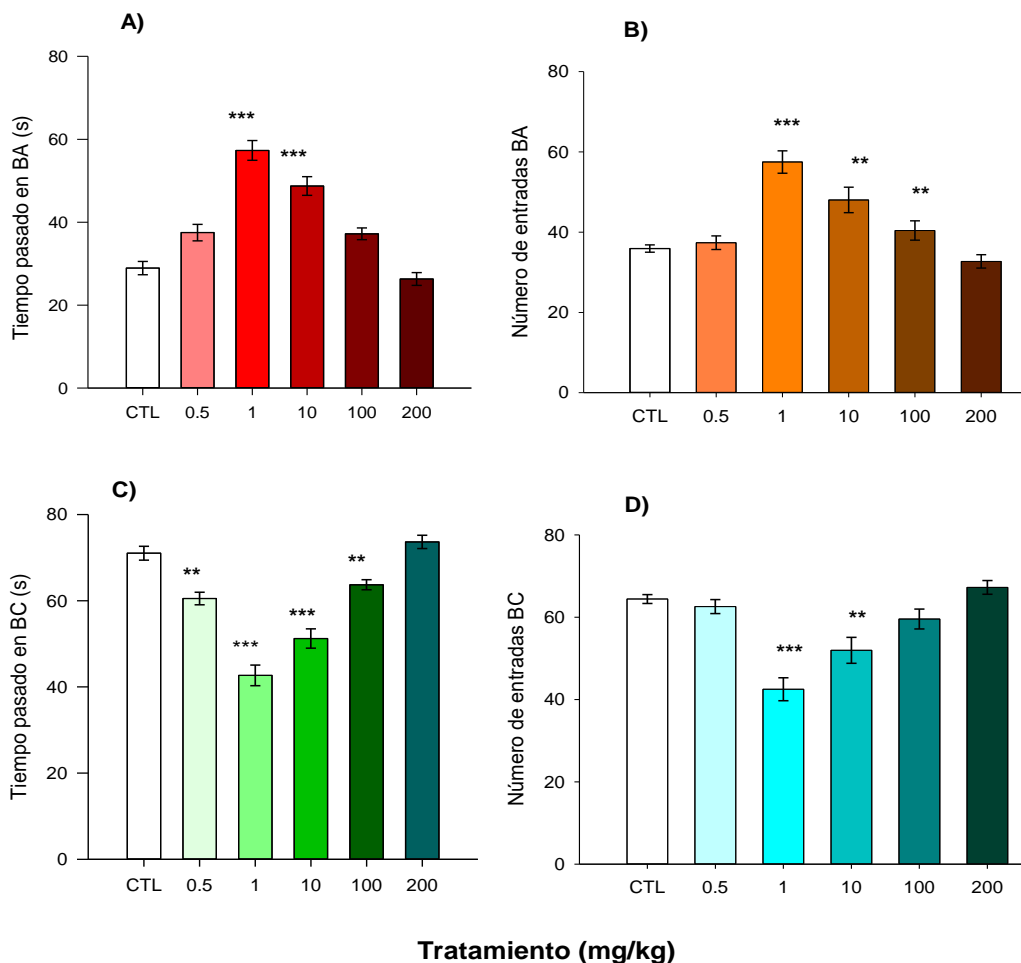


Figura 1. Efecto de tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) en las dosis de 0.5, 1, 10, 100 y 200 mg/kg, en la prueba de laberinto elevado en cruz. Se administró solución salina al 0.9 % como control (CTL). **(A)** Porcentaje de tiempo en brazos abiertos, **(B)** Porcentaje del número de entradas en brazos abiertos, **(C)** Porcentaje de tiempo de tiempo en brazos cerrados, **(D)** Porcentaje de número de entradas en brazos cerrados. Los resultados se presentan como media \pm SEM (n= 8-10). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ y *** $p \leq 0.001$, **significativamente diferente del control.**

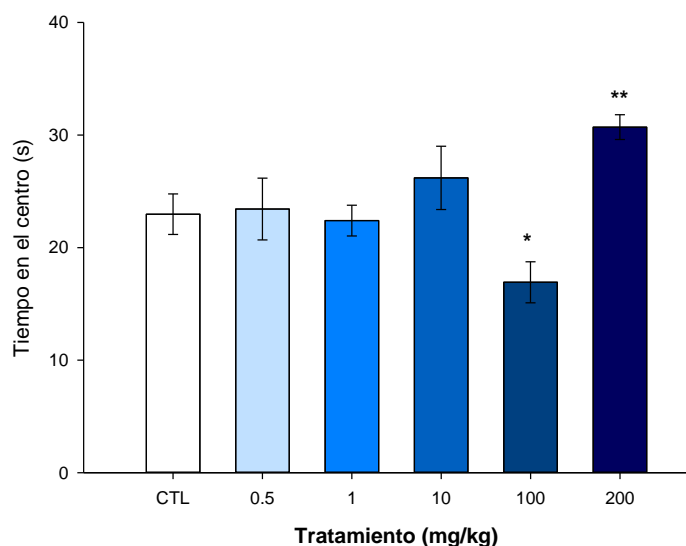


Figura 2. Efecto de tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) en las dosis de 0.5, 1, 10, 100 y 200 mg/kg, en la prueba de laberinto elevado en cruz; porcentaje de tiempo en el centro. Se administró solución salina al 0.9 % como control (CTL). Los resultados se presentan como media \pm SEM (n= 8-10). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ y *** $p \leq 0.001$, **significativamente diferente del control.**

4.2 Tablero perforado

Se administraron grupos independientes de ratones con el extracto TbHA a las dosis de 10, 50, 100, 200, 400, 800 y 1000 mg/kg, en el modelo de tablero perforado, (tabla 3).

Como se observa en las figuras 3 y 4, TbHA causó un aumento significativo en el número de paradas en el tablero perforado, en las dosis de 10, 50 y 100 mg/kg en comparación con el control ($H = 30.4$, $gl = 7$, $p \leq 0.001$). En el número de cruces, aumento significativamente a la dosis de 50 y 100 mg/kg en comparación con el control ($H = 31.0$, $gl = 7$, $p \leq 0.001$). TbHA causó un aumento significativo en el número de asomadas a las dosis de 10, 50, 100, 200, 400 y 800 en comparación con el control ($H = 36.3$, $gl = 7$, $p \leq 0.001$); y hubo un cambio estadísticamente significativo en el tiempo acumulado en dosis de 800 mg/kg en comparación con el control ($H = 17.1$, $gl = 7$, $p \leq 0.01$).

El DZ causó un incremento significativo en el número de paradas a las dosis de 0.5 y 1 mg/kg ($H = 15.3$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$), en comparación con el control; en el número de cruces aumento significativamente a las dosis de 0.25, 0.5, 1, 2, y 3 mg/kg en comparación con el control ($H = 30.9$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$), también se observó un aumento significativo en el número de asomadas a las dosis de 0.25, 0.5, 1 y 2 mg/kg con respecto al control ($H = 27.7$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$), así como significancia en el tiempo acumulado a las dosis de 0.5 y 1 mg/kg, contra el control ($H = 28.5$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$).

Tabla 3. Efecto tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico de *H. piperita* en la prueba de tablero perforado

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Paradas	Cruces	Asomadas	Tiempo acumulado (seg)
TbHA	CTL	22 ± 13	115 ± 84	20 ± 14	22.1 ± 13.1
	10	36 ± 19**	114 ± 79	24 ± 17**	23.2 ± 8.1
	50	34 ± 28***	137 ± 107***	25 ± 17**	28.9 ± 15.6
	100	42 ± 34***	131 ± 110*	34 ± 25***	29.4 ± 14.5
	200	29 ± 12	117 ± 81	34 ± 25***	26.5 ± 17.2
	400	27 ± 10	97 ± 76	35 ± 21***	30.6 ± 13.5
	800	23 ± 12	111 ± 76	31 ± 17**	33.3 ± 17.0**
	1000	26 ± 12	105 ± 83	19 ± 10	22.6 ± 12.8
DZ	CTL	44 ± 16	115 ± 84	16 ± 9	22.1 ± 13.1
	0.25	34 ± 15	133 ± 116 **	28 ± 18*	25 ± 14.5
	0.5	39 ± 23***	168 ± 115 ***	38 ± 25***	31.8 ± 25.9***
	1	27 ± 18 **	192 ± 141 ***	36 ± 21***	36.3 ± 21**
	2	34 ± 14	208 ± 153 ***	33 ± 19**	18.8 ± 10.8
	3	23 ± 12	194 ± 163 ***	17 ± 8	10.4 ± 4.1

Efecto de tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) en el tablero perforado. Se administró solución salina al 0.9 % como control (CTL) y diazepam (DZ). Los resultados se presentan como media ± SEM ($n = 8-10$). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ y *** $p \leq 0.001$, significativamente diferente del control.

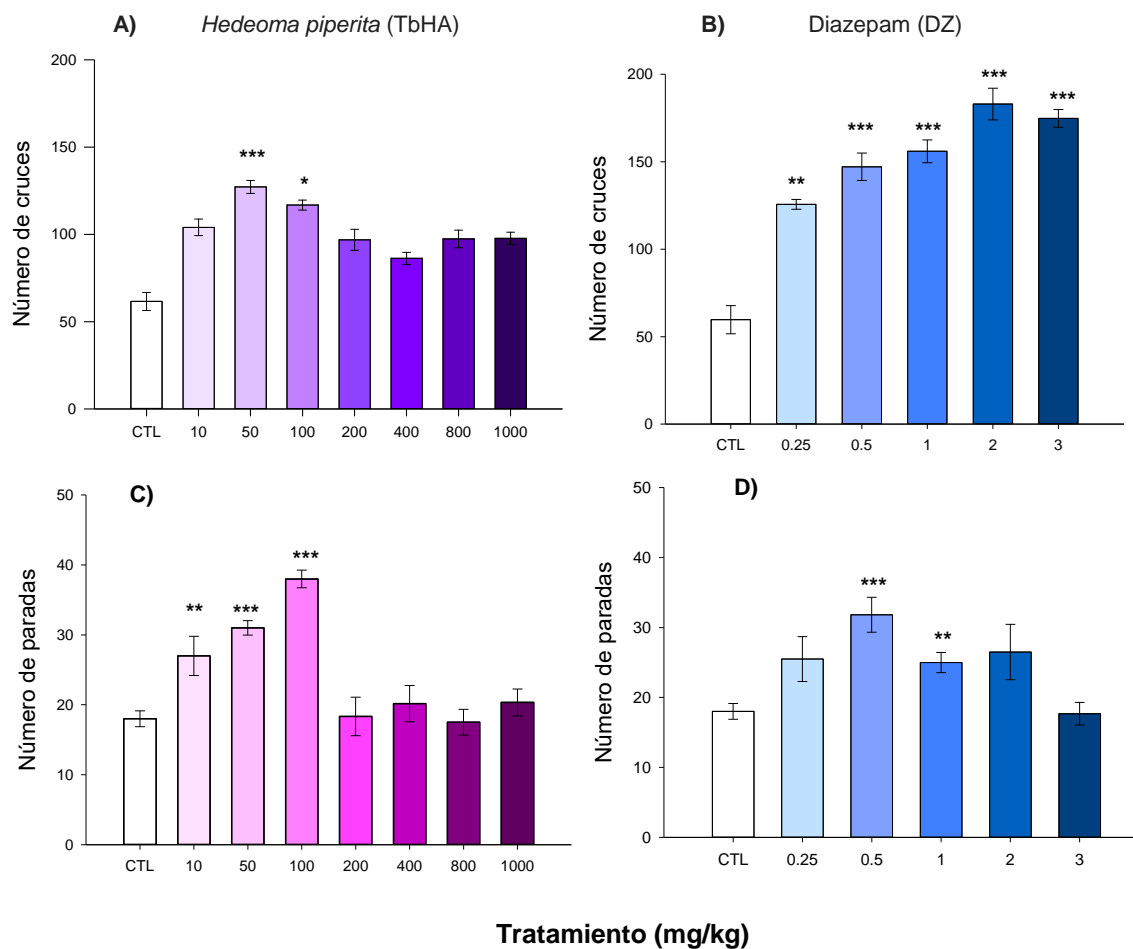


Figura 3. Efecto de tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) en las dosis de 10, 50, 100, 200, 400, 800 y 1000 mg/kg, en la prueba de tablero perforado; **(A)** número de cruces, **(C)** número de asomadas. Se administró solución salina al 0.9 % como control (CTL) y diazepam (DZ) a dosis de 0.25, 0.5, 1, 2 y 3 mg/kg; **(B)** número de cruces, **(D)** número de paradas. Los resultados se presentan como media \pm SEM (n= 8-10). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ y *** $p \leq 0.001$, significativamente diferente del control.

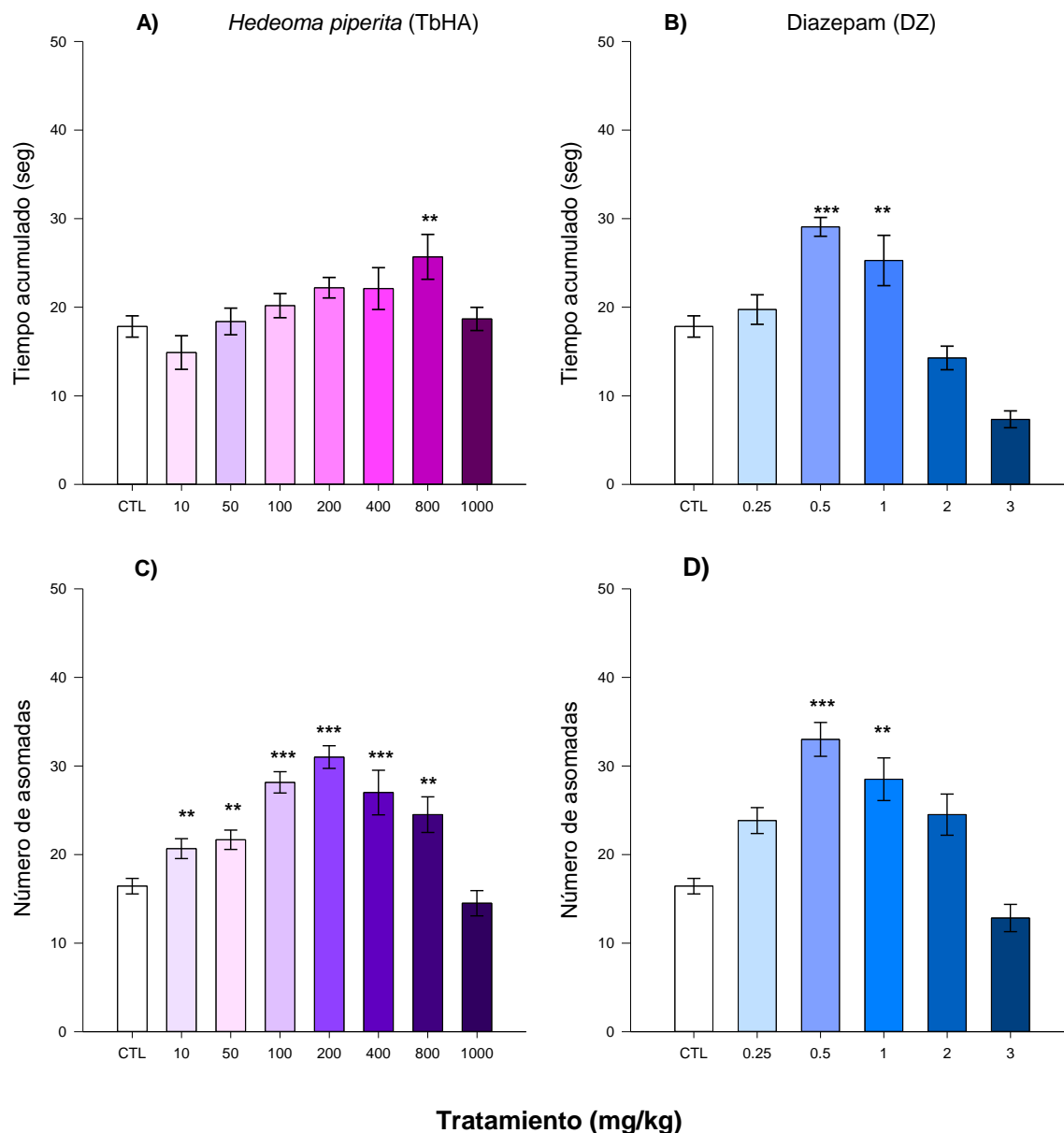


Figura 4. Efecto de tipo ansiolítico del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) en las dosis de 10, 50, 100, 200, 400, 800 y 1000 mg/kg, en la prueba de tablero perforado; **(A)** tiempo acumulado (seg), **(C)** número de asomadas. Se administró solución salina al 0.9 % como control (CTL) y diazepam (DZ) a dosis de 0.25, 0.5, 1, 2 y 3 mg/kg; **(B)** tiempo acumulado (seg), **(D)** número de asomadas. Los resultados se presentan como media \pm SEM ($n= 8-10$). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ y *** $p \leq 0.001$, significativamente diferente del control.

4.3 Suspensión de cola

Grupos independientes de ratones se administraron con el extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA), desipramina (DES) o solución salina (NaCl al 0.9 %) como control (CTL) en la prueba de suspensión de cola como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Efecto de tipo antidepresivo del extracto hidroetanólico de *H. piperita* en suspensión de cola

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Tiempo de inmovilidad (seg)
TbHA	CTL	118.6 ± 80
	10	62.4 ± 23.2***
	50	66.8 ± 46.5***
	100	78.9 ± 53.3***
	200	68.6 ± 51.3***
DES	25	43.2 ± 23.1

Efecto de tipo antidepresivo del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) en suspensión de cola. Se administró solución salina al 0.9 % como control (CTL) y desipramina (DES). Los resultados se presentan como media ± SEM (n= 8-10). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. *p≤0.05, **p ≤0.01 y ***p ≤0.001, significativamente diferente del control.

El extracto de TbHA causó una disminución en el tiempo de inmovilidad a las dosis de 10, 50, 100 y 200 mg/kg en comparación con el control (H = 38.5, gl= 5, p≤ 0.001), pero no se observó diferencias entre las diferentes dosis de TbHA. La DES causó una disminución significativa en el tiempo de inmovilidad a la dosis de 25 mg/kg, en comparación con el control (H = 38.5, gl= 5, p≤ 0.001), figura 5.

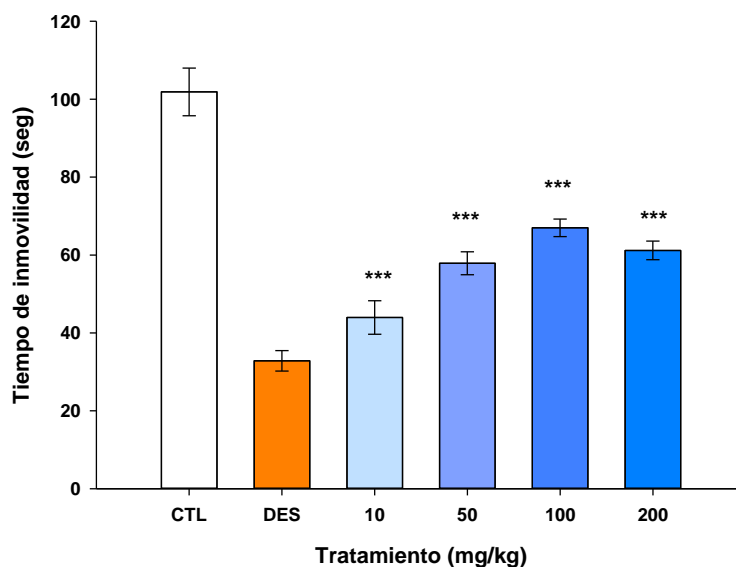


Figura 5. Efecto de tipo antidepresivo del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) en las dosis de 10, 50, 100 y 200 mg/kg, desipramina (DES) a dosis de 25 mg/kg y solución salina al 0.9 % como control (CTL); en la prueba de suspensión de cola. Los resultados se presentan como media ± SEM (n= 8-10). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. *p≤0.05, **p ≤0.01 y *p ≤0.001, significativamente diferente del control.**

4.4 Nado forzado

Se administraron grupos independientes de ratones con TbHA a las dosis de 10, 50, 100 y 200 mg/kg y se sometieron a la prueba de nado forzado como se muestra en la tabla 5, las dosis de 10, 50 y 100 mg/kg disminuyeron el tiempo de inmovilidad significativamente en comparación con el control ($H = 38.4$, $gl = 5$, $p \leq 0.001$).

Tabla 5. Efecto de tipo antidepressivo del extracto hidroetanólico de *H. piperita* en la prueba de nado forzado

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Tiempo de inmovilidad (seg)
TbHA	CTL	83 ± 50.2
	10	9.5 ± 2.7
	50	48.6 ± 18
	100	64 ± 33.5
	200	108 ± 45
DES	25	14.3 ± 3.9

Efecto de tipo antidepressivo del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) en nado forzado. Se administró solución salina al 0.9 % como control (CTL) y desipramina (DES). Los resultados se presentan como media ± SEM ($n = 8-10$). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ y *** $p \leq 0.001$, significativamente diferente del control.

La DES a 25 mg/kg causó una disminución significativa en el tiempo de inmovilidad en comparación con al grupo control, como se muestra en la figura 6.

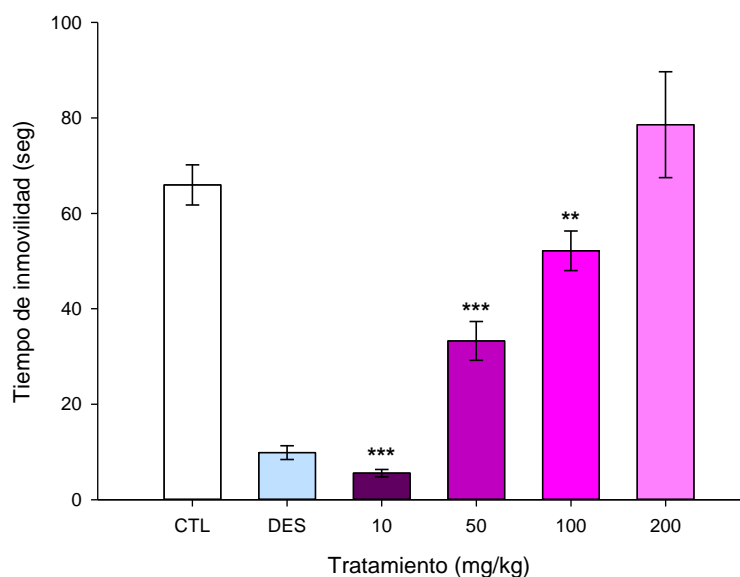


Figura 6. Efecto de tipo antidepressivo del extracto hidroetanólico de *H. piperita* (TbHA) en las dosis de 10, 50, 100 y 200 mg/kg, desipramina (DES) a dosis de 25 mg/kg y solución salina al 0.9 % como control (CTL); en la prueba de nado forzado. Los resultados se presentan como media ± SEM ($n = 8-10$). Las comparaciones se realizaron utilizando el análisis no paramétrico de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba U de Mann-Whitney. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ y * $p \leq 0.001$, significativamente diferente del control.**

Discusión

En los diferentes tratamientos farmacológicos para tratar trastornos de ansiedad y depresión, es necesaria la implementación de nuevas terapias medicamentosas que sustituyan o complementen las terapias convencionales, con la finalidad de reducir sus efectos secundarios y ser más accesibles para los pacientes.

Los productos a base de plantas medicinales con potenciales efectos ansiolíticos y/o antidepresivos, se consideran opciones útiles como agentes terapéuticos para estos trastornos.

Este estudio tuvo como objetivo estudiar los efectos de tipo ansiolítico utilizando la prueba de laberinto elevado en cruz y tablero perforado, así como la prueba de suspensión de cola y nado forzado para los posibles efectos de tipo antidepresivos; *H. piperita* es una planta conocida y utilizada por sus diversas propiedades terapéuticas en diferentes partes de México. Se demostró a partir de modelos de conducta animal a diferentes dosis de un extracto de *H. piperita* produjo efectos de tipo ansiolítico y antidepresivo.

En la prueba de laberinto elevado en cruz el extracto TbHA, aumento significativamente el tiempo de exploración y el número de entradas en los brazos abiertos en comparación con el control, a su vez disminuyo significativamente el tiempo de exploración y el número de entradas a los brazos cerrados en comparación con el control. En la prueba del tablero perforado, el extracto aumento significativamente el número de paradas, cruces y asomadas en comparación con el control. Para la prueba de suspensión de cola, se obtuvo significancia en todas las diferentes dosis administradas de TbHA en comparación con el control; pero no se encontró diferencia entre estas. En nado forzado se observó una disminución significativa en el tiempo de inmovilidad a dosis de 10 y 50 mg/kg, en comparación con el grupo control.

5 Conclusión

EL extracto hidroetanólico de *H. piperita* produjo efectos de tipo ansiolítico y antidepresivo en ratones. Sin embargo, es necesario realizar más experimentos dirigidos a caracterizar los efectos farmacológicos de esta especie utilizada en la medicina tradicional. El presente estudio apoya el uso tradicional de *H. piperita* como un agente tranquilizante

6 Bibliografía

Acikgoz, B., Dalkiran, B., & Dayi, A. (2022). An overview of the currency and usefulness of behavioral tests used from past to present to assess anxiety, social behavior and depression in rats and mice. *Behavioural Processes*, 200. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2022.104670>

Alonso-Castro, Á. J., Gasca-Martínez, D. & Alba-Betancourt, C. (2022). Plantas medicinales con efectos en modelos de ansiedad y depresión en ratones. 99-104

Brolese, G., Lunardi, P., Lopes, F., & Gonçalves, C.-A. (2017). Exposición prenatal al alcohol y cambios neurogliales en neuroquímica y comportamiento en modelos animales. *Sustancias adictivas y enfermedades neurológicas*, 11–22. doi:10.1016/b978-0-12-805373-7.00002-5

Ceja, H. S. 2017. Aspectos ecológicos y germinación in vitro de *Hedeoma piperita Benth.* para su aprovechamiento sustentable en Cherán, Michoacán, México. Tesis de licenciatura, Universidad Intercultural Indígena de Michoacán. Tingambato, México. 66 pp

Daniel, D. G., Daniel, N. G., Daniel, D. T., Flynn, L. C., & Allen, M. H. (2020). The Effect of Propofol on a Forced Swim Test in Mice at 24 Hours. *Current Therapeutic Research*, 92. <https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2020.100590>

Hao, Y., Ge, H., Sun, M., & Gao, Y. (2019). Selecting an Appropriate Animal Model of Depression. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4827. <https://doi.org/10.3390/ijms20194827>

Herrera-Arroyo, M. L., Rico, Y., & Bedolla-García, B. Y. (2020). Morphotype divergence and genetic diversity of *Hedeoma piperita Benth.* in western Mexico. *Molecular Biology Reports*, 47(11), 8925–8934. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05946-x>

Herrera, M. L., Rico, Y., & Pascual-Cortes, M. (2021). The quiensabe, *Hedeoma piperita (Lamiaceae)*, a species with cultural importance in the Indigenous community of San Francisco Pichátaro, Michoacán, Mexico: bases for its conservation management. *Acta botánica mexicana*, 128, e1863. <https://doi.org/10.21829/abm128.2021.1863>

INEGI. (2021). RESULTADOS DE LA PRIMERA ENCUESTA NACIONAL DE BIENESTAR AUTORREPORTADO (ENBIARE). Recuperado el 20 de junio de 2022, de <https://www.inegi.org.mx/programas/enbiare/2021/default.html>.

Lalonde, R., & Strazielle, C. (2022). The Hole-Board Test in Mutant Mice. *Behavior Genetics*, 52(3), 158–169. <https://doi.org/10.1007/s10519-022-10102-1>

Martínez-García, J. A., Aguirre-Barbosa, M., Mancilla-Hernández, E., del Rocío-Hernández-Morales, M., & Guerrero-Cabrera, M. B. (2022). Prevalence of

depression, anxiety, and associated factors in residents from hospital centers during COVID-19 pandemic. *Revista Alergia de México*, 69(1), 1–6.
<https://doi.org/10.29262/ram.v69i1.903>

OMS. (2022). La OMS subraya la urgencia de transformar la salud mental y los cuidados conexos. *Who.int*. <https://www.who.int/es/news/item/17-06-2022-who-highlights-urgent-need-to-transform-mental-health-and-mental-health-care>

Shao, S., Cui, Y., Chen, Z.-B., Zhang, B., Huang, S.-M., & Liu, X.-W. (2020). Androgen deficit changes the response to antidepressant drugs in tail suspension test in mice. *The Aging Male: The Official Journal of the International Society for the Study of the Aging Male*, 23(5), 1259–1265.
<https://doi.org/10.1080/13685538.2020.1762074>



Dr. Luis Alfonso Moreno Rocha

Profesor Asociado “D” T.C. No.
Eco. 35135. Laboratorio N-102
Farmacocinética y Farmacodinamia.



Dra. Rosa Estrada Reyes

Investigadora en Ciencias Médicas.
Ced. Prof. 4488867. Dirección de
investigación de neurociencias.
Laboratorio de Fitofarmacología.