

# Efecto depresor del extracto alcaloidal de *Annona macrophyllata* Donn. Sm. (Annonaceae)

José del Carmen Rejón-Orantes<sup>1\*</sup> Samantha Stefany Coutiño-Ochoa<sup>1</sup>,  
Nataly Jiménez-García<sup>1</sup>, Zally Patricia Mandujano Trujillo Zally<sup>1</sup>,  
María Teresa Dávila Esquivel<sup>1</sup>, Dolores G. Vidal-López<sup>2</sup>, Miguel Pérez de la Mora<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Experimental de Farmacobiología, Facultad de Medicina Humana, Universidad Autónoma de Chiapas.\* rejonjose@hotmail.com | <sup>2</sup>Laboratorio Experimental y Bioterio, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, | <sup>3</sup>Departamento de Biofísica, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México

## RESUMEN

En este estudio se señalan los efectos depresores del extracto alcaloidal total extraído de la raíz de la *Annona macrophyllata*. Dado que se ha demostrado en experimentos *in vivo*, que la administración de extractos de anonas causa efectos sobre el sistema nervioso central (SNC). Se consideró importante estudiar el efecto del extracto alcaloidal total de la *A. macrophyllata* en algunas conductas que exploran efectos depresores del SNC. Los resultados mostraron que la administración sistémica del extracto alcaloidal total a dosis de 100 y 200 mg/kg en ratones, produce sedación, un efecto cataleptogénico claro, pero de poca duración, medido en la prueba de la barra. De la misma manera, una disminución de la hiperactividad motora inducida por anfetamina. Finalmente se encontró una disminución de la actividad motora espontánea en la prueba de campo abierto. Los resultados anteriores sugieren que el extracto alcaloidal total de *A. macrophyllata* posee efectos depresores del SNC. Sin embargo, se requieren más estudios para establecer con precisión el perfil farmacológico y el sitio de acción de este extracto alcaloidal y el o los alcaloides responsables de los efectos.

**Palabras clave:** *Annona macrophyllata*, extracto alcaloidal total, sedación.

## ABSTRACT

In this study the depressant effects of total extract alkaloidal extracted from the root of the *Annona macrophyllata* is reported. Since it has been shown in experiments *in vivo* that the administration of anona extracts produced effect on the central nervous system (CNS). It was considered important to study the effects of total extract alkaloidal *A. macrophyllata* in some behaviors that explore CNS depressant effects. The results showed that systemic administration of total alkaloidal extract at doses of 100 and 200 mg / kg in mice, produce sedation, a clear cataleptogenic effect, but of short duration, measured in the bar test. Similarly, a decrease in motor amphetamine-induced hyperactivity. Finally a decrease in spontaneous motor activity in the open field test was found. The above results suggest that alkaloidal extract has total *A. macrophyllata* have depressant CNS effects. However, further studies are required to accurately establish the pharmacological profile and the site of action of this alkaloidal extract and/or alkaloids responsible for the effects.

**Keywords:** *Annona macrophyllata*, alkaloidal total extract, sedation.

## INTRODUCCIÓN

La papaya, (*Annona macrophyllata*) es un árbol nativo de México (Ruiz y Morett, 1997). Los frutos de esta planta se utilizan como alimento y las hojas tienen uso popular atribuyéndoles propiedades antiinflamatorias y analgésicas. Sin embargo, los estudios farmacológicos de esta planta son escasos.

Los extractos de anonas tienen un amplio uso en la medicina tradicional de muchos países alrededor del mundo. Se les atribuye una variedad de propiedades, entre ellas, efectos sobre el sistema nervioso central, donde se

reportan actividad anticonvulsivante (Okoye *et al.*, 2013), sedativa (Bourne & Egbe, 1979; Tortoriello & Romero, 1992), hipnótica (Gupta, 1995), ansiolítica (Hasrat *et al.*, 1997) y antidepresiva (Martínez-Vázquez *et al.*, 2012).

De los estudios de extractos obtenidos de anonas con efectos sobre el sistema nervioso central (SNC) se encuentran; los etanólicos de *A. diversifolia* y *A. muricata* y los hexánicos y alcaloidales totales de *A. Cherimolia* y *A. purpurea*, mostrando actividades sedantes, depresoras, antidepresivas anticonvulsivantes y ansiolíticas en modelos conductuales con roedores (Bourne & Egbe, 1979; Gouemo *et al.*, 1997; González-Trujano *et al.*, 1998;

López-Rubalcaba *et al.*, 2006; González-Trujano *et al.*, 2009; Rejón-Orantes *et al.*, 2011; Martínez-Vázquez *et al.*, 2012). Los resultados de estas investigaciones han sugerido que algunos metabolitos producidos por estas plantas pudieran ejercer efectos que implicarían los sistemas de receptores GABAérgicos, serotoninérgicos, así como acciones sobre el sistema adrenérgico y dopaminérgico (Hasrat *et al.*, 1997; Gouemo *et al.*, 1997; Morais *et al.*, 1998; González-Trujano *et al.*, 1998, 2001; López-Rubalcava *et al.*, 2006; Rejón-Orantes *et al.*, 2011).

Previamente González-Trujano *et al.* (1998) ha reportado efectos en el SNC del extracto etanólico de las hojas de la *Annona diversifolia*. En este trabajo, estudiamos las propiedades depresoras en el SNC del extracto alcaloidal total obtenido de la raíz de esta planta.

## METODOLOGÍA

### Materiales

La Raíz de *A. macrophyllata* fue recolectada en la finca rural Montaña Azul, municipio de Ocozocoautla, Chiapas, México. El espécimen se depositó con el No. 30260 en el herbario Eazi Matuda (HEM) de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

### Extracción del extracto alcaloidal total

La extracción de alcaloides totales se realizó de acuerdo al procedimiento reportado por González-Esquinca (2001). Para este propósito se secaron a temperatura ambiente y molieron finamente 100 g de raíces. El material obtenido se impregnó con una solución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , y se le permitió secar a temperatura ambiente. Los alcaloides fueron extraídos agitando este material por una hora con 100 mL de  $\text{CHCl}_3$ . El proceso de extracción fue repetido una vez más y al final ambas extracciones combinadas fueron filtradas y concentradas a un volumen de 50 mL. El extracto clorofórmico concentrado fue lavado con agua destilada (50 mL/3 veces) y extraído dos veces con 50 mL de HCl 1N en cada ocasión. La fase ácida resultante de ambas extracciones fue alcalinizada (pH 9.5) con una solución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y extraída nuevamente con 100 mL de  $\text{CHCl}_3$ .

Finalmente, el extracto clorofórmico obtenido en esta última extracción fue secado con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y concentrado a 10 mL por evaporación a 45°C. El extracto clorofórmico fue agitado con movimientos giratorios suaves dentro de un recipiente con agua y hielo, obteniéndose por precipitación cristales amarillos en forma de agujas. El rendimiento obtenido fue de 300 mg de alcaloides totales. Todos los pasos fueron monitoreados con el reactivo de Dragendorff.

## EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA

### Animales

Se utilizaron ratones machos BALB/c (25 a 30 g), hospedados en grupos de 6 en cajas de polisulfonato (44/21/21cm) y puestos en un medio ambiente controlado (temperatura 25°C, iluminación 06:00-18:00 h) con agua y alimento (2018 Laboratorios Harlan, Harlan México) disponible *at libitum*.

Los animales fueron donados por el Bioterio del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. El protocolo experimental se basó en las recomendaciones establecidas por la guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio del Instituto de Recursos Animales de Laboratorio, Consejo Nacional de Investigación, Washington, DC (Clark *et al.*, 1996).

### Fármacos

El extracto alcaloidal total (EAT) fue disuelto en aceite de sésamo (Holm *et al.*, 2014), el diazepam (Hoffmann-La Roche, México), el sulfato de anfetamina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) y el haloperidol (Haldol, JANSSEN-CILAG, S.A. DE C.V, México) fueron disueltos en una mezcla de polietilenglicol/ácido cítrico (4g/5mg) en 10 mL de agua estéril. Todos los compuestos utilizados en este estudio fueron inyectados por vía intraperitoneal (i.p.), con excepción del EAT y el grupo control con aceite de sésamo que fue administrado por vía subcutánea (s.c.), en un volumen total de 10 mL/kg.

### Evaluación conductual

Los experimentos conductuales fueron llevados a cabo en ausencia del experimentador en un cuarto aislado de ruido, iluminado con luz roja a 40 w (Vasconcelos *et al.*, 2004) y equipado con equipo de video filmación. La evaluación conductual fue conducida entre las 10:00–14:00 h.

### Prueba de campo abierto

La prueba se realizó en una caja de vidrio (con paredes y piso transparente de 48 x 48 x 30 cm) cuyo piso se dividió con líneas pintadas de color negro formando cuadros de 12 x 12 cm. La prueba tuvo una duración de 5 minutos durante los cuales se evaluaron la distancia total recorrida (número de líneas cruzadas marcadas en el piso, considerada como la actividad locomotriz horizontal) y los alzamientos (número de veces en que el ratón se extendió apoyando sus patas delanteras en las paredes de la caja, representando la actividad locomotriz vertical) (Vasconcelos *et al.*, 2004). El EAT se administró a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg y el diazepam usado como control positivo a 2 mg/kg.

**Prueba de la barra**

Para esta prueba, se administró EAT a 200 mg/kg y como control positivo haloperidol (0.05 mg/kg). Las patas delanteras de los ratones se colocaron suavemente en una barra horizontal de metal con diámetro de 2 milímetros y puesta a 4 centímetros sobre el nivel del suelo y se midió el lapso de tiempo que el ratón mantenía esta postura anormal. La prueba termina cuando la pata del animal toca el suelo. Si el animal no se aferra a la barra después de que tres intentos, recibieran la cuenta de 0 segundos, se regresa a su caja. La observación se efectuó a los 1, 2, 3 y 4 horas después de la administración del EAT y en grupos de 5 ratones (Sousa & Almeida, 2005).

**Prueba de hiperactividad inducida por anfetamina**

La prueba se efectuó con tres grupos de 6 ratones, cada grupo fue tratado con EAT a 200 mg/kg s.c., el control negativo (aceite de sésamo) a 0.1 ml /10 g s.c. y haloperidol a 5 mg/kg i.p., una hora después de administradas estas dosis los tres grupos recibieron sulfato de anfetamina a 3 mg/kg i.p. e inmediatamente fueron colocados en la caja de prueba de campo abierto, la prueba fue registrada en tres intervalos de 10 minutos, durante una hora (Morais *et al.*, 1998).

**Análisis estadístico**

Los resultados fueron evaluados usando la prueba de ANOVA de una vía, seguida de la prueba poshoc de Newman-Keuls para comparaciones múltiples y ANOVA de dos vías seguida de la prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples. Los resultados son expresados como la media ± SEM de 5-6 ratones por grupo. Un valor de alfa de P < 0.05 fue considerado estadísticamente significativo. Los parámetros estadísticos fueron procesados usando el software GraphPad Prism statistical.

**RESULTADOS**

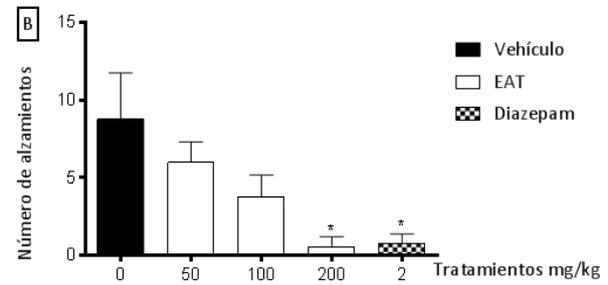
**Toxicidad**

Diferentes dosis del EAT (50, 100 y 200 mg/kg, s.c.) fueron administradas a ratones y su mortalidad registrada por 48 h (Morais *et al.*, 1998). No se registraron muertes en las 48 h subsecuentes a la administración de las distintas dosis de este extracto.

**Prueba de campo abierto**

Se observaron diferencias significativas tanto en el número de líneas cruzadas ( $F_{4,20} = 1.084, ****P < 0.0001$ ) como en el número de alzamientos ( $F_{4,20} = 3.912; ***P < 0.0001$ ) entre los ratones tratados con EAT (100 y 200 mg/kg; s.c.) y diazepam (2mg/kg; i.p.) cuando fueron

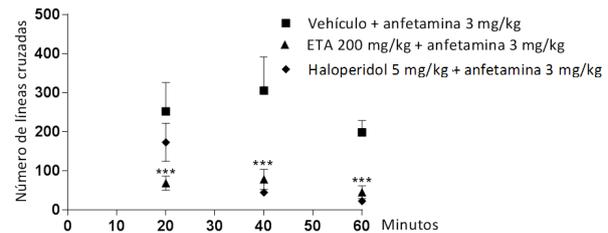
comparados con aquellos a los que solo se les administró el vehículo (figura 1).



**FIGURA 1**  
Efecto del extracto alcaloidal total de *A. macrophyllata* (EAT) sobre la actividad locomotriz horizontal (A) y vertical (B) en la prueba de campo abierto. Se representa la media ± EEM. El EAT y el diazepam usado como control positivo, disminuyeron el número de alzamientos (A) y el número de líneas cruzadas (B), representando inhibición de la actividad locomotriz espontánea. \*P < 0.05, \*\*\*P < 0.001. ANOVA de una vía seguida de la prueba de Newman-Keuls para comparaciones múltiples. N= 5 ratones por grupo.

**Prueba de la barra**

El EAT a 200 mg/ kg, s.c. prolongó el tiempo de permanencia de las patas anteriores del ratón sobre la barra de esta prueba en comparación al grupo del vehículo ( $F_{2,9} = 1.849; *P < 0.05$ ) (figura 2). El haloperidol a 0.05 mg/kg, i.p. careció de efecto cataleptogénico.



**FIGURA 2**  
Efecto del extracto alcaloidal total de *A. macrophyllata* (EAT) sobre la duración de la catalepsia medida en la prueba de la barra. Se representa la media ± EEM. El EAT prolongo la duración de la catalepsia con respecto al grupo del vehículo. El haloperidol usado como control positivo no modifico esta conducta a la dosis empleada. \*\*P < 0.01, ANOVA de dos vías seguida de la prueba de Bonferroni. N= 5 ratones por grupo.

### Prueba de hiperactividad inducida por anfetamina

El EAT administrado a dosis de 200 mg/kg, s.c. al igual que el haloperidol (5 mg/kg, i.p.) inhibieron la hiperactividad inducida por anfetamina (3 mg/kg, i.p.) ( $F_{2,42} = 16.09; ***P < 0.0001$ ) (figura 3).

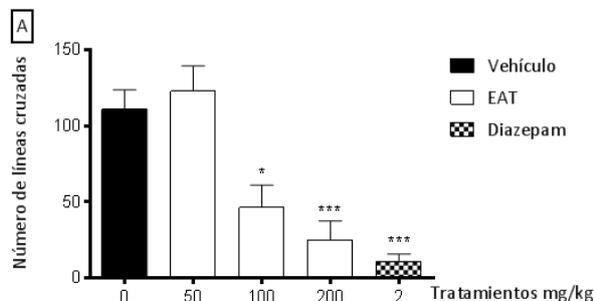


FIGURA 3

Efecto del extracto alcaloidal total de *A. macrophyllata* (EAT) sobre la actividad locomotriz en la prueba de la hiperactividad locomotriz inducida por anfetamina. Se representa la media  $\pm$  EEM. El EAT al igual que el haloperidol usado como control positivo, disminuyeron el número de líneas cruzadas en comparación al grupo del vehículo, representando inhibición de la hiperactividad inducida por anfetamina. \*\*\* $P < 0.001$ , ANOVA de dos vías seguida de la prueba de Bonferroni.  $N = 6$  ratones por grupo.

## CONCLUSIONES

En nuestra primera aproximación en el estudio del extracto alcaloidal total extraído de la raíz de la *A. macrophyllata* (EAT), los resultados mostraron una disminución de la actividad motora indicando efecto depresor sobre el SNC (Morais *et al.*, 1998). Además, se observó ptosis palpebral, y una acentuada sedación que facilitaba la manipulación de los animales. Coincidente con el efecto depresor en SNC reportado por González-Trujano *et al.* (1998) con el extracto etanólico de las hojas de esta planta.

Aproximadamente 99 alcaloides aislados de la familia Annonaceae han demostrado actividades biológicas (Conserva *et al.*, 2005). Los alcaloides más frecuentemente aislados corresponden a los bencilisoquinolínicos (BIQ) (Leboeuf *et al.*, 1982), en los cuales se ha reportado actividad en el SNC; la anonaina, la liriodenina, (Jin *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2008; Rejón-Orantes *et al.*, 2011), la glaucina y la reticulina (Zetler, 1998; Morais *et al.*, 1998), entre otros.

De los alcaloides presentes en el extracto alcaloidal total de *A. macrophyllata*, la liriodenina es el de

mayor presencia (González-Esquinca *et al.*, 2005). Está documentado que la liriodenina y la anonaina, tiene una afinidad variable por los receptores dopaminérgicos  $D_1$  y  $D_2$  (Protais *et al.*, 1995), lo que posibilita un efecto de antagonismo dopaminérgico en este sistema, no obstante, la actividad antidopaminérgica podría darse por mecanismos indirectos, ya que también la liriodenina y la anonaina inhiben *in vitro* la actividad de las enzimas hidroxilasa de tirosina (TH), descarboxilasa de ácidos aromáticos (DAA) y también disminuye la liberación de dopamina (Jin *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2008).

La TH cataliza la conversión de L-tirosina a DOPA, que es el primer paso y limitante en la síntesis de las catecolaminas (Fujisawa *et al.*, 2005); por lo consiguiente, la regulación de la actividad de esta enzima es muy importante. Estos resultados, convergen con nuestras observaciones obtenidas en la prueba de campo abierto, donde los efectos motores se presentaron tras los primeros minutos de la administración sistémica del EAT.

En virtud que alcaloides BIQ interfieren con el sistema dopaminérgico, en este trabajo estudiamos los efectos conductuales del EAT en relación a la inhibición de la síntesis de dopamina, por lo que efectuamos las pruebas de la barra (catalepsia) y la de hiperactividad inducida por anfetamina (Morais *et al.*, 1998). Se ha demostrado que la catalepsia está principalmente mediada por receptores dopaminérgicos postsinápticos localizados en el estriado (Sanberg, 1980) y la anfetamina (b-fenilisopropilamina) es una de las aminas simpaticomiméticas de acción indirecta más potente para estimular el SNC (Fleckenstein *et al.*, 2007).

La catalepsia, es una conducta de inmovilidad que está asociada con grados de rigidez muscular (Klemm, 1985). Este estado es inducido en ratones que reciben antagonistas dopaminérgicos  $D_1$  y  $D_2$  (Sanberg, 1980), como fármacos neurolépticos, entre ellos el haloperidol, el cual es conocido por inducir parkinsonismo en la práctica clínica. Se estudió si la administración sistémica del EAT generaba el fenómeno de catalepsia. La generación de este fenómeno se cuantificó por el tiempo que el ratón permaneció inmóvil cuando fue colocado con sus patas delanteras apoyadas en una barra de 2mm a 4 cm de altura. Los resultados de catalepsia de poca duración en la prueba de la barra con dosis de 200 mg/kg, sugirieron que el EAT se comportó como antagonista dopaminérgico.

La conducta de hiperactividad inducida por la anfetamina (AMPH) es consecuencia de la liberación de dopamina desde las terminaciones nerviosas dopaminérgicas del estriado en el sistema mesolímbico. Esta respuesta de la AMPH puede ser enmascarada por antagonistas

dopaminérgicos como el haloperidol (Morais *et al.*, 1998). Nosotros la evaluamos por el número de líneas cruzadas en el piso de la caja de campo abierto. Se observó una inhibición significativa de esta conducta tanto con EAT a 200 mg/kg como con haloperidol 5 mg/kg en comparación al grupo que recibió el vehículo.

Estos resultados sugieren que la inhibición de la síntesis y liberación de dopamina *in vitro* provocada por la presencia de alcaloides BIQ como la lirioidenina en el EAT podría causar la interferencia con la neurotransmisión dopaminérgica central cuando se administró por vía sistémica en ratones, confiriéndole al EAT potenciales propiedades neurolépticas. La lirioidenina es el alcaloide más abundante en este extracto (González-Esquinca *et al.*, 2005), y están reportados efectos conductuales (Rejón-

Orantes *et al.*, 2011) que podrían explicar parcialmente lo observado con el EAT de la raíz de la *A. macrophyllata*, sin embargo se requieren más estudios para establecer con precisión el perfil farmacológico y el sitio de acción de este extracto alcaloidal y el o los alcaloides responsables de los efectos.

## AGRADECIMIENTO

Estamos en deuda con el Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México y en particular con Minerva Crespo Ramírez de la División de Neurociencias por su asistencia técnica, así como a Ana María Escalante Gonzalbo y Francisco Pérez-Eugenio de la Unidad de Informática por su apoyo durante este trabajo.

## LITERATURA CITADA

- BOURNE R.K. & P.C. EGBE, 1979.** A Preliminary Study of the Sedative Effects of *Annona muricata* (soursop). *West Indian Med. J.* 28: 106–110.
- CONSERVA, L.M., B.P. CYNARA DE ARAÚJO & J.M. BARBOSA-FILHO, 2005.** Alkaloids of the Hernandiaceae: Occurrence and a Compilation of their Biological Activities. *The Alkaloids: Chemistry and Biology* 62: 175-243.
- FLECKENSTEIN, A.E., T.J. VOLZ, E.L. RIDDLE, J.W. GIBB & G.R. HANSON, 2007.** New Insights Into the Mechanism of Action of Amphetamines. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 47: 681-698.
- FUJISAWA, H. & S. OKUNO, 2005.** Regulatory Mechanism of Tyrosine Hydroxylase Activity. *Biochemical and biophysical research communications* 338 (1): 271-276.
- GOUEMO, P., B. KOUDOGBO, H.P. TCHIVOUNDA, C. AKONO-NGUEMA & M.M. ETOUA, 1997.** Effects of Ethanol Extract of *Annona muricata* on Pentylentetrazol-Induced Convulsive Seizures in Mice. *Phytother Res* 11 (3): 243-245.
- GONZÁLEZ-ESQUINCA, A.R., L.M. LUNA-CAZÁRES & CH.I. DE LA CRUZ, 2005.** The Alkaloid Lirioidenine During Germination of *Annona diversifolia* Saff. XVII. International Botanical Congress, International Association of Botanical and Mycological Societies, July 17 to 23, 2005, Vienna, Austria.
- GONZÁLEZ-ESQUINCA, A.R., 2001.** Contribución al estudio del género *Annona* (Annonaceae) análisis fitoquímico de tres especies del estado de Chiapas. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México.
- GONZÁLEZ-TRUJANO, M.E., L. LÓPEZ-MERAZ, A. REYES-RAMÍREZ, M. AGUILLÓN & A. MARTÍNEZ, 2009.** Effect of Repeated Administration of *Annona diversifolia* Saff. (ílama) Extracts and Palmitone on Rat Amygdala Kindling. *Epilepsy & Behavior* 16 (4): 590-595.
- GONZÁLEZ-TRUJANO, M.E., A. NAVARRETE, B. REYES & E. HONG, 1998.** Some Pharmacological Effects of the Ethanol Extract of Leaves of *Annona diversifolia* on the Central Nervous System in Mice. *Phytotherapy Research* 12 (8): 600-602.

- HASRAT, J.A., T.D. BRUYNE, J.P. BACKER, G. VAUQUELIN & A.J. VLIETINCK, 1997. Isoquinoline Derivatives Isolated from the Fruit of *Annona muricata* as 5-HT<sub>1A</sub> Receptor Agonists in Rats: Unexploited Antidepressive (Lead) Products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 49 (11): 1145-1149.
- HOLM, L., W. LIANG, A. THORSELL & S. HILKE, 2014. Acute Effects on Brain Cholecystokinin-like Concentration and Anxiety-like Behaviour in the Female Rat upon a Single Injection of 17 $\beta$ -estradiol. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 122: 222-227.
- JIN, C.M., J.J. LEE, Y.J. YANG, Y.M. KIM, Y.K. KIM, S.Y. RYU & M.K. LEE, 2007. Liriodenine Inhibits Dopamine Biosynthesis and L-DOPA-induced Dopamine Content in PC12 Cells. *Archives of Pharmacol Research* 30 (8): 984-990.
- KLEMM, W.R., 1985. Evidence for a Cholinergic Role in Haloperidol-induced Catalepsy. *Psychopharmacology* 85 (2): 139-142.
- LEE, J.J., C.M. JIN, Y.K. KIM, S.Y. RYU, S.C. LIM & M.K. LEE, 2008. Effects of Anonaine on Dopamine Biosynthesis and L-DOPA-induced Cytotoxicity in PC12 Cells. *Molecules* 13 (2): 475-487.
- LEBOEUF, M., A. CAVÉ, P.K. BHAUMIK, B. MUKHERJEE & R. MUKHERJEE, 1982. The Phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry* 21: 2783-813.
- LÓPEZ-RUBALCAVA, C., B. PINA-MEDINA, R. ESTRADA-REYES, G. HEINZE & M. MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, 2006. Anxiolytic-like Actions of the Hexane Extract from Leaves of *Annona cherimolia* in Two Anxiety Paradigms: Possible Involvement of the GABA/Benzodiazepine Receptor Complex. *Life Sciences* 78 (7): 730-737.
- MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, M., R. ESTRADA-REYES, A.A. ESCALONA, I.L. VELÁZQUEZ, L. MARTÍNEZ-MOTA, J. MORENO & G. HEINZE, 2012. Antidepressant-like Effects of an Alkaloid Extract of the Aerial Parts of *Annona cherimolia* in Mice. *Journal of Ethnopharmacology* 139 (1): 164-170.
- MORAIS, L.C.S.L., J.M. BARBOSA-FILHO & R.N. ALMEIDA, 1998. Central Depressant Effects of Reticuline Extracted from *Ocotea duckei* in Rats and Mice. *Journal of Ethnopharmacology* 62 (1): 57-61.
- OKOYE, T.C., P.A. AKAH, E.O. OMEJE, F.B. OKOYE & C.S. NWORU, 2013. Anticonvulsant Effect of Kaurenoic Acid Isolated from the Root Bark of *Annona senegalensis*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 109: 38-43.
- SOUSA, D.P.D. & R.N.D. ALMEIDA, 2005. Neuroleptic-like Properties of the Chloroform Extract of *Maytenus obtusifolia* Mart. Roots. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 28 (2): 224-225.
- PROTAIS, P., J. ARBAOUI, E.H. BAKKALI, A. BERMEJO & D. CORTES, 1995. Effects of Various Isoquinoline Alkaloids on in vitro 3H-Dopamine Uptake by Rat Striatal Synaptosomes. *Journal of Natural Products* 58 (10): 1475-1484.
- REJÓN-ORANTES, J.D.C., A.R. GONZÁLEZ ESQUINCA, M. PÉREZ DE LA MORA & G. ROLDÁN ROLDÁN, 2011. *Efectos ansiolíticos de la annonantina y la liriodenina, alcaloides aislados del género Annona*. Catálogo de tesis. TESIUNAM.
- RUIZ, S.E. & A.L. MORETT, 1997. Las Anonas en el México Prehispánico. *Memorias Congreso Internacional de Annonáceas*. Chapingo, estado de México 12-14 Noviembre pp. 169-186.

- SANBERG, P.R., 1980.** Haloperidol-induced Catalepsy is Mediated by Postsynaptic Dopamine Receptors. *Nature* 284: 472 – 473.
- SMITH, O.A., 1996.** *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington, DC. Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council: 125.
- TORTORIELLO, J. & O. ROMERO, 1992.** Plants Used by Mexican Traditional Medicine with Presumable Sedative Properties: an Ethnobotanical Approach. *Archives of Medical Research* 23 (3): 111.
- VASCONCELOS, S.M., D.S. MACEDO, C.T.V. MELO, A.P. MONTEIRO, G. CUNHA, F.C.F. SOUSA & E.R. SILVEIRA, 2004.** Central Activity of Hydroalcoholic Extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in Mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 56 (3): 389-393.
- ZETLER, G., 1987.** Neuroleptic-like, anticonvulsant and antinociceptive effects of aporphine alkaloids: bulbocapnine, corytuberine, boldine and glaucine. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 296: 255-281.

