



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS**

**" ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona  
muricata* L. COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE  
TABASCO "**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA ORGÁNICA**

**PRESENTA: Q.F.B. SANTIAGO SANTOS VÁZQUEZ**

**BAJO LA DIRECCION DE:**

**DR. ABRAHAM GÓMEZ RIVERA**

**EN CODIRECCIÓN:**

**DRA. JULIA LESHER GORDILLO (DACBioI-UJAT)**

**DR. ALEJANDRO ZAMILPA ÁLVAREZ (CIBIS-IMSS)**

**CUNDUACÁN, TABASCO, A: 25 DE JUNIO DE 2026**



ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



**UJAT**

UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

«ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE»



División  
Académica  
de Ciencias  
Básicas



2026  
año de  
Margarita  
Maza

DIRECCIÓN

13 de mayo de 2026

**Q.F.B. SANTIAGO SANTOS VÁZQUEZ**  
**EGRESADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS**  
**CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA ORGÁNICA**  
**PRESENTE**

En respuesta a su oficio con fecha del 25 de marzo del 2026, en el cual solicita le sea concedido el cambio de título del Proyecto de Investigación "ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L. COLECTADOS EN EL SURESTE MEXICANO"; me permito informarle que se **AUTORIZA** el cambio por el título:

**"ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO"**

bajo la Dirección de:

- Dr. Abraham Gómez Rivera
  - Dra. Julia María Leshner Gordillo
  - Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez
- Director  
Codirector Externo  
Codirector Externo

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE

**DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL**  
**DIRECTORA**



C.C.P.- Archivo.

Dir'Dra.HPV/Dra.LAR/jkal\*\*

Km.1 Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez, A.P. 24, C.P. 86690, Cunduacán, Tab., México.  
Tel/Fax: (993) 3581500 Ext. 6702,6701 E-Mail: direccion.dacb@ujat.mx

www.ujat.mx



### Declaración de autoría y originalidad

En la Ciudad de Cunduacán, Tabasco, el día 25 del mes de junio del año 2026, el que suscribe **Santiago Santos Vázquez**, alumno del Programa de **Maestría en Ciencias con Orientación en Química Orgánica**, con número de matrícula **232A18001**, adscrito a la División Académica de Ciencias Básicas, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autor de la Tesis presentada para la obtención del título de **Maestro en Ciencias con Orientación en Química Orgánica** y titulada "ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L. COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO" dirigida por el Dr. Abraham Gómez Rivera, en codirección de la Dra. Julia María Leshner Gordillo y el Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Cunduacán, Tabasco a 25 de junio de 2026.

Santiago Santos Vázquez



# UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA, ACCIÓN EN LA FE"



División  
Académica  
de Ciencias  
Básicas



2026  
año de  
Margarita  
Maza

DIRECCIÓN

24 de junio de 2026

**Q.F.B. SANTIAGO SANTOS VÁZQUEZ**  
**EGRESADO MAESTRÍA EN CIENCIAS CON**  
**ORIENTACIÓN EN QUÍMICA ORGÁNICA**  
**PRESENTE**

Por medio del presente y de la manera más atenta, me dirijo a Usted para hacer de su conocimiento que se le **AUTORIZA** la impresión del trabajo de Tesis titulado "**ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L. COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO**" bajo la Dirección de Dr. Abraham Gómez Rivera, Dra. Julia María Leshner Gordillo y Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez.

La Comisión revisora conformada por el **Dr. Abraham Gómez Rivera, Dr. Carlos Ernesto Lobato García, Dr. Ever Arquímedes Blé González, Dr. Miguel Ángel Vilchis Reyes y Dr. Manases González Cortázar** aprobó el documento en virtud de reunir los requisitos para el **EXAMEN PROFESIONAL** y obtener el grado de **Maestro en Ciencias con orientación en Química Orgánica** bajo la modalidad de titulación por Tesis.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE

**DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL**  
**DIRECTORA**



C.C.P.- Archivo.

Dir'Dra.HPV/JP'Dra.LAR/jkal\*\*

Km.1 Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez, A.P. 24, C.P. 86000, Cunduacán, Tab., México.  
Tel/Fax: (993) 3581500 Ext. 6702,6701 E-Mail: [direccion.dacb@ujat.mx](mailto:direccion.dacb@ujat.mx)

[www.ujat.mx](http://www.ujat.mx)



## Carta de cesión de derechos

Cunduacán, Tabasco a 25 de junio de 2026.

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTOR(A) y/o AUTORES(RAS)\* en la producción, creación y/o realización de la obra denominada "ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L. COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO".

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

### COLABORADORES

Q.F.B. Santiago Santos Vázquez

Dr. Abraham Gómez Rivera

  
Dra. Julia María Leshner Gordillo

  
Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez

### TESTIGOS

  
Ricardo López Rodríguez

  
Cristian Octavio Barredo  
Hernández



### **Dedicatoria**

A mis abuelos, Marbella Angulo y José de la Cruz, por apoyarme durante todo mi camino profesional. Ustedes me han motivado a seguir mis metas, sin su cariño este proyecto no hubiera sido posible.

A mis padres, Fabiola y Tomas, gracias por motivarme a seguir adelante y no rendirse cuando las cosas no salían como esperábamos. Este un logro que no habría sido posible sin los sacrificios que tuvieron que hacer por mí.

A mis hermanos, Cristhian y Jair, por su incondicional apoyo.

A mis amigos Rafa, Williams, Ana, Fran, Paulina, Arlette, Vivian, Polet, Dani, y a todos quienes depositaron su confianza en mí. Su apoyo fue crucial para que pudiera concluir esta tesis. Les extiendo mi más profundo agradecimiento.



## Agradecimientos

Extiendo mi más sincero agradecimiento a mis asesores de tesis, el Dr. Abraham Gómez Rivera, la Dra. Julia Leshner Gordillo y el Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez. Su experta orientación, dedicación incansable y apoyo incondicional fueron pilares en la culminación de esta investigación. Su gran experiencia y sabios consejos resultaron indispensables para el desarrollo de este trabajo.

Deseo manifestar mi gratitud a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por haberme facilitado la oportunidad y los recursos para llevar a cabo este proyecto. Agradezco a la institución por su firme compromiso con la formación de sus estudiantes y por fomentar un ambiente académico propicio para la investigación. De igual manera, agradezco a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el financiamiento otorgado a través de la beca con número de CVU: 1311538.

Mi reconocimiento al Laboratorio de Química Orgánica y Productos Naturales y al Centro de Investigación Biomédica del Sur por permitirme el acceso a sus instalaciones.

Mi más sincero agradecimiento a mis colegas y amigos del equipo de trabajo de Química de Productos Naturales. Quiero hacer una mención especial al Dr. Carlos Lobato, quien fue un guía excepcional y una fuente constante de inspiración. De igual manera, quiero extender mis agradecimientos a mi querido grupo de trabajo, al Dr. Eric, la Dra. Ammy y al Dr. Ricardo quienes han sido una red de apoyo invaluable en mi camino profesional y personal.

Finalmente, agradezco especialmente a la Dra. Maribel Herrera Ruiz por su valiosa colaboración en la realización de las pruebas biológicas. Sus aportes y conocimientos enriquecieron sustancialmente esta investigación.



## Contenido

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| Índice de figuras .....                                                       | 10 |
| Índice de tablas .....                                                        | 11 |
| 1. Título .....                                                               | 12 |
| 2. Resumen .....                                                              | 12 |
| 3. Abstract .....                                                             | 13 |
| 4. Palabras clave .....                                                       | 13 |
| 5. Introducción .....                                                         | 14 |
| 6. Marco teórico .....                                                        | 16 |
| 6.1 Espectrofotometría UV-Vis .....                                           | 16 |
| 6.1.1 Curva de calibración empleada en cuantificaciones .....                 | 16 |
| 6.2 Cuantificación de polifenoles por método de Folin-Ciocalteu .....         | 18 |
| 6.3 Cuantificación de flavonoides por método colorimétrico .....              | 18 |
| 6.4 Métodos de extracción de metabolitos secundarios .....                    | 19 |
| 6.5 Sistema de 2 fases .....                                                  | 19 |
| 6.6 Extracción por solventes .....                                            | 19 |
| 6.7 Extracción por disociación .....                                          | 20 |
| 6.8 Extracción con Fluidos Supercríticos y Casi Críticos .....                | 20 |
| 6.9 Extracción asistida por ultrasonido .....                                 | 20 |
| 6.10 Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (CLAR) .....                    | 21 |
| 6.11 Métodos conductuales de evaluación antidepresiva .....                   | 24 |
| 6.11.1 Pruebas Confirmatorias para Descartar Falsos Positivos .....           | 24 |
| 7. Justificación .....                                                        | 26 |
| 8. Pregunta de investigación .....                                            | 26 |
| 9. Hipótesis .....                                                            | 27 |
| 10. Objetivos generales .....                                                 | 27 |
| 11. Objetivos específicos .....                                               | 27 |
| 12. Antecedentes .....                                                        | 28 |
| 12.1 Botánica y etnobotánica de <i>la familia Annonaceae</i> .....            | 28 |
| 12.2 Botánica y etnobotánica de <i>Annona muricata</i> especie y género ..... | 28 |
| 12.3 Composición química de <i>Annona muricata</i> .....                      | 31 |
| 12.4 Reportes de actividad antidepresiva de <i>Annona muricata</i> .....      | 34 |
| 13. Metodología .....                                                         | 35 |
| 13.1 Comparación de métodos de extracción .....                               | 36 |



|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 13.2 Material vegetal y extracción de <i>Annona muricata</i> L. ....                                                                        | 37 |
| 13.3 Contenido de polifenoles de los extractos de <i>Annona muricata</i> L. ....                                                            | 39 |
| 13.4 Contenido total de flavonoides de los extractos hidroalcohólicos de <i>Annona muricata</i> L. ....                                     | 39 |
| 13.5 Análisis CLAR de los extractos hidroalcohólicos de <i>Annona muricata</i> L. ..                                                        | 40 |
| 13.6 Cuantificación de metabolitos secundarios .....                                                                                        | 40 |
| 14. Resultados .....                                                                                                                        | 44 |
| 14.1 Comparación de métodos de extracción.....                                                                                              | 44 |
| 14.2 Contenido de polifenoles totales (CPT) y contenido de flavonoides totales (CFT) del extracto etanólico de <i>Annona muricata</i> ..... | 45 |
| 14.3 Caracterización fitoquímica preliminar del contenido metabólico de <i>Annona muricata</i> mediante CLAR-DAD. ....                      | 47 |
| 14.4 Cuantificación del contenido de rutina (CR).....                                                                                       | 49 |
| 14.5 Actividad antidepresiva .....                                                                                                          | 50 |
| 14.5.1 Prueba de suspensión por la cola (SC).....                                                                                           | 50 |
| 14.5.2 Prueba de campo abierto (CA).....                                                                                                    | 51 |
| 14.5.3 Prueba de rotarod (RT) .....                                                                                                         | 52 |
| 15. Discusión.....                                                                                                                          | 53 |
| 15.1 Comparación de métodos de extracción.....                                                                                              | 53 |
| 15.2 Contenido de polifenoles totales y contenido de flavonoides totales del extracto etanólico de <i>A. muricata</i> .....                 | 53 |
| 15.3 Caracterización fitoquímica preliminar del contenido metabólico de <i>A. muricata</i> empleando CLAR-DAD. ....                         | 54 |
| 15.4 Cuantificación de metabolitos secundarios .....                                                                                        | 54 |
| 15.5 Prueba de suspensión por la cola (SC) .....                                                                                            | 55 |
| 15.6 Prueba de campo abierto (CA) .....                                                                                                     | 55 |
| 15.7 Prueba de rotarod (RT).....                                                                                                            | 56 |
| 16. Conclusiones.....                                                                                                                       | 57 |
| 17. Referencias .....                                                                                                                       | 58 |
| 18. Anexos .....                                                                                                                            | 63 |



## Indice de figuras

|                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.-</b> Ejemplo de una curva de calibración.....                                                                                                                                                                            | 17 |
| <b>Figura 2.-</b> Mecanismo de reacción de la cuantificación de polifenoles por el método Folin-Ciocalteu.....                                                                                                                        | 18 |
| <b>Figura 3.-</b> Mecanismo de reacción de los flavonoides con el complejo de aluminio.....                                                                                                                                           | 19 |
| <b>Figura 4.-</b> Representación esquemática de un cromatograma analítico ideal para una mezcla de muestra binaria con un componente no retenido ( $t_0$ ).....                                                                       | 22 |
| <b>Figura 5. -</b> Taxonomía botánica de <i>Annona muricata</i> .....                                                                                                                                                                 | 30 |
| <b>Figura 6.-</b> Hojas de <i>Annona muricata</i> .....                                                                                                                                                                               | 30 |
| <b>Figura 7.-</b> Propuesta de marcadores químicos de interés: rutina, ácido <i>p</i> -cumárico y kaempferol. Elaboración propia.....                                                                                                 | 33 |
| <b>Figura 8.-</b> Esquema general de la metodología realizada en el proyecto de investigación.....                                                                                                                                    | 35 |
| <b>Figura 9.-</b> Puntos de colecta en las cinco subregiones de Tabasco, México, para las hojas de <i>Annona muricata</i> L., el mapa se elaboró utilizando QGIS® v. 3.30.3 (Beaverton, Oregón, EE. UU.).....                         | 37 |
| <b>Figura 10.-</b> Equipo UV-Vis empleado en el proyecto.....                                                                                                                                                                         | 39 |
| <b>Figura 11.-</b> Equipo CLAR empleado en el proyecto.....                                                                                                                                                                           | 40 |
| <b>Figura 12.-</b> Pruebas conductuales para la determinación de la actividad antidepresiva del extracto etanólico de <i>A. muricata</i> ; A) Prueba de Suspensión por la Cola; B) Prueba de Campo Abierto; C) Prueba de Rotarod...42 |    |
| <b>Figura 13.-</b> Contenido de CPT (A) y CFT (B) de los extractos hidroalcohólicos de <i>A. muricata</i> obtenidos por macerado (1M, 2M, 3M y 4M) y ultrasonido (1U, 2U, 3U y 4U) *.....                                             | 45 |
| <b>Figura 14.-</b> Comparación del contenido de rutina en mg/g del extracto de <i>A. muricata</i> de las 5 subregiones de Tabasco.....                                                                                                | 49 |
| <b>Figura 15.-</b> Tiempo de inmovilidad en segundos de los tratamientos en la prueba de SC.....                                                                                                                                      | 50 |
| <b>Figura 16.-</b> Número de eventos en CA de los tratamientos de <i>A. muricata</i> .....                                                                                                                                            | 51 |
| <b>Figura 17.-</b> Tiempo promedio en la barra en RT para tratamientos de <i>A. muricata</i> *.....                                                                                                                                   | 52 |



### índice de tablas

|                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1</b> Condiciones para la realización de comparación de métodos de extracción.....                                      | 36 |
| <b>Tabla 2.-</b> Datos de los puntos de colecta de <i>A. muricata</i> en las 5 subregiones de Tabasco.....                       | 38 |
| <b>Tabla 3.-</b> Comparación del CPT y CFT del extracto etanólico de <i>A. muricata</i> *.....                                   | 46 |
| <b>Tabla 4.-</b> Perfil fitoquímico preliminar mediante análisis CLAR-DAD del extracto etanólico de <i>Annona muricata</i> ..... | 48 |



## 1. Título

ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona*  
*muricata* L. COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE  
TABASCO

## 2. Resumen

*Annona muricata* L., conocida como guanábana, es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar diversas afecciones, entre ellas la «pérdida del alma o del espíritu». El objetivo de este estudio fue evaluar la variabilidad de los marcadores químicos y la actividad antidepresiva de los extractos etanólicos de las hojas de *A. muricata* recolectadas en cinco subregiones de Tabasco, México (Centro, Chontalpa, Sierra, Pantanos y Ríos). La comparación de métodos de extracción permitió identificar a **1U** como el mejor método y agente extractante que permite la obtención del mayor rendimiento de compuestos del tipo flavonoide. El contenido total de polifenoles y flavonoides (CPT y CFT, respectivamente), así como el marcador químico rutina, se cuantificaron mediante métodos espectroscópicos y cromatográficos. Además, se evaluó la actividad antidepresiva mediante las pruebas de suspensión de la cola (SC), campo abierto (CA) y rotarod (RT). Los extractos **2b**, **4a** y **4b** presentaron el CPT más alto ( $32.71 \pm 0.06$ ;  $22.96 \pm 0.32$ ;  $29.52 \text{ mg Eq AGE/g E}$ , respectivamente), mientras que el extracto **5a** presentó el CFT más alto ( $236.01 \pm 2.20 \text{ mg Eq RE/g E}$ ). En el caso de la rutina, los extractos con mayor contenido fueron **1b**:  $2.23 \pm 0.003 \text{ mg/g}$  y **4a**:  $1.81 \pm 0.002 \text{ mg/g}$ . Por último, en la evaluación biológica, los extractos **4a** y **5a** no mostraron ningún efecto antidepresivo a  $200 \text{ mg/kg}$ , sin embargo, **5a** mostró un potencial efecto ansiolítico en la prueba de CA. El **4a** y el **5a** disminuyen la coordinación motora en la prueba RT. En conclusión, existe una marcada variabilidad fitoquímica entre las subregiones, lo que influye en la concentración de rutina, TPC y TFC, así como en la posible actividad ansiolítica observada en los extractos etanólicos de *A. muricata*.



### 3. Abstract

*Annona muricata* L., known as soursop, is a plant used in traditional Mexican medicine to treat various conditions, including “loss of soul or spirit.” The objective of this study was to evaluate the variability in chemical markers and antidepressant activity of ethanolic extracts from *A. muricata* leaves collected in five subregions of Tabasco, Mexico (Centro, Chontalpa, Sierra, Pantanos, and Ríos). The comparison of extraction methods allowed us to identify **1U** as the best method and extracting agent that allows obtaining the highest yield of flavonoid-type compounds. The Total Polyphenols and Total Flavonoids contents (TPC and TFC, respectively), as well as the chemical marker rutin, were quantified using spectroscopic and chromatographic methods. In addition, antidepressant activity was evaluated using the Tail Suspension (TST), Open Field (OFT), and Rotarod (RT) tests. Extracts **2b**, **4a** and **4b** had the highest TPC ( $32.71 \pm 0.06$ ;  $22.96 \pm 0.32$ ;  $29.52$  mg Eq GAE/g E), while extract **5a** had the highest TFC ( $236.01 \pm 2.20$  mg Eq RE/g E). In the case of the rutin, the extracts with the highest content was **1b**:  $2.23 \pm 0.003$  mg/g and **4a**:  $1.81 \pm 0.002$  mg/g. Finally, in the biological evaluation, extracts **4a** and **5a** showed no antidepressant effect at 200 mg/kg, however, **5a** showed a potential anxiolytic effect in OFT. **4a** and **5a** decrease motor coordination in RT. In conclusion, there is a marked phytochemical variability between subregions, which influences the concentration of rutin, TPC, and TFC as well as the potential anxiolytic activity observed in the ethanolic extracts of *A. muricata*.

**4. Palabras clave:** *Annona muricata*; Variabilidad; Polifenoles: Flavonoides; Rutina; CLAR-DAD; Antidepresivo; Ansiolítico.



## 5. Introducción

El contenido fitoquímico de una planta no es una propiedad constante; por el contrario, es una expresión dinámica de la interacción entre la especie y los factores que la afectan<sup>1</sup>; por lo tanto, algunos metabolitos pueden estar presentes o no, lo que afecta al contenido químico y a la actividad biológica que se puede atribuir a una planta. Como resultado, dos individuos de la misma especie, recolectados en condiciones diferentes, pueden diferir en su composición<sup>2</sup>. Por esa razón, es necesario identificar los compuestos descritos en una especie concreta y seleccionar aquellos que permanecen constantes, independientemente de las condiciones en las que se recojan las muestras. Estos marcadores químicos representan metabolitos específicos o grupos de metabolitos que son distintivos tanto de una especie vegetal como de sus derivados. Esto permite establecer controles de calidad en la preparación de preparados a base de plantas o en estudios sobre su variación en una especie objeto de estudio<sup>3</sup>.

Entre los marcadores químicos descritos para *Annona muricata* L., se reportan polifenoles con actividades antiinflamatorias, antioxidantes y antidepresivas<sup>4-8</sup>; ejemplos de ello son la rutina, el kaempferol y el ácido *p*-cumárico, que han tenido una actividad antidepresiva significativa en modelos murinos<sup>8-10</sup>. Estos resultados concuerdan con uno de los usos de esta planta en la medicina tradicional: el tratamiento de la “pérdida del alma o del espíritu”, que se asocia con un tipo de depresión<sup>11</sup>. Además, existen estudios previos que informan de la actividad antidepresiva en extractos hidroalcohólicos y nanoformulaciones de hojas de *A. muricata* con porcentajes de inhibición de la MAO-A entre el 37,6 % y el 45,1 %<sup>12</sup>. También, se ha descrito que el uso de extractos etanólicos de las hojas de la misma especie tiene actividad antidepresiva al disminuir el tiempo de inmovilidad en la prueba de natación forzada a una dosis de 300 mg/kg, así como una disminución significativa de la locomoción en ratones en la prueba de campo abierto, mostrando un efecto sedante a dosis de 150 y 300 mg/kg<sup>13</sup>; Asimismo, se han aislado tres alcaloides (annonaina, nornuciferina y asimilobina) de las semillas de *A. muricata* y



han mostrado un efecto agonista no selectivo sobre el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, implicado en la regulación de la actividad del sistema serotoninérgico<sup>14</sup>.

En este sentido, *Annona muricata* es una especie utilizada en la medicina tradicional y cultivada como planta de patio en huertos familiares en diferentes áreas geográficas, por lo que la presencia y variabilidad de marcadores químicos puede estar asociada a la actividad biológica que en un momento dado se puede atribuir a la medicina tradicional en una u otra región. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es investigar la variabilidad de los marcadores químicos y su efecto sobre la actividad antidepresiva en extractos etanólicos de hojas de *A. muricata* colectadas en las cinco subregiones de Tabasco, México<sup>15</sup>.



## 6. Marco teórico

### 6.1 Espectrofotometría UV-Vis

La absorción de radiación en la región ultravioleta-visible (UV-Vis) por parte de las moléculas se manifiesta en bandas de absorción. Estas bandas están compuestas por una superposición de múltiples transiciones vibracionales y rotacionales sobre una transición electrónica fundamental. El fenómeno se origina por la interacción de fotones con dos tipos principales de electrones moleculares: aquellos que participan en enlaces insaturados y los electrones no enlazantes localizados en heteroátomos como oxígeno, nitrógeno, azufre o halógenos.

Los grupos funcionales insaturados, denominados cromóforos, absorben típicamente en el rango de 180 a 780 nm. Por otro lado, compuestos saturados que contienen heteroátomos pueden exhibir absorción entre 170 y 250 nm debido a la excitación de sus electrones no compartidos. Consecuentemente, la espectrofotometría UV-Vis es una técnica analítica fundamental para la detección e identificación de estos grupos cromóforos, siendo particularmente útil para caracterizar compuestos que contienen azufre y halógenos.

Las medidas espectrofotométricas con radiación ultravioleta son útiles para la detección de grupos cromóforos.<sup>16</sup>

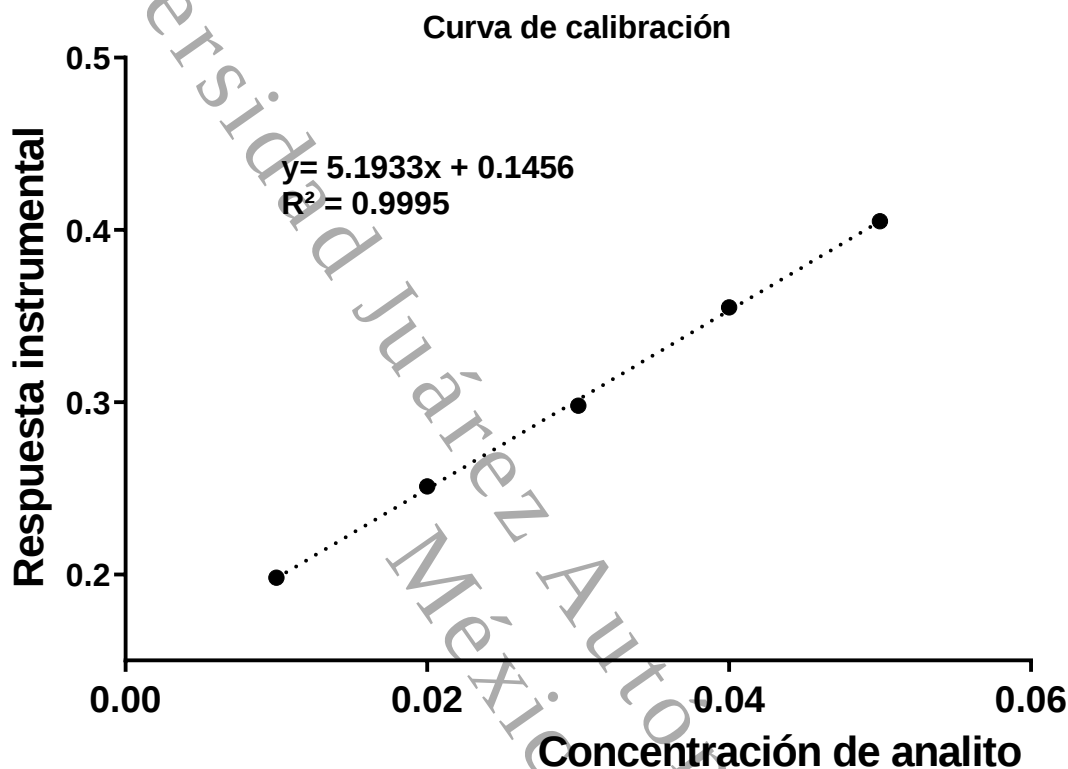
#### 6.1.1 Curva de calibración empleada en cuantificaciones

La cuantificación de un analito mediante métodos instrumentales se fundamenta, en gran medida, en procedimientos de calibración relativa. Este enfoque requiere el uso de un material de referencia certificado a partir del cual se prepara una disolución de alta exactitud, denominada solución madre. Dicha solución es subsecuentemente empleada para obtener, por dilución, una serie de estándares de calibración que cubren un rango de concentraciones de interés.

El propósito de estos estándares es establecer una curva de calibración, la cual modela la relación funcional entre la señal instrumental y la concentración del analito. Gráficamente, esta curva establece el intervalo lineal dinámico o rango de trabajo del método analítico, garantizando que las mediciones realizadas dentro de este intervalo cumplan con los criterios de precisión y exactitud establecidos en la validación. Desde una perspectiva matemática, la calibración analítica consiste en



encontrar el modelo, típicamente una regresión lineal, que mejor se ajuste al conjunto de puntos experimentales definidos por las variables de concentración (x) y respuesta instrumental (y) como se muestra en la **Figura 1**.<sup>16</sup>



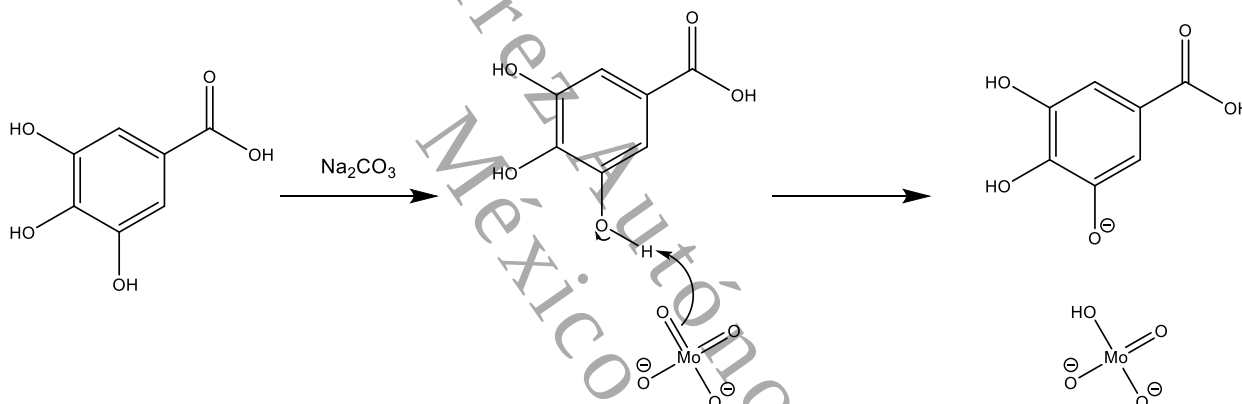
**Figura 1.**-Ejemplo de una curva de calibración.

El modelo de calibración se ajusta a una ecuación lineal ( $y = mx + b$ ), cuyos parámetros, la pendiente (m) y la ordenada al origen (b), se calculan a partir de los datos experimentales. La idoneidad del ajuste lineal se evalúa mediante el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), exigiéndose un valor mínimo de 0.995 como criterio de aceptación para la linealidad del método. El paso final del análisis cuantitativo consiste en medir la señal instrumental de la muestra y utilizar la ecuación de la recta para interpolar su valor, obteniendo así la concentración precisa del analito.<sup>16</sup>



## 6.2 Cuantificación de polifenoles por método de Folin-Ciocalteu

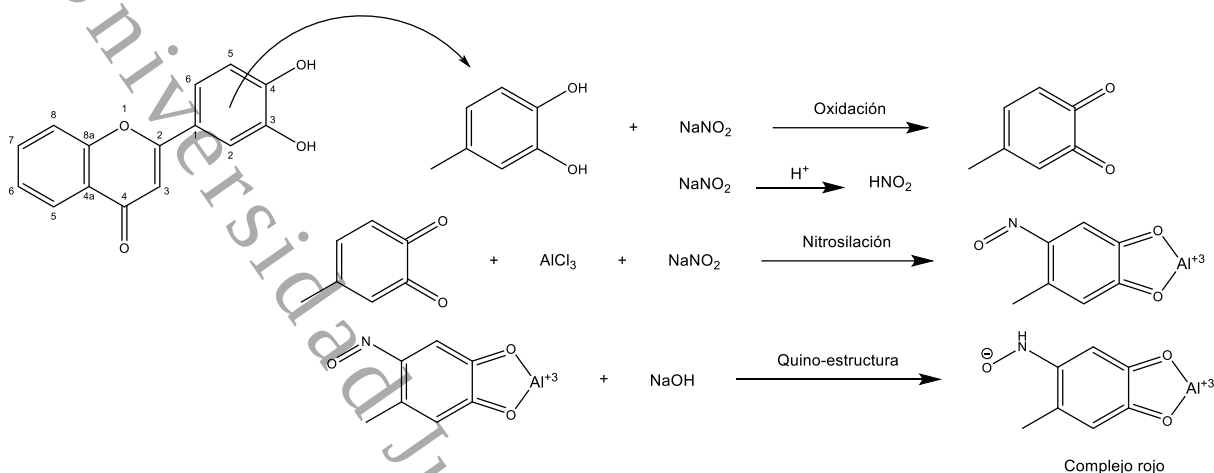
El método Folin-Ciocalteu se emplea para cuantificar la cantidad de compuestos fenólicos totales en productos de origen vegetal. Se fundamenta en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo Folin-Ciocalteu en un entorno básico, generando una coloración azul que se puede medir espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo, compuesto por wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico, reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico, de tono amarillo debido a la combinación de las dos sales en medio ácido, se transforma en un complejo de color azul intenso al ser reducido por los grupos fenólicos. (**Figura 2**) La intensidad de este color azul es la medida que se utiliza para evaluar el contenido de polifenoles<sup>17</sup>.



**Figura 2.-** Mecanismo de reacción de la cuantificación de polifenoles por el método Folin-Ciocalteu.

## 6.3 Cuantificación de flavonoides por método colorimétrico

La estructura fundamental de los flavonoides y la mayoría de ellos presentan una estructura con sustitución en las posiciones 3' y 4' con grupos dihidroxilos. Aquellos flavonoides cuya estructura está sustituida en 3' y 4' dihidroxilos pueden exhibir una coloración especial al interactuar con el sistema  $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ . Este método se fundamenta en la reacción entre el ion aluminio y el flavonoide en un entorno alcalino, dando lugar a la formación de quelatos rojos. (**Figura 3**) La medición de la absorción de estos quelatos rojos permite la determinación de los flavonoides<sup>18</sup>.



**Figura 3.-** Mecanismo de reacción de los flavonoides con el complejo de aluminio.

#### 6.4 Métodos de extracción de metabolitos secundarios

La extracción constituye una técnica de separación significativa en química y biotecnología, aplicándose comúnmente en esta última como el paso inicial en la recuperación de metabolitos primarios y secundarios. La extracción compite con numerosos métodos de separación, como la adsorción, precipitación, cromatografía, destilación, separación por membrana, cristalización, intercambio iónico y electrodiálisis<sup>19</sup>.

#### 6.5 Sistema de 2 fases

En sistemas bifásicos, los microorganismos son separados del medio de cultivo mediante filtración o centrifugación. El producto es extraído del medio de cultivo libre de células mediante un solvente/extractante. Durante la extracción, solo están presentes la fase acuosa de alimentación y las fases orgánicas de solvente/extractante. No se forma una tercera fase<sup>19</sup>.

#### 6.6 Extracción por solventes

Los extractantes orgánicos (alcoholes, ésteres y cetonas) se utilizan con frecuencia para la recuperación de compuestos polares. Por otro lado, los extractantes apolares (petroleter, dicloruro de metileno, dicloruro de etileno) se aplican para la extracción de compuestos lipofílicos. El proceso consiste en dejar reposar el



disolvente orgánico junto con el material vegetal 24h a condiciones de temperatura y humedad ambientales<sup>19</sup>.

### **6.7 Extracción por disociación**

Se ha reportado una técnica de extracción que utiliza la diferencia entre los coeficientes de disociación de ácidos (pKa) y bases (pKb). Esta técnica resulta especialmente útil en la separación de mezclas de ácidos/bases orgánicas de ebullición cercana que presentan constantes de disociación y coeficientes de distribución diferentes<sup>19</sup>.

### **6.8 Extracción con Fluidos Supercríticos y Casi Críticos**

Los fluidos supercríticos son sustancias que existen en estado fluido por encima de su temperatura crítica (Tc) y presión crítica (Pc). Debido a sus bajas presiones críticas, los siguientes gases son adecuados para la extracción con fluidos supercríticos (SCF): CO<sub>2</sub> (31.2 °C, 48.1 bar), etano (32.2 °C, 48.1 bar), propano (96.6 °C, 41.9 bar), butano (135.0 °C, 37.5 bar), pentano (196.6 °C, 37.5 bar)<sup>19</sup>.

Las propiedades de estos solventes son altamente sensibles a cambios tanto en presión como en temperatura. Numerosas investigaciones se han ocupado de la extracción con fluidos supercríticos. En general, los SCF son adecuados para la extracción de compuestos lipofílicos de baja polaridad, como ésteres, éteres y lactonas, por debajo de 70–100 bares<sup>19</sup>.

### **6.9 Extracción asistida por ultrasonido**

Contrario a los métodos de extracción convencionales, la técnica de extracción asistida por ultrasonido representa un procedimiento sencillo y económicamente viable que conlleva la reducción del tiempo y el consumo de solvente, a la par que incrementa la eficiencia del proceso de extracción. La efectividad de este método se atribuye a los impactos generados por la cavitación acústica en el solvente, lo cual posibilita una mayor penetración del solvente en la muestra, resultando en una mejora sustancial en la transferencia de masa desde las membranas celulares<sup>20</sup>.



### 6.10 Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (CLAR)

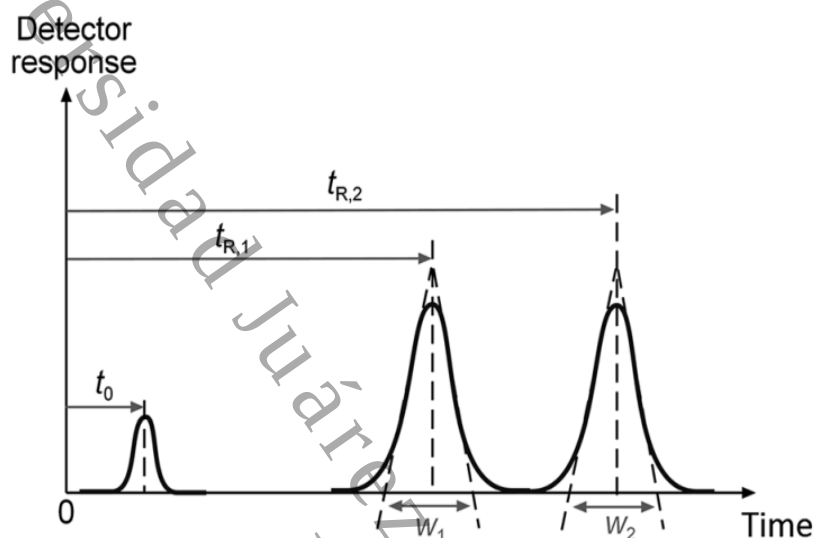
Es una técnica probada que se ha utilizado en laboratorios de todo el mundo durante más de 30 años. Los cromatogramas de extractos vegetales se utilizan como huellas dactilares y se comparan con compuestos estándar para identificar el material vegetal y sus componentes. CLAR es, por lo tanto, una de las técnicas más adecuadas para la separación eficiente de extractos vegetales crudos. Las columnas de fase reversa pueden considerarse las columnas más populares utilizadas en la separación analítica de metabolitos secundarios de plantas, incluso si se han explorado nuevas fases estacionarias. La separación de línea base mediante CLAR normalmente requiere programas de gradiente de solvente complejos y tiempos de análisis prolongados. Además, la identificación inequívoca de flavonoides, una de las clases de metabolitos secundarios de plantas más grandes y ampliamente distribuidas, que tienen espectros UV y tiempos de elución similares, no puede garantizarse<sup>21</sup>.

Dos aspectos principales comprenden la teoría de CLAR: el aspecto cinético de la migración de la zona cromatográfica es responsable del ensanchamiento de la banda y los aspectos termodinámicos son responsables de la retención del analito en la columna. El proceso de dispersión de la zona cromatográfica en la columna, generalmente llamado eficiencia, es uno de los descriptores importantes de un sistema cromatográfico.

La velocidad de migración de la zona cromatográfica está determinada por las interacciones competitivas del analito con la superficie de la fase estacionaria. En el modo de separación isocrático, esta velocidad es constante y la característica común de retención del analito es el tiempo de retención (la relación entre la longitud de la columna y la velocidad de migración).<sup>22</sup>



De un cromatograma como el que se observa en la **Figura 4** podemos obtener cuatro descriptores principales se utilizan comúnmente para informar las características de la columna cromatográfica, el sistema y la separación particular:  
Factor de retención ( $k'$ )<sup>22</sup>



**Figura 4.-** Representación esquemática de un cromatograma analítico ideal para una mezcla de muestra binaria con un componente no retenido ( $t_0$ ).

El factor de retención ( $k'$ ) es la medida sin unidades de la retención de un compuesto particular en un sistema cromatográfico particular en condiciones dadas definidas como se muestra en la Fórmula 2:

$$k' = \frac{V_R - V_0}{V_0} = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

**Fórmula 1.-** Expresión matemática para la obtención de  $k'$ .

Donde:

$V_R$  es el volumen de retención del analito,

$V_0$  el volumen de la fase líquida en el sistema cromatográfico,

$t_R$  el tiempo de retención del analito y, a veces, se define como el tiempo de retención de los analitos no retenidos.

El factor de retención es conveniente ya que es independiente de las dimensiones de la columna y del caudal de la fase móvil.



### Eficiencia (N)

La eficiencia es la medida del grado de dispersión del pico en una columna en particular, como tal es esencialmente la característica de la columna. La eficiencia se expresa como el número de platos teóricos (N) calculado como se observa en la Fórmula 3:

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{w} \right)^2$$

**Fórmula 2.-** Expresión matemática para la obtención de N.

Donde:

$t_R$  es el tiempo de retención del analito

$w$  el ancho del pico en la línea de base.

### Selectividad ( $\alpha$ )

La selectividad ( $\alpha$ ) es la capacidad del sistema cromatográfico para discriminar dos analitos diferentes. Se define como la relación de los factores de capacidad correspondientes, esto se puede ver en la Fórmula 4:

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1}$$

**Fórmula 3.-** Expresión matemática para la obtención de  $\alpha$ .

### Resolución (R)

La resolución (R) es una medida combinada de la separación de dos compuestos e incluye la dispersión máxima y alguna forma de selectividad.

La resolución se define como se muestra en la Fórmula 5:

$$R = 2 \frac{t_2 - t_1}{w_2 + w_1}$$

**Fórmula 4.-** Expresión matemática para la obtención de R.



### 6.11 Métodos conductuales de evaluación antidepresiva

Los métodos más extendidos para inducir y medir estas conductas se basan en la desesperanza aprendida, donde se expone al animal a un estímulo estresante e ineludible. La respuesta conductual clave es la inmovilidad, interpretada como una conducta pasiva de afrontamiento o "desesperación", análoga a la anhedonia o la falta de motivación en humanos. Dos pruebas fundamentales basadas en este principio son:

1. **Prueba de Nado Forzado (Forced Swim Test, FST):** Se introduce al animal (generalmente un roedor) en un cilindro con agua del cual no puede escapar. Tras intentos iniciales de huida, el animal adopta una postura inmóvil, flotando pasivamente. Se mide el tiempo que pasa en este estado. Un compuesto con efecto antidepresivo reduce significativamente el tiempo de inmovilidad, ya que el animal persiste más tiempo en conductas activas de escape.
2. **Prueba de Suspensión por la Cola (Tail Suspension Test, TST):** De manera similar, se suspende al animal por la cola, dejándolo en una posición incómoda de la que no puede salir. La respuesta conductual es similar a la del nado forzado: tras luchar, el animal se queda inmóvil. Nuevamente, los fármacos antidepresivos disminuyen la duración de esta inmovilidad.<sup>8</sup>

#### 6.11.1 Pruebas Confirmatorias para Descartar Falsos Positivos

Aunque las pruebas de nado forzado y suspensión por la cola son herramientas valiosas, pueden generar falsos positivos. Un compuesto podría reducir la inmovilidad no por un efecto antidepresivo, sino simplemente por ser un estimulante psicomotor, aumentando la actividad locomotora general. Para garantizar la validez de los resultados, es indispensable realizar pruebas de control.<sup>23</sup>

**Prueba de Campo Abierto (Open Field Test):** Esta prueba es crucial como confirmador de falsos positivos. Se coloca al animal en una arena o caja abierta y se mide su actividad locomotora espontánea, como la distancia total recorrida y la frecuencia de cruce de cuadrantes. Si un compuesto reduce la inmovilidad en la



prueba de suspensión por la cola, pero también aumenta drásticamente la actividad en el campo abierto, el efecto observado probablemente se deba a una hiperactividad general y no a una acción antidepresiva específica. Un verdadero antidepresivo debería reducir la inmovilidad sin alterar significativamente la motricidad basal, además, esta prueba permite evaluar la tigmotaxis en ratones (Indicador importante de ansiedad, específicamente sensible a la administración de ansiolíticos, estimulantes o sedantes), el cual se determina con la periferia del campo abierto y la razón tiempo central/entradas.<sup>23</sup>

**Prueba de Rotarod (Rotarod Test):** Es fundamental para evaluar la coordinación motora, el equilibrio y posibles efectos sedantes o miorelajantes. La prueba consiste en colocar al animal sobre una varilla giratoria cuya velocidad aumenta progresivamente. Se mide el tiempo que el animal es capaz de permanecer sobre la varilla antes de caer. Si un compuesto afecta negativamente el rendimiento en el rotarod, podría indicar que su efecto en otras pruebas (como el aumento de la inmovilidad) se debe a un deterioro motor y no a un estado de desesperanza. Por lo tanto, el rotarod ayuda a descartar que los resultados conductuales estén contaminados por déficits motores.<sup>10,24</sup>



## 7. Justificación

En la actualidad, los trastornos depresivos representan un desafío para la salud pública a nivel mundial, lo que ha impulsado un creciente interés en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas a partir de fuentes naturales. Un ejemplo de gran relevancia etnobotánica es *Annona muricata* L., una especie utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de la “pérdida del alma o del espíritu”, un padecimiento que culturalmente se asocia con un estado anímico similar a la depresión<sup>11</sup>.

Por lo que se hace necesario estudiar la variabilidad de metabolitos secundarios en *A. muricata* para determinar su impacto en los efectos farmacológicos atribuidos en la medicina tradicional, ya que podría sentar las bases de estandarización de los remedios herbolarios que se elaboran con esta especie.

Considerando que *Annona muricata* es una especie de gran interés medicinal, cultivada en huertos de traspatio en las diversas subregiones del estado de Tabasco, es fundamental evaluar la relación entre el contenido químico y su potencial efecto antidepresivo, ya que, aunque su uso es popular, existe una brecha entre el conocimiento empírico transmitido y la evidencia científica que respalda estas afirmaciones. Por lo que el propósito de este trabajo fue estudiar la variabilidad en el contenido fitoquímico y la actividad antidepresiva del extracto hidroalcohólico de hojas de *A. muricata* de las cinco subregiones de Tabasco.

## 8. Pregunta de investigación

¿Los extractos hidroalcohólicos de hojas de *A. muricata* presentarán diferencias significativas en la composición y concentración de sus marcadores químicos; así como en su actividad antidepresiva?



## 9. Hipótesis

Los extractos hidroalcohólicos de hojas de *Annona muricata* L. colectados en las 5 subregiones del estado de Tabasco presentarán diferencias significativas en la composición y concentración de sus marcadores químicos; así como en su actividad antidepresiva.

### Objetivos del proyecto

#### 10. Objetivos generales

- Estudiar la variabilidad de los marcadores químicos en los extractos hidroalcohólicos de hojas *Annona muricata* L. colectadas en las 5 subregiones del estado de Tabasco y su efecto antidepresivo.

#### 11. Objetivos específicos

- Seleccionar el proceso con mayor rendimiento en la obtención de los extractos por maceración y ultrasonido.
- Cuantificar el contenido de polifenoles y flavonoides del extracto etanólico de *A. muricata*.
- Identificar y cuantificar los principales marcadores químicos de *A. muricata* de las diferentes colectas mediante CLAR-DAD.
- Seleccionar 2 extractos con variabilidad significativa en el contenido químico para evaluar su actividad antidepresiva.
- Evaluar el potencial antidepresivo de los extractos con mayor concentración de marcadores químicos.



## 12. Antecedentes

### 12.1 Botánica y etnobotánica de la familia *Annonaceae*.

La familia *Annonaceae* abarca una amplia variedad de árboles, arbustos y trepadoras, mayormente presentes en regiones tropicales y subtropicales. En América tropical, las especies son generalmente arbustivas, mientras que en el viejo mundo predominan las trepadoras. En zonas templadas como América del Norte, el género principal es *Asimina*. En Brasil, se han identificado más de 385 especies, principalmente en la región amazónica. La clasificación de *Annonaceae* ha evolucionado, desde la primera basada en la morfología del fruto hasta clasificaciones más completas que incorporan características de flores y morfología. La familia se destaca por sus características primitivas, siendo considerada por Darwin como "fósiles vivientes" capaces de sobrevivir a extinciones masivas. *Annonaceae* está relacionada con *Magnoliaceae* y otras familias en *Magnoliales*<sup>15</sup>.

Engloba plantas tropicales y subtropicales con una amplia distribución en distintos continentes como Asia, América del Sur y Central, Australia y África. El género *Annona*, uno de los 120 de la familia *Annonaceae*, alberga más de 119 especies de árboles y arbustos, siendo mayormente presentes en América tropical, con más de 105 especies identificadas. *Annona* destaca como el género más estudiado de la familia debido a sus frutos comestibles y propiedades medicinales<sup>15</sup>.

### 12.2 Botánica y etnobotánica de *Annona muricata* especie y género

El género *Annona*, uno de los 120 géneros de la familia *Annonaceae*, alberga más de 119 especies de árboles y arbustos, mayormente presentes en zonas tropicales de América y África. Con más de 105 especies en América tropical, incluyendo 26 endémicas, y 10 especies en África tropical, *Annona* destaca por su amplia distribución en estos entornos<sup>15</sup>.

Este género es crucial debido a sus frutos comestibles y propiedades medicinales. Algunas especies, como la guanábana (*Annona muricata* L.) y la chirimoya, son



económicamente importantes. *Annona* exhibe una rica diversidad fitoquímica, con metabolitos secundarios como acetogeninas, aceites esenciales, alcaloides y flavonoides<sup>15</sup>.

En la medicina tradicional, las especies de *Annona* han sido objeto de amplio uso. Por ejemplo, *A. reticulata*, *A. muricata* y *A. salzmannii* se han destacado por sus efectos antidiarreicos, mientras que *A. cherimola*, *A. squamosa* y *A. reticulata* han sido reconocidas por sus propiedades antiparasitarias. Además, tanto *A. vepretorum* como *A. salzmannii* han demostrado efectos antiinflamatorios. En el ámbito medicinal, *A. purpurea* y *A. reticulata* han sido utilizadas para tratar fiebres, mientras que *A. senegalensis* y *A. muricata* han sido asociadas con efectos anticancerígenos. En la tradición curativa, *A. foetida*, *A. muricata* y *A. glabra* han sido empleadas para tratar afecciones reumáticas, y *A. reticulata*, *A. salzmannii*, *A. foetida* y *A. squamosa* se han destacado en el tratamiento de úlceras. En Indonesia, el jugo de fruta de *A. muricata* se ha utilizado como diurético y para tratar enfermedades hepáticas y la lepra. Además, las hojas de esta especie se aplican en el tratamiento de espasmos, forúnculos y se reconocen por sus propiedades afrodisíacas. A pesar de los informes sobre la toxicidad de las semillas de *A. muricata*, se ha registrado su uso en la farmacopea tradicional mexicana, donde el polvo de las semillas tostadas se emplea como emético y catártico<sup>15</sup>.

Guanábana, científicamente conocida como *Annona muricata*, De acuerdo con su taxonomía, es miembro de la familia *Annonaceae*, como se muestra en la **Figura 5**. Es una especie originaria de América Central y del Sur. Se trata de un árbol de dimensiones modestas, alcanzando entre 5 y 10 metros de altura y un diámetro que oscila entre 15 y 83 centímetros (**Figura 6**). Sus ramas bajas dan lugar a frutos comestibles, ampliamente aprovechados en la industria para la elaboración de dulces y jugos. En términos tradicionales, las partes superiores de la planta han sido empleadas en el tratamiento de diversas enfermedades, desde diabetes hasta malaria, y hoy en día es especialmente popular entre aquellos diagnosticados con cáncer.



**Reino:** Plantae

**Filo:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Magnoliales

**Familia:** *Annonaceae*

**Género:** *Annona*

**Especie:** *Annona muricata* L.

**Figura 5.** - Taxonomía botánica de *Annona muricata*



**Figura 6.-** Hojas de *Annona muricata*.



Todas las partes del árbol de *A. muricata*, así como de otras especies de *Annona* como *A. squamosa* y *A. reticulata*, son extensamente utilizadas en la medicina tradicional para abordar diversas dolencias y enfermedades humanas, especialmente el cáncer y las infecciones parasitarias. La fruta se emplea como un remedio natural para el dolor artrítico, neuralgia, artritis, diarrea, disentería, fiebre, malaria, parásitos, reumatismo, juncos cutáneos y lombrices, y también se consume para estimular la producción de leche materna después del parto. Por otro lado, las hojas se utilizan en el tratamiento de la cistitis, la diabetes, los dolores de cabeza y el insomnio. Se cree que la decocción de las hojas, administrada internamente, presenta efectos antirreumáticos y neurálgicos, mientras que las hojas cocidas se aplican tópicamente para tratar abscesos y reumatismo<sup>7</sup>.

*Annona muricata* exhibe diversas propiedades farmacológicas, incluyendo efectos vasodilatadores, cardiodepresivos, antiespasmódicos, antimutagénicos, anticonvulsivos, antivirales, antidiabéticos y antihipertensivos. Tanto las hojas como las semillas de esta especie han sido minuciosamente analizadas, resultando en la identificación y aislamiento de más de 50 compuestos, entre ellos acetogeninas, alcaloides, terpenoides, saponinas, flavonoides, cumarinas, glucósidos cardíacos, fenoles, taninos y antraquinonas<sup>7</sup>.

### 12.3 Composición química de *Annona muricata*

*Annona muricata*, conocida por sus alcaloides, megaestigmanos, triglicósidos de flavonol, fenólicos, ciclopéptidos y aceites esenciales, destaca como una fuente significativa de compuestos de acetogenina. La fruta de *A. muricata* aporta esenciales minerales como potasio, calcio, sodio, cobre, hierro y magnesio, beneficiando la ingesta diaria de nutrientes<sup>25</sup>.

En la raíz de *A. muricata*, alcaloides como coclaurina, reticulina, argentina, aterosperminina y xilopina han sido identificados. La cáscara de *A. muricata* revela alcaloides como nornuciferina, asimilobina, anonaína e isolaurolina, siendo la xilopina e isocoreximina notables por su actividad anticancerígena. Posee compuestos fenólicos en sus hojas, tales como kaempferol-3-O-glucósido y 1-(4-

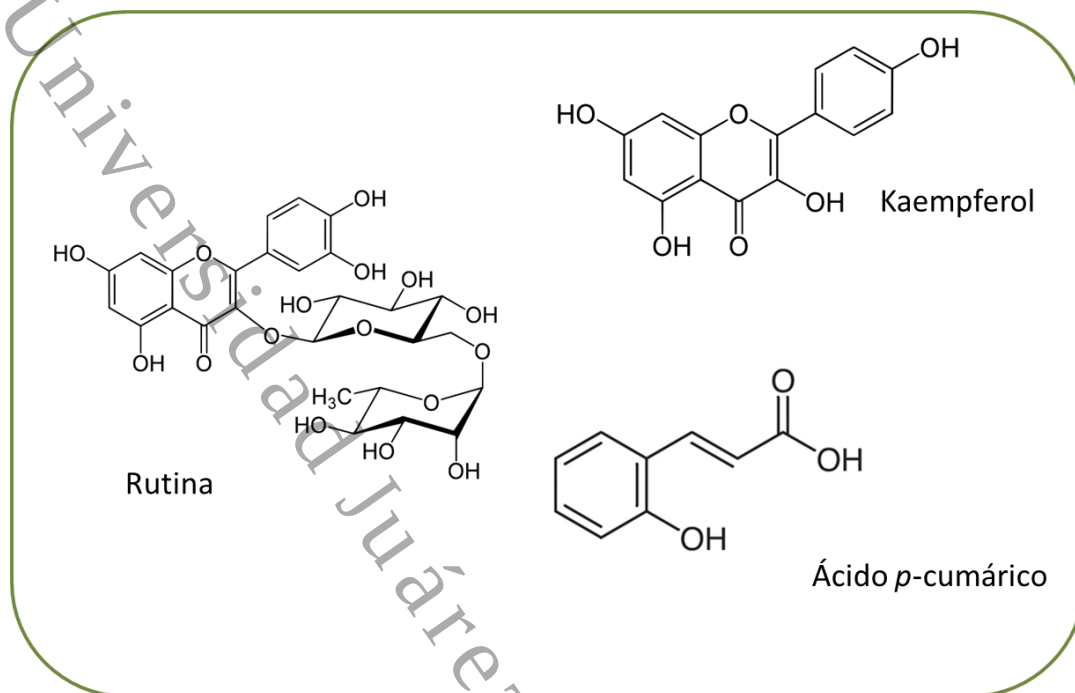


hidroxifenil)-3-fenilpropan-1-ona con propiedades antioxidantes. Polifenoles como kaempferol, procianidinas, catequina y quercetina<sup>25</sup>.

*Annona muricata* presenta una variedad de compuestos, como vitaminas, carotenoides, amidas y ciclopéptidos. Semillas contienen amida Np-cumaroil tiramina y ciclopéptidos. La pulpa del fruto alberga sustancias químicas volátiles, en su mayoría ésteres aromáticos y alifáticos, junto con 80 aceites esenciales en las hojas, derivados de sesquiterpenos<sup>25</sup>.

Las acetogeninas, como annomuricina A, B y C, muricatocina C, cis-G oniotalamicina, muricatacína, arianacina, anonacina-10-ona, cis-Annonacina y Javoricina, son metabolitos secundarios identificados en *A. muricata*<sup>25</sup>, del mismo modo, Abdul Wahab *et al*, 2018 ha reportado que las hojas de *A. muricata* presentan una abundante concentración de acetogeninas anonáceas, que constituyen un grupo distintivo de derivados de ácidos grasos de cadena larga originados de la vía de los policétidos y asociados a la familia *Annonaceae*. Exploraciones adicionales sobre el extracto de hojas de *A. muricata* revelaron la presencia de acetogeninas anonáceas, cuya identificación espectral incluyó compuestos como murihexocina C y muricapentocina<sup>26</sup>.

Como propuesta para los marcadores a identificar en los extractos hidroalcohólicos de *A. muricata* L. se proponen los metabolitos: rutina, ácido *p*-cumárico y kaempferol, los cuales han sido reportados anteriormente para esta especie<sup>27</sup>, y por sí solos han mostrado efectos en el sistema nervioso central<sup>1,28,29</sup>. (Figura 7)



**Figura 7.-** Propuesta de marcadores químicos de interés: rutina, ácido *p*-cumárico y kaempferol. Elaboración propia.



#### 12.4 Reportes de actividad antidepresiva de *Annona muricata*

Un análisis *in vivo* realizado por Mancini *et al*, 2018 reveló que el extracto hidroalcohólico y nanoformulaciones de hojas de *A. muricata* mostró actividad antidepresiva presentar porcentajes de inhibición de la MAO-A entre el 37,6 % y el 45,1 %<sup>12</sup>.

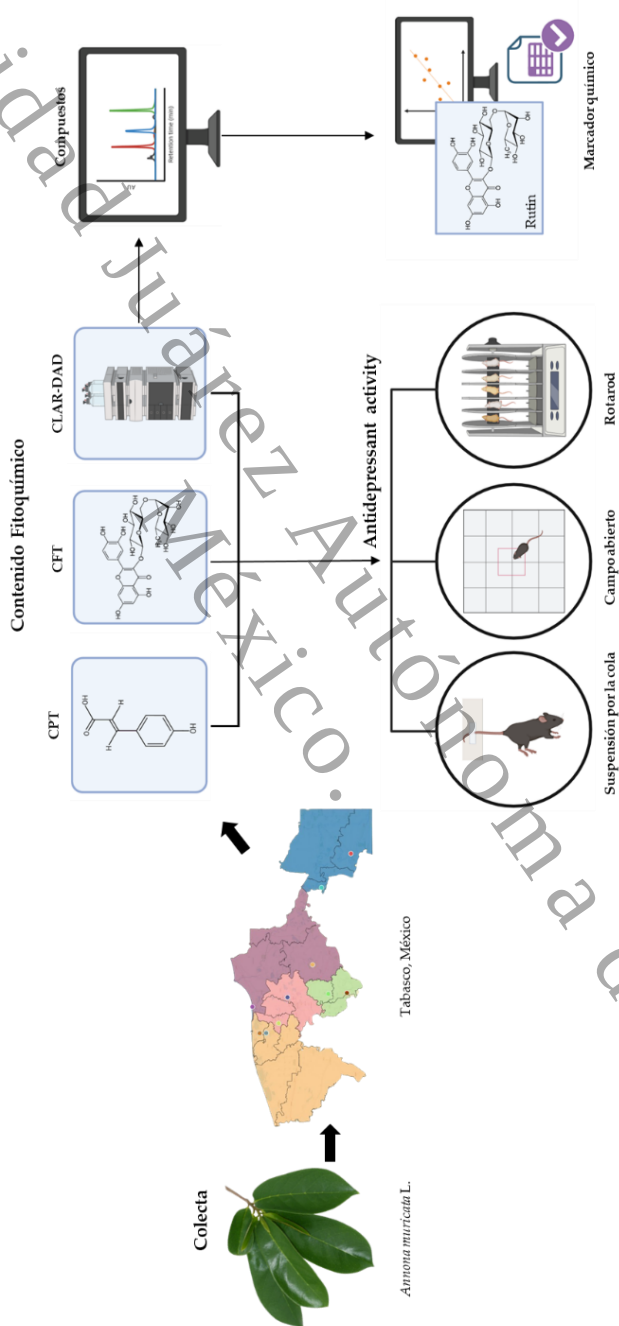
También, se ha determinado la actividad antidepresiva y conductual del extracto etanólico de *Annona muricata* cultivada en Nigeria en ratas Sprague-Dawley en dosis de 50, 150 y 300 mg/kg, utilizando la prueba de campo abierto y natación forzada, presentando actividad antidepresiva al disminuir el tiempo de inmovilidad en la prueba de natación forzada a una dosis de 300 mg/kg, así como una disminución significativa de la locomoción en ratones en la prueba de campo abierto, mostrando un efecto sedante a dosis de 150 y 300 mg/kg<sup>13</sup>; Asimismo, se han aislado tres alcaloides (annonaina, norruciferina y asimilobina) de las semillas de *A. muricata* y han mostrado un efecto agonista no selectivo sobre el receptor 5-HT1A, implicado en la regulación de la actividad del sistema serotoninérgico<sup>14</sup>.

Se ha reportado la actividad antidepresiva y ansiolítica del extracto hidroalcohólico de hojas de *A. muricata* a 0.5 g/kg empleando el método de nado forzado (efecto antidepresivo) y laberinto en cruz (efecto ansiolítico), donde reportaron que el extracto de *A. muricata* no presentó efecto antidepresivo a la dosis evaluada, siendo el tratamiento con el tiempo de inmovilidad más alto (210 seg), mientras que en la prueba de laberinto en cruz elevado el extracto y la fracción alcaloidal ejercieron efecto ansiolítico significativamente superiores tanto en frecuencia (45 y 58%) como en tiempo (45, 52%) de acceso a las zonas abiertas.<sup>30</sup>



### 13. Metodología

Durante el proyecto se llevaron a cabo las actividades descritas en la Figura 8.



**Figura 8.-** Esquema general de la metodología realizada en el proyecto de investigación.



### 13.1 Comparación de métodos de extracción

Para realizar la comparación se obtuvieron 8 extractos por métodos diferentes, se seleccionaron 10g de una muestra de hojas de *A. muricata* previamente seco y molido para cada método y agente extractante, las cuales tuvieron proporciones diferentes de EtOH y H<sub>2</sub>O detallados en la **Tabla 1**, posteriormente se eliminó el disolvente, se filtró y concentró a presión reducida mediante evaporación rotatoria (Buchi R-100, Suiza) y se cuantificaron los contenidos de polifenoles y flavonoides totales, este procedimiento se realizó por triplicado.

**Tabla 3** Condiciones para la realización de comparación de métodos de extracción.

| Clave | Método      | Agente extractante          |
|-------|-------------|-----------------------------|
| 1M    | Macerado    | 100% EtOH                   |
| 2M    | Macerado    | 80-20 EtOH/H <sub>2</sub> O |
| 3M    | Macerado    | 50-50 EtOH/H <sub>2</sub> O |
| 4M    | Macerado    | 100% H <sub>2</sub> O       |
| 1U    | Ultrasonido | 100% EtOH                   |
| 2U    | Ultrasonido | 80-20 EtOH/H <sub>2</sub> O |
| 3U    | Ultrasonido | 50-50 EtOH/H <sub>2</sub> O |
| 4U    | Ultrasonido | 100% H <sub>2</sub> O       |



### 13.2 Material vegetal y extracción de *Annona muricata* L.

Las hojas de *Annona muricata* L se colectaron en las cinco subregiones del estado de Tabasco en marzo-abril de 2023 (**Figura 9**) y se secaron a temperatura ambiente en la oscuridad durante 72 horas, luego se pulverizaron con un molino (Estrella 11539 ROJO). Los extractos se obtuvieron mediante ultrasonido con etanol (Merck, Darmstadt, Alemania); se repitió el procedimiento tres veces para garantizar una extracción completa de la planta, se eliminó el disolvente, se filtró y se concentró a presión reducida mediante evaporación rotatoria (Buchi R-100, Suiza) <sup>31</sup>. Se envió una muestra de cada colecta al herbario de la UJAT para su identificación taxonómica, donde se le asignó un número de referencia (36575). Se obtuvieron un total de 10 extractos, y las etiquetas para su identificación y rendimiento medio se muestran en la **Tabla 2**.



**Figura 9.-** Puntos de colecta en las cinco subregiones de Tabasco, México, para las hojas de *Annona muricata* L.; el mapa se elaboró utilizando QGIS® v. 3.30.3 (Beaverton, Oregón, EE. UU.).



En la **Tabla 2** se muestran los datos correspondientes al número de muestras, subregión, geolocalización y rendimiento de cada una de las muestras.

**Tabla 4.-** Datos de los puntos de colecta de *A. muricata* en las 5 subregiones de Tabasco

| Número de extracto | Subregion   | Municipio: Puntos de colecta | Coordenadas geográficas*     | Rendimiento % |
|--------------------|-------------|------------------------------|------------------------------|---------------|
| 1a                 | "Centro"    | Centro                       | 18°05'16"N<br>92°51'16"W     | 15.3 ± 0.5    |
| 1b                 |             | Jalpa de Mendez              | 18°10'30.9"N<br>93°06'42.3"W | 18.7 ± 1.8    |
| 2a                 | "Chontalpa" | Comalcalco                   | 18°17'52"N<br>93°12'30"W     | 4.1 ± 0.3     |
| 2b                 |             | Paraíso                      | 18°21'43.5"N<br>93°12'35.8"W | 15.7 ± 1.6    |
| 3a                 | "Sierra"    | Jalapa                       | 17°41'00.8"N<br>92°49'09.9"W | 14.2 ± 1.2    |
| 3b                 |             | Tacotalpa                    | 17°29'57.9"N<br>92°48'40.1"W | 11.2 ± 0.6    |
| 4a                 | "Pantanos"  | Centla                       | 18°26'02.9"N<br>92°56'55.7"W | 20.7 ± 1.2    |
| 4b                 |             | Macuspana                    | 17°50'20"N<br>92°31'53"W     | 18.34 ± 1.8   |
| 5a                 | "Ríos"      | Emiliano Zapata              | 17°45'02.7"N<br>91°46'02.3"W | 12.8 ± 1.9    |
| 5b                 |             | Tenosique                    | 17°27'39.2"N<br>91°25'51.8"W | 22.1 ± 0.9    |

\* Datos obtenidos por Google Maps®, Mountain View, CA, USA



### 13.3 Contenido de polifenoles de los extractos de *Annona muricata* L.

La determinación del contenido total de polifenoles (CPT) se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu<sup>17</sup>. Las mediciones de absorbancia se realizaron a 760 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis GENESYS™ 10 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA), empleando ácido gálico como reactivo de referencia. El estándar utilizado fue ácido gálico (1,0, 2,0, 4,0, 6,0 y 7,0 µg/mL; 398225, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), y cada ensayo se realizó por triplicado. La curva tuvo un  $R^2$  de 0,9991 (**Figura A1**). El contenido de polifenoles se expresó en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (GAE)/g para todas las muestras.

### 13.4 Contenido total de flavonoides de los extractos hidroalcohólicos de *Annona muricata* L.

La determinación del contenido total de flavonoides (CFT) se realizó utilizando un método colorimétrico descrito por Zhu et al., 2010. Las mediciones de absorbancia se realizaron a 510 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis GENESYS™ 10 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). El estándar utilizado fue rutina (10,0, 20,0, 30,0, 40,0 y 50,0 µg/mL; 78095, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), y cada ensayo se realizó por triplicado. La curva tuvo un  $R^2$  de 0,9994 (**Figura A2**)<sup>18</sup>. El contenido de flavonoides se expresó en mg equivalentes de rutina por gramo de extracto (RE)/g para todas las muestras, en la **Figura 10** se muestra una imagen del equipo empleado.



**Figura 10.-** Equipo UV-Vis empleado en el proyecto.



### 13.5 Análisis CLAR de los extractos hidroalcohólicos de *Annona muricata* L.

El análisis CLAR-DAD de los extractos se realizó utilizando el método descrito por Gallegos *et al.*, 2023. Las mediciones de absorbancia se realizaron a 360 y 318 nm para rutina y ácido *p*-cumárico, respectivamente, utilizando un módulo de separación Waters 2695 con un detector de matriz de fotodiodos Waters 2695 (**Figura 11**) y el software Empower Pro (Waters Corporation, Milford, MA, EUA)<sup>32</sup>. La identificación preliminar de los picos se realizó comparando las bandas características con estándares conocidos y datos de la literatura.

### 13.6 Cuantificación de metabolitos secundarios

La cuantificación de rutina y el ácido *p*-cumárico se realizó utilizando curvas de calibración de patrones externos. Cada curva de calibración se construyó inyectando 50 µl de diluciones seriadas de rutina (Sigma-Aldrich, Spruce Street, Saint Louis) y ácido *p*-cumárico (Sigma-Aldrich, Spruce Street, Saint Louis); todos los extractos y estándares se disolvieron en MeOH (12, 25, 50, 100 y 200 µg/mL). Las curvas de calibración se basaron en las áreas de pico de los cromatogramas CLAR y tuvieron un  $R^2$  de 0,9991 y 0,9999, respectivamente. Los resultados se expresaron en mg por g de extracto<sup>31</sup>.



**Figura 11.-** Equipo CLAR empleado en el proyecto.



### 13.7 Actividad antidepresiva

#### Animales de experimentación

Se utilizaron ratones macho de la cepa CF1 con un peso de  $28 \pm 5$  g (Bioterio del Centro de Investigación Biomédica Del Sur CIBIS-IMSS). Se formaron grupos de seis animales y se mantuvieron en condiciones de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad a 25 °C, con comida y agua disponibles ad libitum. Los animales fueron manejados de acuerdo con las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (NOM-062-Z00-1999). El Comité Local de Ética e Investigación en Salud aprobó el protocolo experimental (aprobación nº R-CICUAL-2025-3). Se utilizó Tween-20 (1%) como vehículo en el que se disolvieron todos los tratamientos.

#### Diseño experimental

Los extractos etanólicos **4a** y **5a** se administraron a una dosis de 200 mg/kg. Además, se ha añadido un grupo de vehículos (VEH; Thermo Scientific, Rockford, IL 61101 EE. UU.) que recibió un 1% de Tween 20 y un grupo de control positivo que recibió 15 mg/kg de fluoxetina (FLU; Psi-cofarma, Deleg. Tlalpan, D. F. 14050 MX). Todos los tratamientos se administraron por vía oral y se evaluaron en las pruebas de suspensión de cola (SC), campo abierto (CA) y Rotarod (RT). Todos los tratamientos se administraron 24 h, 18 h y 1 h antes de la prueba.

##### 13.7.1 Prueba de suspensión por la cola (SC)

Esta prueba consistió en asegurar las colas de los ratones a un soporte fijo a 50 cm del suelo, para que no pudieran escapar o apoyarse en las superficies cercanas. Esto requería una caja, cinta, una barra de suspensión, un cronómetro, un dispositivo de video, un generador de ruido blanco, productos de limpieza y, opcionalmente, tubos de policarbonato (**Figura 12A**). El tiempo (en segundos) que los ratones permanecieron inmóviles se registró utilizando un cronómetro (Heathrow, EE. UU.)<sup>10</sup>.



### 13.7.2 Prueba de campo abierto (CA)

Los animales fueron colocados en un campo en forma de cuadrícula con paredes acrílicas transparentes (30 cm x 30 cm x 15 cm) divididas en nueve cuadrados de igual área durante 5 minutos, observando su actividad exploratoria (**Figura 12B**). Los parámetros observados fueron el número de cuadrados cruzados con los cuatro catetos (Cruces totales: CT) y la frecuencia de elevaciones verticales (Elevaciones verticales: EV)<sup>8</sup>.

### 13.7.3 Prueba de Rotarod (RT)

Los animales se colocaron en la pista giratoria del Rotarod (Panlab, Barcelona 08940, ES) y el temporizador se configuró en 60 segundos a 4, 10 y 40 rpm. Cuando el animal cayó de manera segura sobre su propia pista, el tiempo de latencia hasta la caída (en segundos) y la velocidad de rotación se registraron automáticamente (**Figura 12C**)<sup>10</sup>.



**Figura 12.-** Pruebas conductuales para la determinación de la actividad antidepresiva del extracto etanólico de *A. muricata*; A) Prueba de Suspensión por la Cola; B) Prueba de Campo Abierto; C) Prueba de Rotarod.



### 13.8 Análisis estadístico

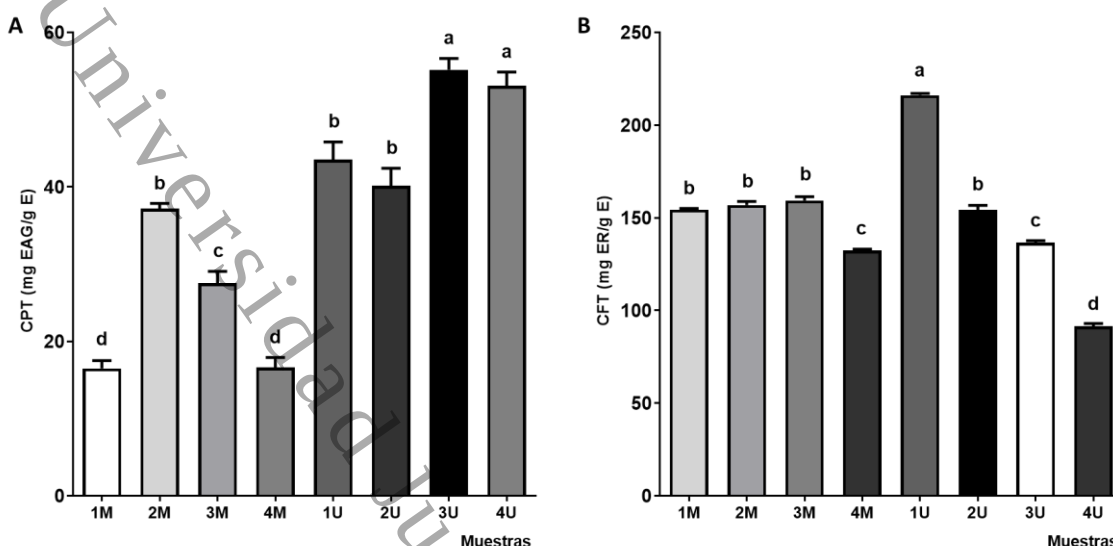
Los resultados de todos los experimentos se expresaron como la media  $\pm$  error estándar. Los análisis estadísticos se realizaron mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA); para CPT, CFT y RC se realizó una prueba de Tukey post hoc con un nivel de significancia del 95% ( $*p < 0,05$ ); *Para los modelos biológicos, se realizó una prueba de Dunnet post hoc con un nivel de significancia del 95% ( $*p < 0.05$ ) utilizando el software GraphPad Prism versión 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).*



## 14. Resultados

### 14.1 Comparación de métodos de extracción

Los resultados de la prueba de la cuantificación de CPT y CFT para la comparación de método de extracción y agente extractante se muestran en la **Figura 13**. Derivado de la prueba de CPT por el método de Folin-Ciocalteu mostrado en la **Figura 13A**, se observó que todas las muestras evaluadas presentaron variabilidad en su contenido. Las muestras 3U y 4U presentaron la mayor concentración de polifenoles totales sin diferencias significativas entre ellas ( $55.18 \pm 1.45$ ;  $53.11 \pm 1.77$  mg Eq AGE/ g de extracto, respectivamente), seguido de las muestras 2M, 1U y 2U los cuales presentaron la segunda mayor concentración de PT sin diferencia significativa entre ellas ( $37.15 \pm 0.71$ ;  $43.54 \pm 2.28$ ;  $40.14$  Eq AGE/ g de extracto, respectivamente), la muestra 3M presentó diferencia significativa frente a las demás muestras con una concentración de  $27.52 \pm 1.52$  Eq AGE/ g de extracto, mientras que 1M y 4M mostraron la menor concentración ( $16.48 \pm 1.02$ ;  $16.58 \pm 1.31$  mg Eq AGE/ g de extracto, respectivamente) sin diferencias significativas. La cuantificación del CFT de las muestras de *A. muricata* se observa en la **Figura 13B**, la muestra 1U fue el extracto que mostró el mayor CFT ( $216.15 \pm 0.98$  mg Eq RE/ g de extracto), presentando diferencias significativas respecto a las demás muestras, seguido de las muestras 1M, 2M, 3M y 2U los cuales presentaron la segunda mayor concentración de FT sin diferencia significativa entre ellas ( $154.44 \pm 0.61$ ;  $156.92 \pm 1.86$ ;  $259.39 \pm 1.96$ ;  $154.15 \pm 2.57$  mg Eq RE/ g de extracto, respectivamente). Las muestras 4M y 3U presentaron la tercera concentración más alta de FT ( $132.25 \pm 0.78$ ;  $136.63$  mg Eq RE/ g de extracto, respectivamente) sin diferencia significativa, mientras que 4U presentó el menor CFT ( $91.44 \pm 1.52$  mg Eq RE/ g de extracto), presentando diferencias significativas con respecto a los demás extractos. El agente extractante que permite obtener la mayor cantidad de flavonoides es 100% EtOH ultrasonido (1U).



**Figura 13.-** Contenido de CPT (A) y CFT (B) de los extractos hidroalcohólicos de *A. muricata* obtenidos por macerado (1M, 2M, 3M y 4M) y ultrasonido (1U, 2U, 3U y 4U) \*.

\*CPT: Contenido de Polifenoles Totales; CFT: Contenido de Flavonoides Totales del extracto etanólico de *A. muricata*; **1M;1U**= 100% EtOH, **2M;2U**= 80/20 EtOH/H<sub>2</sub>O, **3M;3U**=50/50 EtOH/H<sub>2</sub>O, **4M;4U**= 100% H<sub>2</sub>O. Los datos representan la media  $\pm$  error estándar ( $n = 3$ ) para cada extracto. La significación estadística se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey post hoc. Las barras con la misma letra (a-h) no representan diferencias significativas en  $p < 0.05$ .

#### 14.2 Contenido de polifenoles totales (CPT) y contenido de flavonoides totales (CFT) del extracto etanólico de *Annona muricata*.

Los resultados de la cuantificación del CPT y CFT del extracto etanólico de *A. muricata* se presentan en la **Tabla 3**. En el caso de CPT, la muestra **2b** tuvo el mayor contenido ( $32.71 \pm 0.06$  mg AGE Eq/g de extracto), seguida de la muestra **4b** ( $29.52 \pm 1.39$  mg AGE Eq/g extracto), que difirieron significativamente entre sí y del resto de las muestras. Por otro lado, las muestras **2a**, **3b** y **5a** tuvieron el TPC más bajo ( $10.27 \pm 0.60$ ;  $10.84 \pm 0.68$ ;  $9.44 \pm 1.08$  mg Eq AGE/g de extracto, respectivamente), significativamente diferente del resto de las muestras. En cuanto al CFT, el extracto **5a** mostró el mayor contenido ( $236.01 \pm 2.20$  mg RE Eq/g de extracto), seguido del **4a** ( $151.27 \pm 1.61$  mg RE Eq/g de extracto), que difirieron significativamente entre sí y con el resto de las muestras. Por otro lado, el extracto



**2a** tuvo el CFT más bajo ( $70.39 \pm 1.59$  mg RE Eq/g de extracto).

**Tabla 3.-** Comparación del CPT y CFT del extracto etanólico de *A. muricata*\*

| Extracto | TPC                        | TFC                       |
|----------|----------------------------|---------------------------|
|          | (mg Eq AGE/ g de extracto) | (mg Eq RE/ g de extracto) |
| 1a       | $18.67 \pm 0.48^d$         | $142.72 \pm 1.84^c$       |
| 1b       | $19.02 \pm 0.29^d$         | $127 \pm 2.61^e$          |
| 2a       | $10.27 \pm 0.60^{e,f}$     | $70.39 \pm 1.59^h$        |
| 2b       | $32.71 \pm 0.06^a$         | $114.18 \pm 2.19^f$       |
| 3a       | $12.83 \pm 0.37^e$         | $88.05 \pm 2.24^g$        |
| 3b       | $10.84 \pm 0.68^{e,f}$     | $124 \pm 2.48^e$          |
| 4a       | $22.96 \pm 0.32^{c,d}$     | $151.27 \pm 1.61^b$       |
| 4b       | $29.52 \pm 1.39^b$         | $131.83 \pm 2.74^d$       |
| 5a       | $9.44 \pm 1.08^f$          | $236.01 \pm 2.20^a$       |
| 5b       | $20.44 \pm 0.10^{c,d}$     | $122.51 \pm 1.23^e$       |

\***CPT**: Contenido de Polifenoles Totales; **CFT**: Contenido de Flavonoides Totales del extracto etanólico de *A. muricata*; **1a**: Centro, **1b**: Jalpa de Méndez, **2a**: Comalcalco, **2b**: Paraíso, **3a**: Jalapa, **3b**: Tacotalpa, **4a**: Centla, **4b**: Macuspana, **5a**: Emiliano Zapata, **5b**: Tenosique. Los datos representan la media  $\pm$  error estándar ( $n = 3$ ) para cada extracto. La significación estadística se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey post hoc. Las barras con la misma letra (a-h) no representan diferencias significativas en  $p < 0.05$ .



### 14.3 Caracterización fitoquímica preliminar del contenido metabólico de *Annona muricata* mediante CLAR-DAD.

El análisis cromatográfico del extracto etanólico de *A. muricata* permitió la identificación de 7 compuestos con base en los tiempos de retención y las bandas de absorción en los espectros UV-Vis (**Figuras A3-A12**) de los picos mostrados en la **Tabla 4**, comparando dichos parámetros con estándares conocidos y datos de la literatura, y que se encuentran agrupados en un tiempo de retención ( $t_R$ ) de 8.48 a 9.68 min, los cuales se identificaron de la siguiente manera: El pico **1** con un  $t_R$  de 8,48 mostró bandas de absorción en  $\lambda_{max} = 284$  y  $312,5$  nm, correspondientes a un derivado de catequina<sup>27,33</sup>. Los picos **2** y **3** se identificaron como ácido cumárico ( $t_R$  de 8,73 min) y rutina ( $t_R$  de 8,85 min); las bandas de absorción de ambos picos en  $\lambda_{max} = 220,4$ ;  $311,3$  nm y  $256,9$ ;  $356,6$  nm<sup>34</sup>, respectivamente, coincidieron con los estándares analizados en las mismas condiciones experimentales. El pico **4** con un  $t_R$  de 9.05 mostró bandas de absorción en  $\lambda_{max} = 265.1$  y  $343.4$  nm, correspondientes a un derivado glucósido de luteolina reportado para esta especie<sup>27</sup>. En el caso del pico **5**, con un  $t_R$  de 9,15, las bandas de absorción a  $\lambda_{max} = 266,3$  y  $344,6$  nm coincidieron con el estándar de glucósido de luteolina analizado en las mismas condiciones experimentales y estuvo en buen acuerdo con las reportadas en la literatura<sup>34</sup>. Los picos **6** y **7** se identificaron como ácido *p*-cumárico y un derivado del ácido cumárico con  $t_R$  de 9,41 y 9,68 min, respectivamente. Las bandas de absorción de pico **6**  $\lambda_{max} = 226.3$  y  $310.1$  nm coincidieron con el estándar bajo las mismas condiciones experimentales y lo reportado en la literatura<sup>35</sup>, mientras que las de pico **7** ( $\lambda_{max} = 236.8$  y  $326.7$  nm), estuvieron en buen acuerdo con las reportadas en la literatura<sup>27,36</sup>. Cabe mencionar que los picos **1-5** se identificaron en todas las muestras analizadas, mientras que los picos **6** y **7** estuvieron presentes solo en la muestra de una subregión (**5a**), como se muestra en la **Tabla 4**.



**Tabla 4.-** Perfil fitoquímico preliminar mediante análisis CLAR-DAD del extracto etanólico de *Annona muricata*.

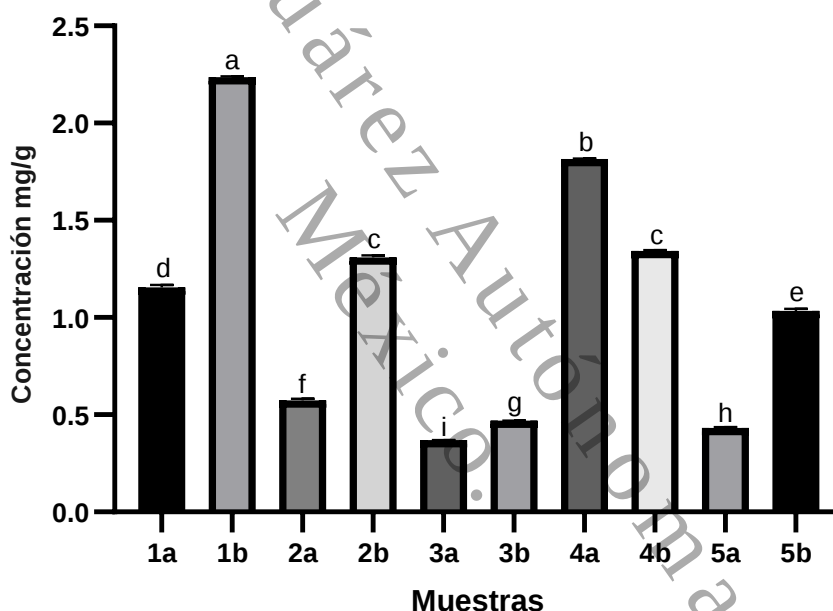
| Pico | Tiempo de retención (min) | Banda de absorción (nm) | Extracto (s)*                                  | Afinidad al compuesto**            | Ref.          |
|------|---------------------------|-------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------|---------------|
| 1    | 8.48                      | 284.0,<br>312.5         | 1a, 1b, 2a ,2b,<br>3a , 3b 4a , 4b,<br>5a , 5b | Derivado de catequina              | [19, 20]      |
| 2    | 8.73                      | 220.4,<br>311.3         | 1a, 2b, 2a ,2b,<br>3a , 3b 4a , 4b,<br>5a , 5b | Ácido cumárico                     | Estándar      |
| 3    | 8.85                      | 256.9,<br>356.6         | 1a, 2b, 2a ,2b,<br>3a , 3b 4a , 4b,<br>5a , 5b | Rutina                             | Estándar [21] |
| 4    | 9.05                      | 265.1,<br>343.4         | 1a, 2b, 2a ,2b,<br>3a , 3b 4a , 4b,<br>5a , 5b | Derivado de glucósido de luteolina | [19]          |
| 5    | 9.15                      | 266.3,<br>344.6         | 1a, 2b, 2a ,2b,<br>3a , 3b 4a , 4b,<br>5a , 5b | Glucósido de luteolina             | Estándar [21] |
| 6    | 9.41                      | 226.3,<br>310.1         | 5a                                             | Ácido <i>p</i> -Cumárico           | Estándar [22] |
| 7    | 9.68                      | 236.8,<br>326.7         | 5a                                             | Derivado de ácido cumárico         | [19, 23]      |

\***1a:** Centro, **1b:** Jalpa de Mendez, **2a:** Comalcalco, **2b:** Paraíso, **3a:** Jalapa, **3b:** Tacotalpa, **4a:** Centla, **4b:** Macuspana, **5a:** Emiliano Zapata, **5b:** Tenosique. \*\*Los compuestos fueron sugeridos por una comparación preliminar del tiempo de retención ( $t_R$ ) y las bandas UV-Vis con estándares y datos de la literatura.



#### 14.4 Cuantificación del contenido de rutina (CR)

En la **Figura 14** se muestra la concentración del contenido de rutina del extracto etanólico de *A. muricata*, dónde se observó que **1b** presentó el mayor contenido de este metabolito ( $2.23 \pm 0.003$  mg/g), seguido de los extractos **4a, 2b, 4b, 1a y 5b** ( $1.81 \pm 0.002$ ,  $1.30 \pm 0.010$ ,  $1.34 \pm 0.004$ ,  $1.15 \pm 0.012$ ,  $1.03 \pm 0.009$  mg/g, respectivamente); por otro lado, los extractos **3a, 3b, 3a y 5a** presentaron el menor CR ( $0.57 \pm 0.008$ ,  $0.46 \pm 0.001$ ,  $0.36 \pm 0.007$ ,  $0.43 \pm 0.003$  mg/g, respectivamente). Todos los extractos, a excepción de **2b** y **4b**, presentaron diferencias significativas entre ellas.



**Figura 14.-** Comparación del contenido de rutina en mg/g del extracto de *A. muricata* de las 5 subregiones de Tabasco.

**1a:** Centro, **1b:** Jalpa de Méndez, **2a:** Comalcalco, **2b:** Paraíso, **3a:** Jalapa, **3b:** Tacotalpa, **4a:** Centla, **4b:** Macuspana, **5a:** Emiliano Zapata, **5b:** Tenosique. Los datos representan la media  $\pm$  error estándar ( $n = 3$ ) de cada extracto. La significancia estadística se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey post hoc. Las barras con la misma letra (a – i) no representan diferencias significativas en  $p < 0.05$ .

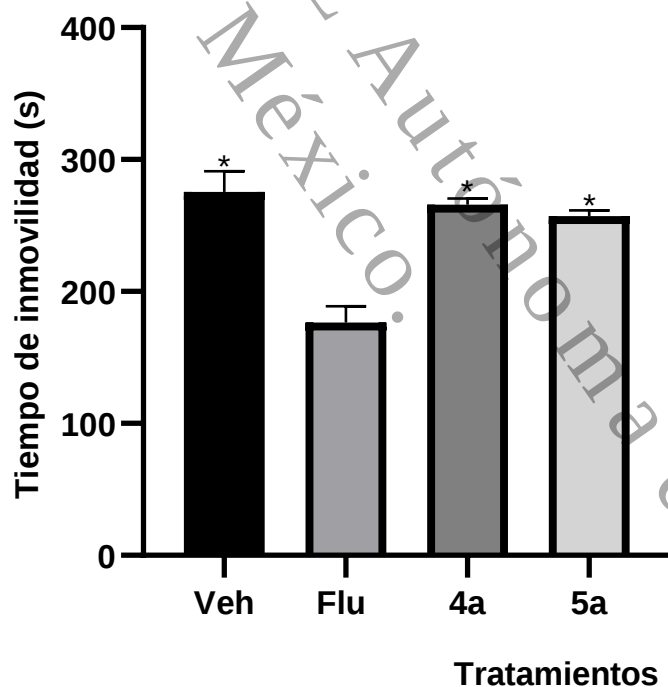


## 14.5 Actividad antidepresiva

Para la actividad antidepresiva se seleccionaron dos extractos: el extracto **4a**, que tenía uno de los mayores contenidos de CPT y CR, y el extracto **5a**, que tenía el menor contenido de estos grupos metabólicos combinado con el mayor CFT, ambos con buenos rendimientos de extracción.

### 14.5.1 Prueba de suspensión por la cola (SC)

Los resultados de la prueba de suspensión por la cola de los extractos etanólicos **4a** y **5a** de *A. muricata* se muestran en la **Figura 15**, los cuales no mostraron actividad antidepresiva a una dosis de 200 mg/kg ( $265.86 \pm 4.40$  seg y  $257.28 \pm 3.91$  seg, respectivamente). Sin embargo, el control positivo (Flu) mostró actividad antidepresiva ( $176.48 \pm 12.21$  segundos).



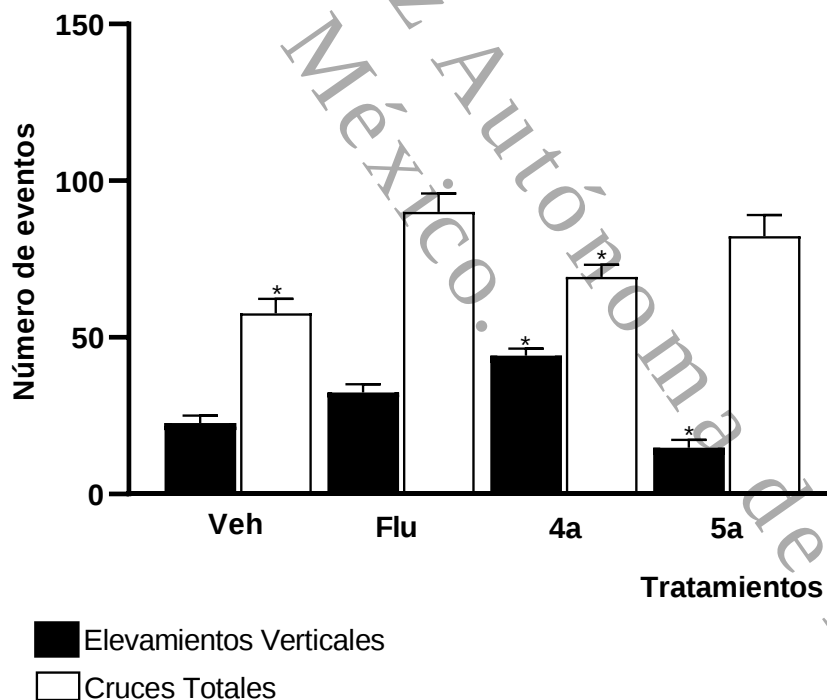
**Figura 15.-** Tiempo de inmovilidad en segundos de los tratamientos en la prueba de SC.

**Veh:** Vehículo Tween 20; **Flu:** Fluoxetina 15 mg/kg; **4a:** *A. muricata* Centla 200 mg/kg; **5a:** *A. muricata* Emiliano Zapata 200 mg/kg. La significancia estadística se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Dunnet post hoc. Las barras marcadas con un asterisco (\*) representan diferencias significativas en  $p < 0,05$ .



### 14.5.2 Prueba de campo abierto (CA)

El número de eventos en CA se muestra en la **Figura 16**, donde **5a** ( $79,38 \pm 6,95$ ) aumentó el número de eventos en CT similar a Flu ( $90,00 \pm 5,98$ ), sin diferencias significativas entre ellos, aumentando la actividad motora espontánea de los ratones, mientras que **Veh** ( $57,71 \pm 4,65$ ) y **4a** ( $73,37 \pm 5,68$ ) disminuyeron este parámetro, mostrando diferencias significativas en comparación con **Flu**. En el caso de EV, el tratamiento **4a** ( $42,62 \pm 2,71$ ) mostró un aumento en el número de eventos en comparación con el **grupo Flu** ( $32,43 \pm 2,66$ ), presentando diferencias significativas entre ellos y aumentando el tiempo de EV, lo que sugiere que **4a** genera un potencial efecto ansiogénico; en contraste, **5a** disminuyó este parámetro en comparación con **Flu**, con diferencias significativas entre ambos; Estos resultados permiten considerar un potencial efecto ansiolítico para **5a** ( $17,3 \pm 3,29$ ).



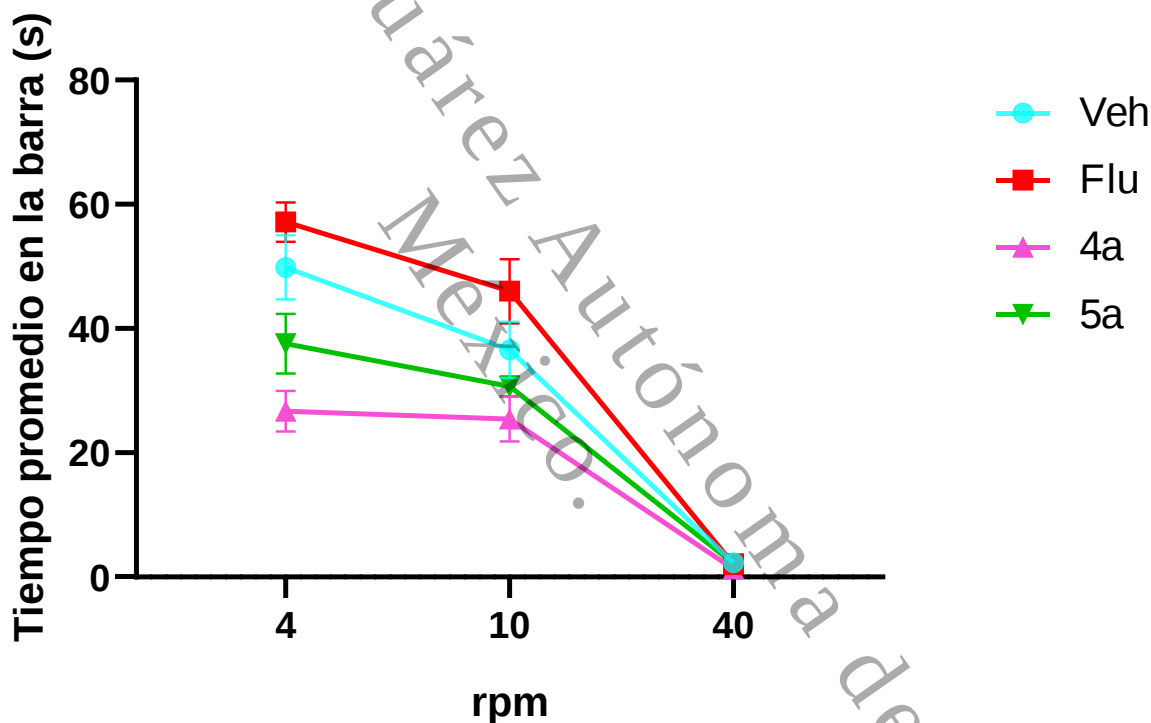
**Figura 16.-** Número de eventos en CA de los tratamientos de *A. muricata*.

**Veh:** Vehículo Tween 20; **Flu:** Fluoxetina 15 mg/kg; **4a:** *A. muricata* Centla 200 mg/kg; **5a:** *A. muricata* Emiliano Zapata 200 mg/kg. La significancia estadística se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Dunnet post hoc. Las barras marcadas con un asterisco (\*) representan diferencias significativas en  $p < 0,05$ .



### 14.5.3 Prueba de rotarod (RT)

En esta prueba (**Figura 17**), los tratamientos **4a** (4 rpm;  $26.71 \pm 1.14$  seg; 10 rpm;  $25.42 \pm 1.27$  seg; 40 rpm;  $1.2 \pm 0.17$  seg) y **5a** (4 rpm;  $37.57 \pm 1.6$  seg; 10 rpm;  $30.71 \pm 0.56$  seg; 40 rpm;  $2.14 \pm 0.51$  seg) mostraron una tendencia a modificar la coordinación de los animales disminuyendo el tiempo que los ratones permanecían en la barra horizontal a todas las velocidades evaluadas. mostrando diferencias significativas a 4 y 10 rpm en comparación con **Flu** en ambos extractos (**Flu**: 4 rpm;  $57.14 \pm 1.20$ , 10 rpm;  $46 \pm 1.95$ , 40 rpm;  $2 \pm 0.53$ ; **Veh**: 4 rpm;  $49.85 \pm 1.95$ , 10 rpm;  $36.57 \pm 1.71$ , 40 rpm;  $2.28 \pm 0.47$ ).



**Figura 17.-** Tiempo promedio en la barra en RT para tratamientos de *A. muricata*\*.

\***Veh**: Vehículo entre 20; **Flu**: Fluoxetina 15 mg/kg; **4a**: *A. muricata* Centla 200 mg/kg; **5a**: *A. muricata* Emiliano Zapata 200 mg/kg. La significancia estadística se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Dunnet post hoc. Las barras marcadas con un asterisco (\*) representan diferencias significativas en  $p < 0,05$ .



## 15. Discusión

### 15.1 Comparación de métodos de extracción

Los extractos obtenidos por ultrasonido presentaron el mayor CPT, con una tendencia a aumentar el contenido de estos metabolitos al aumentar la polaridad de la mezcla extractante, por otro lado, los extractos obtenidos por macerado presentaron un menor contenido, mostrando una tendencia a aumentar el contenido de este grupo de metabólico al disminuir la polaridad de la mezcla extractante, cabe destacar que 2M es el único extracto de macerado que alcanza un contenido similar a los de ultrasonido. La mezcla extractante EtOH/H<sub>2</sub>O (50/50) de 3U y H<sub>2</sub>O (100%) de 4U son las más eficaces para obtener la mayor concentración de compuestos del tipo polifenol. En el caso del CFT, se observa que todas las muestras evaluadas presentaron un alto contenido de flavonoides totales en comparación con el CPT, las 4 muestras obtenidas por ultrasonido muestran una tendencia a la igualdad en la concentración de este metabolito secundario, donde solo 4M difiere del resto de las muestras, por otro lado, los extractos obtenidos por ultrasonido muestran una tendencia a disminuir el CFT conforme se aumentando la polaridad de la mezcla extractante.

La mezcla extractante elegida para la obtención de los extractos de las 5 subregiones del estado de Tabasco fue 1U (100% EtOH), ya que permitió extraer el mayor contenido de flavonoides, y fue la segunda mezcla extractante que consiguió extraer el mayor contenido de polifenoles, dando esta preferencia debido a que la mayoría de los marcadores químicos propuestos en el proyecto son del tipo flavonoides (rutina y kaempferol) y uno del tipo polifenol (ácido *p*-cumárico).

### 15.2 Contenido de polifenoles totales y contenido de flavonoides totales del extracto etanólico de *A. muricata*.

Los resultados para CPT y CFT no presentaron una tendencia en cuanto a la subregión de donde provinieron las muestras, como lo mostraron las que tuvieron mayor contenido en ambas pruebas. En el caso del CPT, el extracto con mayor contenido fue de la subregión de Chontalpa (**2b**), mientras que la muestra **2a** de la misma subregión tuvo el menor CFT, y la muestra **5a** de la región de Ríos tuvo el



mayor CFT y el menor CPT. Estos hallazgos son consistentes con los reportados por Montejó *et al.*, 2023, quienes reportan un CFT de entre 73.48 y 592.70 mg Eq R/g E para las subregiones de Ríos, Centro y Chontalpa, en comparación con los hallazgos de Grijalva-Verdugo *et al.*, 2022, quienes reportan un CPT en hojas de *A. muricata* de Chiapas y Nayarit de entre  $0.182 \pm 0.020$  y  $0.235 \pm 0.012$  mg Eq AGE/g E. Las hojas de este estudio mostraron un CPT más alto. Asimismo, una variación en el contenido de polifenoles de las especies colectadas en diferentes subregiones puede afectar la capacidad antioxidante de los preparados herbolarios empleados en la medicina tradicional<sup>27,37</sup>.

### 15.3 Caracterización fitoquímica preliminar del contenido metabólico de *A. muricata* empleando CLAR-DAD.

El perfil fitoquímico preliminar obtenido por CLAR-DAD permitió identificar siete compuestos, entre ellos rutina, ácido *p*-cumárico, glucósido de luteolina y derivados de catequina. Si bien cinco de estos compuestos estuvieron presentes en todas las subregiones, el ácido *p*-cumárico y su derivado fueron detectados en el extracto **5a** proveniente de la subregion de Ríos, mientras que en el extracto **5b** no se detectaron, en el caso de ácido *p*-cumárico se cuantificó mostrando una concentración de  $0.693 \pm 0.002$  mg/g, estos hallazgos ponen manifiesto la variabilidad en los marcadores químicos presentes en los extractos analizados en el presente estudio; en este sentido estos resultados son congruentes con la variabilidad fitoquímica descrita en otras annonáceas<sup>4,15,38</sup>.

### 15.4 Cuantificación de metabolitos secundarios

Con base en el perfil fitoquímico preliminar, se eligió a rutina como marcador químico porque cumple con las características para este propósito<sup>3</sup>, y se cuantificó su contenido en todos los extractos de las subregiones de Tabasco. Los resultados mostraron una variabilidad significativa entre las diferentes áreas de muestreo. Sin embargo, las muestras **1b** (subregión Centro) y **4b** (subregión Pantanos) presentaron el mayor contenido; en contraste, las muestras **5a** (subregión Ríos) y **3a** (subregión Sierra) mostraron la menor concentración de este marcador químico, mientras que los extractos **2b** y **4b** de dos subregiones diferentes, Chontalpa y



Pantanos, mostraron similitud en el CR. Algunos estudios informan que el contenido de este flavonoide puede ser modulado por varios factores ambientales<sup>39,40</sup>. Por lo tanto, identificar áreas donde un marcador químico de una especie tiene el mayor contenido y, con un interés particular debido a su valioso potencial terapéutico, puede ser una estrategia útil para desarrollar preparaciones más efectivas y estrategias de orientación para el cultivo de esta especie.

### 15.5 Prueba de suspensión por la cola (SC)

La evaluación antidepresiva realizada en este trabajo mostró que los extractos evaluados (**4a** y **5a**) no presentaron actividad antidepresiva, estos resultados contrastan con estudios previos en los que emplearon el modelo de natación forzada y reportaron una disminución significativa del tiempo de inmovilidad en un extracto etanólico de *A. muricata* a una dosis de 300 mg/kg, ejerciendo actividad antidepresiva<sup>13</sup>. De manera similar, otros trabajos han descrito actividad inhibitoria sobre la enzima MAO-A y efectos sobre el sistema serotoninérgico<sup>12,14</sup>. Estas diferencias entre las actividades reportadas previamente en la literatura y los resultados de este proyecto podrían atribuirse a dos factores principales: la dosis administrada y la composición fitoquímica específica de los extractos.

### 15.6 Prueba de campo abierto (CA)

En el caso del potencial efecto ansiogénico de **4a**, podemos destacar que, aunque este extracto mostró los CPT y CR más altos, estos no fueron suficientes para generar un efecto ansiolítico, donde según diversos reportes, se ha demostrado que para tener un efecto ansiolítico se necesita una concentración mayor a la reportada en este trabajo para el extracto **4a**<sup>28,41-43</sup>. Por el contrario, el potencial efecto ansiolítico mostrado en **5a** podría estar relacionado con su mayor CFT y, en particular, con los flavonoides identificados en este extracto, como la rutina, el glucósido de luteolina y su derivado, lo que sugiere que este grupo de metabolitos aumenta el número de eventos de CT y disminuye los EV, reduciendo la ansiedad en ratones. Esto es consistente con los estudios que informan la capacidad de los flavonoides para modular las respuestas neuroconductuales, ejerciendo acciones sobre el sistema nervioso central y generando un efecto ansiolítico<sup>29,44,45</sup>.



### 15.7 Prueba de rotarod (RT)

El extracto **4a** indujo el mayor déficit en la coordinación motora en RT, el cual se caracterizó por un alto CPT y CT. Por lo tanto, es posible sugerir que la alta concentración de rutina y otros compuestos polifenólicos en el extracto **4a** está relacionada con la disminución observada en la coordinación motora. Del mismo modo, el extracto **5a**, que tiene un alto CFT, redujo el tiempo de permanencia en el RT en menor medida<sup>46</sup>. Estos resultados sugieren que los efectos observados en ambos extractos podrían estar asociados con la alteración de la coordinación motora, lo que afecta la variabilidad en la composición química del extracto etanólico de *A. muricata*. Estos resultados son consistentes con los descritos por Fernández *et al.*, 2023, quienes reportan que el extracto hidroalcohólico de *Byrsonima crassifolia* provoca una disminución de la coordinación motora en la prueba de rotarod asociada a compuestos de tipo polifenol, incluyendo los flavonoides catequina, epicatequina y procianidina B<sup>247</sup>.



## 16. Conclusiones

Este estudio mostró que las hojas de *A. muricata* colectadas en diferentes subregiones del estado de Tabasco variaron en su contenido químico, siendo **2b** (subregión Chontalpa) así como **4a** y **4b** (subregión Pantanos) las que tuvieron el CPT más alta y **5a** en la subregión de Ríos la que tuvo la CFT más alta. Asimismo, el marcador químico, rutina, mostró variabilidad en su contenido, siendo **1b** (subregión Central) y **4a** (subregión Pantanos) los que tuvieron la mayor concentración. En cuanto a la evaluación antidepresiva, los extractos **4a** y **5a** de *A. muricata* evaluados en el modelo de SC no mostraron actividad antidepresiva; sin embargo, la muestra **5a** mostró un posible efecto ansiolítico en CA. Finalmente, estos resultados sugieren una relación entre la variabilidad del contenido químico y el potencial efecto ansiolítico de las hojas de *A. muricata*, además de explorar este efecto en modelos más específicos.



## 17. Referencias

- (1) Yang, L.; Wen, K. S.; Ruan, X.; Zhao, Y. X.; Wei, F.; Wang, Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*. MDPI AG 2018. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>.
- (2) Moore, B. D.; Andrew, R. L.; Külheim, C.; Foley, W. J. Explaining Intraspecific Diversity in Plant Secondary Metabolites in an Ecological Context. *New Phytologist*. February 2014, pp 733–750. <https://doi.org/10.1111/nph.12526>.
- (3) European Medicines Agency. *Annex 1 WHO Guidelines for Selecting Marker Substances of Herbal Origin for Quality Control of Herbal Medicines*; 2008. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003196.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003196.pdf) (accessed 2025-10-21).
- (4) Mishra, S.; Ahmad, S.; Kumar, N.; Kumar Sharma, B. *Annona Muricata* (The Cancer Killer): A Review. *J. Pharm. Res* **2013**, 2, 1613–1618.
- (5) Adewole, S. O.; O Ojewole, J. A. PROTECTIVE EFFECTS OF ANNONA MURICATA LINN. (ANNONACEAE) LEAF AQUEOUS EXTRACT ON SERUM LIPID PROFILES AND OXIDATIVE STRESS IN HEPATOCYTES OF STREPTOZOTOCIN-TREATED DIABETIC RATS; 2009; Vol. 6. [www.africanethnomedicines.net](http://www.africanethnomedicines.net).
- (6) de Sousa, O. V.; Vieira, G. D. V.; de Pinho, J. de J. R. G.; Yamamoto, C. H.; Alves, M. S. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona Muricata* L. Leaves in Animal Models. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, 11 (5), 2067–2078. <https://doi.org/10.3390/ijms11052067>.
- (7) Moghadamtousi, S. Z.; Fadaeinasab, M.; Nikzad, S.; Mohan, G.; Ali, H. M.; Kadir, H. A. *Annona Muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG July 10, 2015, pp 15625–15658. <https://doi.org/10.3390/ijms160715625>.
- (8) Foudah, A. I.; Alqarni, M. H.; Alam, A.; Devi, S.; Salkini, M. A.; Alam, P. Rutin Improves Anxiety and Reserpine-Induced Depression in Rats. *Molecules* **2022**, 27 (21). <https://doi.org/10.3390/molecules27217313>.
- (9) Lee, S.; Kim, H. B.; Hwang, E. S.; Kim, E. seok; Kim, S. S.; Jeon, T. D.; Song, M. cheol; Lee, J. S.; Chung, M. C.; Maeng, S.; Park, J. H. Antidepressant-like Effects of p-Coumaric Acid on LPS-Induced Depressive and Inflammatory Changes in Rats. *Exp. Neurobiol.* **2018**, 27 (3), 189–199. <https://doi.org/10.5607/en.2018.27.3.189>.
- (10) Park, S.-H.; Sim, Y.-B.; Han, P.-L.; Lee, J.-K.; Suh, H.-W. Antidepressant-like Effect of Kaempferol and Quercitrin, Isolated from *Opuntia Ficus-Indica* Var. *Saboten*; 2010; Vol. 19.
- (11) UNAM. Biblioteca Digital de La Medicina Tradicional Mexicana - *Annona Muricata* L, Guanábana. **2023**.
- (12) Mancini, S.; Nardo, L.; Gregori, M.; Ribeiro, I.; Mantegazza, F.; Delerue-Matos, C.; Masserini, M.; Grosso, C. Functionalized Liposomes and Phytosomes Loading *Annona Muricata* L. Aqueous Extract: Potential Nanoshuttles for Brain-Delivery of Phenolic Compounds. *Phytomedicine* **2018**, 42, 233–244. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.03.053>.



- (13) Bikomo, E.; Ebuehi O.A . T.; Magbagbeola O. A. Antidepressant Activity of Ethanol Leaf Extract of *Annona Muricata* L., in Sprague-Dawley Rats. *American Journal of Biochemistry* **2017**, 2017 (1), 1–5. <https://doi.org/10.5923/j.ajb.20170701.01>.
- (14) Hasrat, J. A.; De Bruyne, T.; De Backer, J. P.; Vauquelin, G.; Vlietinck, A. J. Isoquinoline Derivatives Isolated from the Fruit of *Annona Muricata* as 5-HTergic 5-HT(1A) Receptor Agonists in Rats: Unexploited Antidepressive (Lad) Products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1997**, 49 (11), 1145–1149. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1997.tb06058.x>.
- (15) Al Kazman, B. S. M.; Harnett, J. E.; Hanrahan, J. R. Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities of Annonaceae. *Molecules*. MDPI June 1, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27113462>.
- (16) Dosal, M. A.; Villanueva, M. Introducción a La Metrología Química: Curvas de Calibración En Lo Métodos Analíticos. *Antología Química Analítica Exp.* **2008**, 18–26.
- (17) García-Martínez, E.; Fernández-Segovia, I.; López, F. *Determinación de Polifenoles Totales Por El Método de Folin-Ciocalteu*. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%A9nez%20et%20al.pdf?sequence=1> (accessed 2025-10-21).
- (18) Zhu, H.; Wang, Y.; Liu, Y.; Xia, Y.; Tang, T. Analysis of Flavonoids in *Portulaca Oleracea* L. by UV-Vis Spectrophotometry with Comparative Study on Different Extraction Technologies. *Food Anal. Methods* **2010**, 3 (2). <https://doi.org/10.1007/s12161-009-9091-2>.
- (19) Schügerl, K. Extraction of Primary and Secondary Metabolites. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH January 28, 2005, pp 1–48. <https://doi.org/10.1007/b98920>.
- (20) Hernández-Rodríguez, S.; Quiroz-Reyes, C. N.; Ramírez-Ortiz, M. E.; Ronquillo-de Jesús, E.; Aguilar-Méndez, M. Á. Optimización Del Proceso de Extracción Asistida Por Ultrasonido de Compuestos Fenólicos de Justicia Spicigera Schltdl. Mediante La Metodología de Superficie de Respuesta. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* **2020**, 23. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.246>.
- (21) Bertoli-Dipartimento Di, A.; Farmaceutiche, S.; Giardi, M. T.; Rea, G.; Berra, B.; Bertoli, A.; Ruffoni, B.; Pistelli, L.; Pistelli, L. Analytical Methods for the Extraction and Identification of Secondary Metabolite Production in “In Vitro” Plant Cell Cultures. *Springer US* **2010**, 250–266.
- (22) Fornstedt, T.; Forssén, P.; Westerlund, D. Basic HPLC Theory and Definitions: Retention, Thermodynamics, Selectivity, Zone Spreading, Kinetics, and Resolution. *Analytical Separation Science* **2015**, 1–24. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9783527678129.assep001>.
- (23) Belovicova, K.; Bogi, E.; Csatosova, K.; Dubovicky, M. Animal Tests for Anxiety-like and Depression-like Behavior in Rats. *Interdiscip. Toxicol.* **2017**, 10 (1), 40–43. <https://doi.org/10.1515/intox-2017-0006>.
- (24) Dunham, N. W.; Miya, T. S. A Note on Simple Apparatus for Detecting Neurological Deficit in Rats and Mice. *Journal of the American Pharmaceutical*



- Association* **1986**, 3, 208–209. <https://doi.org/doi:10.1002/jps.3030460322>.
- (25) Ilango, S.; Sahoo, D. K.; Paital, B.; Kathirvel, K.; Gabriel, J. I.; Subramaniam, K.; Jayachandran, P.; Dash, R. K.; Hati, A. K.; Behera, T. R.; Mishra, P.; Nirmaladevi, R. A Review on *Annona Muricata* and Its Anticancer Activity. *Cancers*. MDPI September 1, 2022. <https://doi.org/10.3390/cancers14184539>.
- (26) Wahab, S. M. A.; Jantan, I.; Haque, M. A.; Arshad, L. Exploring the Leaves of *Annona Muricata* L. as a Source of Potential Anti-Inflammatory and Anticancer Agents. *Frontiers in Pharmacology*. Frontiers Media S.A. June 20, 2018. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00661>.
- (27) Montejo-Méndez, H. Diversidad Genética, Estructura y Perfil Fitoquímico de *Annona Muricata* En El Sureste de México, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, 2023.
- (28) Ganeshpurkar, A.; Saluja, A. K. The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal*. Elsevier B.V. February 1, 2017, pp 149–164. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.04.025>.
- (29) Jin, L.; Wu, L.; Zhu, G.; Yang, L.; Zhao, D.; He, J.; Zhang, Y. Association between Dietary Flavonoid Intake and Anxiety: Data from NHANES 2017–2018. *BMC Public Health* **2025**, 25 (1). <https://doi.org/10.1186/s12889-025-22621-7>.
- (30) Oviedo, V.; García, M.; Díaz, C.; Marder, M.; Costa, M.; Rincón, J.; Sánchez, C.; Guerrero, M. *Extracto y Fracción Alcaloidal de Annona Muricata Con Actividad de Tipo Ansiolítica En Ratones*; 2009; Vol. 38. [www.farmacia.unal.edu.co](http://www.farmacia.unal.edu.co).
- (31) Medrano-Sánchez, E. J.; Hernández-Bolio, G. I.; Lobato-García, C. E.; González-Cortazar, M.; Antunez-Mojica, M.; Gallegos-García, A. J.; Barredo-Hernández, C. O.; López-Rodríguez, R.; Aguilar-Sánchez, N. C.; Gómez-Rivera, A. Intra- and Interspecies Differences of Two *Cecropia* Species from Tabasco, Mexico, Determined through the Metabolic Analysis and <sup>1</sup>H-NMR-Based Fingerprinting of Hydroalcoholic Extracts. *Plants* **2023**, 12 (13). <https://doi.org/10.3390/plants12132440>.
- (32) Gallegos-García, A. J.; Lobato-García, C. E.; González-Cortazar, M.; Herrera-Ruiz, M.; Zamilpa, A.; Álvarez-Fitz, P.; Pérez-García, M. D.; López-Rodríguez, R.; Ble-González, E. A.; Medrano-Sánchez, E. J.; Feldman, M. R.; Bugarin, A.; Gómez-Rivera, A. Preliminary Phytochemical Profile and Bioactivity of *Inga Jinicuil* Schltdl & Cham. Ex G. Don. *Plants* **2022**, 11 (6). <https://doi.org/10.3390/plants11060794>.
- (33) Jakabová, S.; Árvay, J.; Šnirc, M.; Lakatošová, J.; Ondejčíková, A.; Golian, J. HPLC-DAD Method for Simultaneous Determination of Gallic Acid, Catechins, and Methylxanthines and Its Application in Quantitative Analysis and Origin Identification of Green Tea. *Heliyon* **2024**, 10 (16). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35819>.
- (34) Mabry, T. J.; Markham, K. R.; Thomas, M. B. *The Systematic Identification of Flavonoids*; Springer Berlin Heidelberg, 1970. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-88458-0>.
- (35) Karthikeyan, R.; Devadasu, C.; Srinivasa Babu, P. Isolation, Characterization,



- and RP-HPLC Estimation of P-Coumaric Acid from Methanolic Extract of Durva Grass ( *Cynodon Dactylon* Linn.) (Pers.). *Int. J. Anal. Chem.* **2015**, 2015, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2015/201386>.
- (36) Holser, R. A. Principal Component Analysis of Phenolic Acid Spectra. *ISRN Spectroscopy* **2012**, 2012, 1–5. <https://doi.org/10.5402/2012/493203>.
- (37) Grijalva-Verdugo, C.; Rodríguez-Núñez, J. R.; Núñez-Colin, C. A.; Aguirre-Mancilla, C. L.; Montoya-Anaya, D.; Villareal-Fuentes, J. M.; Balois-Morales, R.; Rodríguez-Carrillo, M. G. Total Polyphenolic Antioxidants and Cytotoxic Activity of Infusions from Soursop (*Annona Muricata*) Leaves from Two Mexican Regions. *Agron. Colomb.* **2022**, 40 (2), 314–324. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v40n2.102621>.
- (38) Ioannis, P.; Anastasis, S.; Andreas, Y. Review on Its Anticancer Properties. *Am. J. Cancer Prev.* **2015**, 3 (6), 128–131. <https://doi.org/10.12691/ajcp-3-6-5>.
- (39) Valares Masa, C. *Variación Del Metabolismo Secundario En Plantas Debida al Genotipo y al Ambiente*; 2011. <http://www.unex.es/publicaciones> (accessed 2025-10-21).
- (40) Peñaranda, J. C.; Rodrigo, G. C.; Ticona-Bustillos, A. R.; Valenzuela C., E.; Ramos, S.; San Martin, A.; Ghezzi, F. G.; Almanza, G. R. Variación En La Concentración de Flavonoides y Clorofila, y Cambios En La Morfología y Anatomía Foliar, Debido a Radiación Visible (PAR) o Ultravioleta (UVA, UVB) En *Baccharis Latifolia*. *Revista Boliviana de Química* **2020**, 37, 210–222.
- (41) Shah, M. S.; Tayab, M. A.; Rahman, A.; Hasan, M. N.; Talukder, M. S. H.; Uddin, A. M. K.; Jabed, M.; Chy, M. N. U.; Paul, A.; Rahman, M. M.; Bin Emran, T.; Seidel, V. Anxiolytic, Antidepressant and Antioxidant Activity of the Methanol Extract of *Canarium Resiniferum* Leaves. *J. Tradit. Complement. Med.* **2022**, 12 (6), 567–574. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2022.07.001>.
- (42) Zhu, X.; Li, W.; Li, Y.; Xu, W.; Yuan, Y.; Zheng, V.; Zhang, H.; O'Donnell, J. M.; Xu, Y.; Yin, X. The Antidepressant- and Anxiolytic-like Effects of Resveratrol: Involvement of Phosphodiesterase-4D Inhibition. *Neuropharmacology* **2019**, 153, 20–31. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.04.022>.
- (43) Heitman, E.; Ingram, D. K. Cognitive and Neuroprotective Effects of Chlorogenic Acid. *Nutritional Neuroscience*. Taylor and Francis Ltd. January 2, 2017, pp 32–39. <https://doi.org/10.1179/1476830514Y.00000000146>.
- (44) Aguirre-Hernández, E.; González-Trujano, M. E.; Terrazas, T.; Santoyo, J. H.; Guevara-Fefer, P. Anxiolytic and Sedative-like Effects of Flavonoids from *Tilia Americana* Var. Mexicana: GABAergic and Serotonergic Participation. *Salud Mental* **2016**, 39 (1), 37–46. <https://doi.org/10.17711/SM.0185-3325.2015.066>.
- (45) Singla, R.; Kamboj, S.; Duvey, B. K.; Bhargava, A.; Chaudhary, J. Flavonoids and Anxiety: Decoding Their Role in Brain Function and Pathophysiology. *Medicine in Drug Discovery*. Elsevier B.V. September 1, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2025.100214>.
- (46) Hanlon, K. E.; Vanderah, T. W. Constitutive Activity at the Cannabinoid CB1 Receptor and Behavioral Responses. *Methods Enzymol.* **2010**, 484, 03–30.



[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(10\)84001-7](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(10)84001-7).

- (47) Fernández, S. P.; Wasowski, C.; Loscalzo, L. M.; Granger, R. E.; Johnston, G. A. R.; Paladini, A. C.; Marder, M. Central Nervous System Depressant Action of Flavonoid Glycosides. *Eur. J. Pharmacol.* **2006**, 539 (3), 168–176.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.04.004>.



## 18. Anexos

| ALOJAMIENTO DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Título de Tesis:</b>                                 | ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE <i>Annona muricata</i> L. COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Autor(a) o autores(as) de la Tesis:</b>              | Santiago Santos Vázquez                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>ORCID:</b>                                           | Santiago Santos Vázquez<br><a href="https://orcid.org/0009-0009-9123-5334">https://orcid.org/0009-0009-9123-5334</a>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Resumen de la Tesis:</b>                             | <p><i>Annona muricata</i> L., conocida como guanábana, es una planta utilizada en la medicina tradicional mexicana para tratar diversas afecciones, entre ellas la «pérdida del alma o del espíritu». El objetivo de este estudio fue evaluar la variabilidad de los marcadores químicos y la actividad antidepresiva de los extractos etanólicos de las hojas de <i>A. muricata</i> recolectadas en cinco subregiones de Tabasco, México (Centro, Chontalpa, Sierra, Pantanos y Ríos). La comparación de métodos de extracción permitió identificar a <b>1U</b> como el mejor método y agente extractante que permite la obtención del mayor rendimiento de compuestos del tipo flavonoide. El contenido total de polifenoles y flavonoides (CPT y CFT, respectivamente), así como el marcador químico rutina, se cuantificaron mediante métodos espectroscópicos y cromatográficos. Además, se evaluó la actividad antidepresiva mediante las pruebas de suspensión de la cola (SC), campo abierto (CA) y rotarod (RT). Los</p> |



|                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                     | <p>extractos <b>2b</b>, <b>4a</b> y <b>4b</b> presentaron el CPT más alto (<math>32.71 \pm 0.06</math>; <math>22.96 \pm 0.32</math>; <math>29.52 \text{ mg Eq AGE/g E}</math>, respectivamente), mientras que el extracto <b>5a</b> presentó el CFT más alto (<math>236.01 \pm 2.20 \text{ mg Eq RE/g E}</math>). En el caso de la rutina, los extractos con mayor contenido fueron <b>1b</b>: <math>2,23 \pm 0,003 \text{ mg/g}</math> y <b>4a</b>: <math>1,81 \pm 0,002 \text{ mg/g}</math>. Por último, en la evaluación biológica, los extractos <b>4a</b> y <b>5a</b> no mostraron ningún efecto antidepresivo a <math>200 \text{ mg/kg}</math>, sin embargo, <b>5a</b> mostró un potencial efecto ansiolítico en la prueba de CA. El 4a y el 5a disminuyen la coordinación motora en la prueba RT. En conclusión, existe una marcada variabilidad fitoquímica entre las subregiones, lo que influye en la concentración de rutina, TPC y TFC, así como en la posible actividad ansiolítica observada en los extractos etanólicos de <i>A. muricata</i>.</p> |
| <b>Palabras claves de la Tesis:</b> | <i>Annona muricata</i> ; Variabilidad; Polifenoles: Flavonoides; Rutina; CLAR-DAD; Antidepresivo; Ansiolítico.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Referencias citadas:</b>         | <p>(1) Yang, L.; Wen, K. S.; Ruan, X.; Zhao, Y. X.; Wei, F.; Wang, Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. <i>Molecules</i>. MDPI AG 2018. <a href="https://doi.org/10.3390/molecules23040762">https://doi.org/10.3390/molecules23040762</a>.</p> <p>(2) Moore, B. D.; Andrew, R. L.; Külheim, C.; Foley, W. J. Explaining Intraspecific Diversity in Plant Secondary Metabolites in an Ecological Context. <i>New Phytologist</i>. February 2014, pp 733–750. <a href="https://doi.org/10.1111/nph.12526">https://doi.org/10.1111/nph.12526</a>.</p> <p>(3) European Medicines Agency. <i>Annex 1 WHO Guidelines for Selecting Marker Substances of Herbal Origin for Quality Control of Herbal Medicines</i>; 2008. <a href="http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003196.pdf">http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003196.pdf</a> (accessed 2025-10-21).</p>                                                                   |



- (4) Mishra, S.; Ahmad, S.; Kumar, N.; Kumar Sharma, B. *Annona Muricata* (The Cancer Killer): A Review. *J. Pharm. Res* **2013**, 2, 1613–1618.
- (5) Adewole, S. O.; O Ojewole, J. A. *PROTECTIVE EFFECTS OF ANNONA MURICATA LINN. (ANNONACEAE) LEAF AQUEOUS EXTRACT ON SERUM LIPID PROFILES AND OXIDATIVE STRESS IN HEPATOCYTES OF STREPTOZOTOCIN-TREATED DIABETIC RATS*; 2009; Vol. 6. [www.africanethnomedicines.net](http://www.africanethnomedicines.net).
- (6) de Sousa, O. V.; Vieira, G. D. V.; de Pinho, J. de J. R. G.; Yamamoto, C. H.; Alves, M. S. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona Muricata* L. Leaves in Animal Models. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, 11 (5), 2067–2078. <https://doi.org/10.3390/ijms11052067>.
- (7) Moghadamtousi, S. Z.; Fadaeinasab, M.; Nikzad, S.; Mohan, G.; Ali, H. M.; Kadir, H. A. *Annona Muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG July 10, 2015, pp 15625–15658. <https://doi.org/10.3390/ijms160715625>.
- (8) Foudah, A. I.; Alqarni, M. H.; Alam, A.; Devi, S.; Salkini, M. A.; Alam, P. Rutin Improves Anxiety and Reserpine-Induced Depression in Rats. *Molecules* **2022**, 27 (21). <https://doi.org/10.3390/molecules27217313>.
- (9) Lee, S.; Kim, H. B.; Hwang, E. S.; Kim, E. seok; Kim, S. S.; Jeon, T. D.; Song, M. cheol; Lee, J. S.; Chung, M. C.; Maeng, S.; Park, J. H. Antidepressant-like Effects of p-Coumaric Acid on LPS-Induced Depressive and Inflammatory Changes in Rats. *Exp. Neurobiol.* **2018**, 27 (3), 189–199. <https://doi.org/10.5607/en.2018.27.3.189>.
- (10) Park, S.-H.; Sim, Y.-B.; Han, P.-L.; Lee, J.-K.; Suh, H.-W. *Antidepressant-like Effect of Kaempferol and Quercitrin, Isolated from Opuntia Ficus-Indica Var. Saboten*; 2010; Vol. 19.



(11) UNAM. Biblioteca Digital de La Medicina Tradicional Mexicana - *Annona Muricata* L, Guanábana. **2023**.

(12) Mancini, S.; Nardo, L.; Gregori, M.; Ribeiro, I.; Mantegazza, F.; Delerue-Matos, C.; Masserini, M.; Grosso, C. Functionalized Liposomes and Phytosomes Loading *Annona Muricata* L. Aqueous Extract: Potential Nanoshuttles for Brain-Delivery of Phenolic Compounds. *Phytomedicine* **2018**, 42, 233–244. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.03.053>.

(13) Bikomo, E.; Ebuehi O.A . T.; Magbagbeola O. A. Antidepressant Activity of Ethanol Leaf Extract of *Annona Muricata* L., in Sprague-Dawley Rats. *American Journal of Biochemistry* **2017**, 2017 (1), 1–5. <https://doi.org/10.5923/j.ajb.20170701.01>.

(14) Hasrat, J. A.; De Bruyne, T.; De Backer, J. P.; Vauquelin, G.; Vlietinck, A. J. Isoquinoline Derivatives Isolated from the Fruit of *Annona Muricata* as 5-HTergic 5-HT(1A) Receptor Agonists in Rats: Unexploited Antidepressive (Lad) Products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1997**, 49 (11), 1145–1149. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1997.tb06058.x>.

(15) Al Kazman, B. S. M.; Harnett, J. E.; Hanrahan, J. R. Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Annonaceae*. *Molecules*, MDPI June 1, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27113462>.

(16) Dosal, M. A.; Villanueva, M. Introducción a La Metrología Química: Curvas de Calibración En Lo Métodos Analíticos. *Antología Química Analítica Exp.* **2008**, 18–26.

(17) García-Martínez, E.; Fernández-Segovia, I.; López, F. *Determinación de Polifenoles Totales Por El Método de Folin-Ciocalteu*. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1> (accessed 2025-10-21).

(18) Zhu, H.; Wang, Y.; Liu, Y.; Xia, Y.; Tang, T. Analysis of



|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p>Flavonoids in <i>Portulaca Oleracea</i> L. by UV-Vis Spectrophotometry with Comparative Study on Different Extraction Technologies. <i>Food Anal. Methods</i> <b>2010</b>, 3 (2). <a href="https://doi.org/10.1007/s12161-009-9091-2">https://doi.org/10.1007/s12161-009-9091-2</a>.</p> <p>(19) Schügerl, K. Extraction of Primary and Secondary Metabolites. <i>Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology</i>. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH January 28, 2005, pp 1–48. <a href="https://doi.org/10.1007/b98920">https://doi.org/10.1007/b98920</a>.</p> <p>(20) Hernández-Rodríguez, S.; Quiroz-Reyes, C. N.; Ramírez-Ortiz, M. E.; Ronquillo-de Jesús, E.; Aguilar-Méndez, M. Á. Optimización Del Proceso de Extracción Asistida Por Ultrasonido de Compuestos Fenólicos de <i>Justicia Spicigera</i> Schltdl. Mediante La Metodología de Superficie de Respuesta. <i>TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas</i> <b>2020</b>, 23. <a href="https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.246">https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.246</a>.</p> <p>(21) Bertoli-Dipartimento Di, A.; Farmaceutiche, S.; Giardi, M. T.; Rea, G.; Berra, B.; Bertoli, A.; Ruffoni, B.; Pistelli, L.; Pistelli, L. Analytical Methods for the Extraction and Identification of Secondary Metabolite Production in “In Vitro” Plant Cell Cultures. <i>Springer US</i> <b>2010</b>, 250–266.</p> <p>(22) Fornstedt, T.; Forssén, P.; Westerlund, D. Basic HPLC Theory and Definitions: Retention, Thermodynamics, Selectivity, Zone Spreading, Kinetics, and Resolution. <i>Analytical Separation Science</i> <b>2015</b>, 1–24. <a href="https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9783527678129.assep001">https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9783527678129.assep001</a>.</p> <p>(23) Belovicova, K.; Bogi, E.; Csatlosova, K.; Dubovicky, M. Animal Tests for Anxiety-like and Depression-like Behavior in Rats. <i>Interdiscip. Toxicol.</i> <b>2017</b>, 10 (1), 40–43. <a href="https://doi.org/10.1515/intox-2017-0006">https://doi.org/10.1515/intox-2017-0006</a>.</p> <p>(24) Dunham, N. W.; Miya, T. S. A Note on Simple Apparatus for Detecting Neurological Deficit in Rats and Mice. <i>Journal of the</i></p> |
|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|



|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p><i>American Pharmaceutical Association</i> <b>1986</b>, 3, 208–209.<br/><a href="https://doi.org/doi:10.1002/jps.3030460322">https://doi.org/doi:10.1002/jps.3030460322</a>.</p> <p>(25) Ilango, S.; Sahoo, D. K.; Paital, B.; Kathirvel, K.; Gabriel, J. I.; Subramaniam, K.; Jayachandran, P.; Dash, R. K.; Hati, A. K.; Behera, T. R.; Mishra, P.; Nirmaladevi, R. A Review on <i>Annona Muricata</i> and Its Anticancer Activity. <i>Cancers</i>. MDPI September 1, 2022. <a href="https://doi.org/10.3390/cancers14184539">https://doi.org/10.3390/cancers14184539</a>.</p> <p>(26) Wahab, S. M. A.; Jantan, I.; Haque, M. A.; Arshad, L. Exploring the Leaves of <i>Annona Muricata</i> L. as a Source of Potential Anti-Inflammatory and Anticancer Agents. <i>Frontiers in Pharmacology</i>. Frontiers Media S.A. June 20, 2018. <a href="https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00661">https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00661</a>.</p> <p>(27) Montejo-Méndez, H. Diversidad Genética, Estructura y Perfil Fitoquímico de <i>Annona Muricata</i> En El Sureste de México, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, 2023.</p> <p>(28) Ganeshpurkar, A.; Saluja, A. K. The Pharmacological Potential of Rutin. <i>Saudi Pharmaceutical Journal</i>. Elsevier B.V. February 1, 2017, pp 149–164. <a href="https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.04.025">https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.04.025</a>.</p> <p>(29) Jin, L.; Wu, L.; Zhu, G.; Yang, L.; Zhao, D.; He, J.; Zhang, Y. Association between Dietary Flavonoid Intake and Anxiety: Data from NHANES 2017–2018. <i>BMC Public Health</i> <b>2025</b>, 25 (1). <a href="https://doi.org/10.1186/s12889-025-22621-7">https://doi.org/10.1186/s12889-025-22621-7</a>.</p> <p>(30) Oviedo, V.; García, M.; Díaz, C.; Marder, M.; Costa, M.; Rincón, J.; Sánchez, C.; Guerrero, M. <i>Extracto y Fracción Alcaloidal de Annona Muricata Con Actividad de Tipo Ansiolítica En Ratones</i>; 2009; Vol. 38. <a href="http://www.farmacia.unal.edu.co">www.farmacia.unal.edu.co</a>.</p> <p>(31) Medrano-Sánchez, E. J.; Hernández-Bolí, G. I.; Lobato-García, C. E.; González-Cortazar, M.; Antunez-Mojica, M.; Gallegos-García, A. J.; Barredo-Hernández, C. O.; López-Rodríguez, R.; Aguilar-Sánchez, N. C.; Gómez-Rivera, A. Intra- and Interspecies Differences of Two <i>Cecropia</i> Species from Tabasco, Mexico, Determined through the Metabolic Analysis</p> |
|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|



and <sup>1</sup>H-NMR-Based Fingerprinting of Hydroalcoholic Extracts. *Plants* **2023**, *12* (13). <https://doi.org/10.3390/plants12132440>.

(32) Gallegos-García, A. J.; Lobato-García, C. E.; González-Cortazar, M.; Herrera-Ruiz, M.; Zamilpa, A.; Álvarez-Fitz, P.; Pérez-García, M. D.; López-Rodríguez, R.; Ble-González, E. A.; Medrano-Sánchez, E. J.; Feldman, M. R.; Bugarin, A.; Gómez-Rivera, A. Preliminary Phytochemical Profile and Bioactivity of *Inga Jinicuil* Schltdl & Cham. Ex G. Don. *Plants* **2022**, *11* (6). <https://doi.org/10.3390/plants11060794>.

(33) Jakabová, S.; Árvay, J.; Šnirc, M.; Lakatošová, J.; Ondejčíková, A.; Golian, J. HPLC-DAD Method for Simultaneous Determination of Gallic Acid, Catechins, and Methylxanthines and Its Application in Quantitative Analysis and Origin Identification of Green Tea. *Heliyon* **2024**, *10* (16). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35819>.

(34) Mabry, T. J.; Markham, K. R.; Thomas, M. B. *The Systematic Identification of Flavonoids*; Springer Berlin Heidelberg, 1970. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-88458-0>.

(35) Karthikeyan, R.; Devadasu, C.; Srinivasa Babu, P. Isolation, Characterization, and RP-HPLC Estimation of P-Coumaric Acid from Methanolic Extract of Durva Grass (*Cynodon Dactylon* Linn.) (Pers.). *Int. J. Anal. Chem.* **2015**, *2015*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2015/201386>.

(36) Holser, R. A. Principal Component Analysis of Phenolic Acid Spectra. *ISRN Spectroscopy* **2012**, *2012*, 1–5. <https://doi.org/10.5402/2012/493203>.

(37) Grijalva-Verdugo, C.; Rodríguez-Núñez, J. R.; Núñez-Colin, C. A.; Aguirre-Mancilla, C. L.; Montoya-Anaya, D.; Villareal-Fuentes, J. M.; Balois-Morales, R.; Rodríguez-Carrillo, M. G. Total Polyphenolic Antioxidants and Cytotoxic Activity of Infusions from Soursop (*Annona Muricata*) Leaves from Two Mexican Regions. *Agron. Colomb.* **2022**, *40* (2), 314–324. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v40n2.102621>.



(38) Ioannis, P.; Anastasis, S.; Andreas, Y. Review on Its Anticancer Properties. *Am. J. Cancer Prev.* **2015**, 3 (6), 128–131. <https://doi.org/10.12691/ajcp-3-6-5>.

(39) Valares Masa, C. *Variación Del Metabolismo Secundario En Plantas Debida al Genotipo y al Ambiente*; 2011. <http://www.unex.es/publicaciones> (accessed 2025-10-21).

(40) Peñaranda, J. C.; Rodrigo, G. C.; Ticona-Bustillos, A. R.; Valenzuela C., E.; Ramos, S.; San Martin, A.; Ghezzi, F. G.; Almanza, G. R. Variación En La Concentración de Flavonoides y Clorofila, y Cambios En La Morfología y Anatomía Foliar, Debido a Radiación Visible (PAR) o Ultravioleta (UVA, UVB) En *Baccharis Latifolia*. *Revista Boliviana de Química* **2020**, 37, 210–222.

(41) Shah, M. S.; Tayab, M. A.; Rahman, A.; Hasan, M. N.; Talukder, M. S. H.; Uddin, A. M. K.; Javed, M.; Chy, M. N. U.; Paul, A.; Rahman, M. M.; Bin Emran, T.; Seidel, V. Anxiolytic, Antidepressant and Antioxidant Activity of the Methanol Extract of *Canarium Resiniferum* Leaves. *J. Tradit. Complement. Med.* **2022**, 12 (6), 567–574. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2022.07.001>.

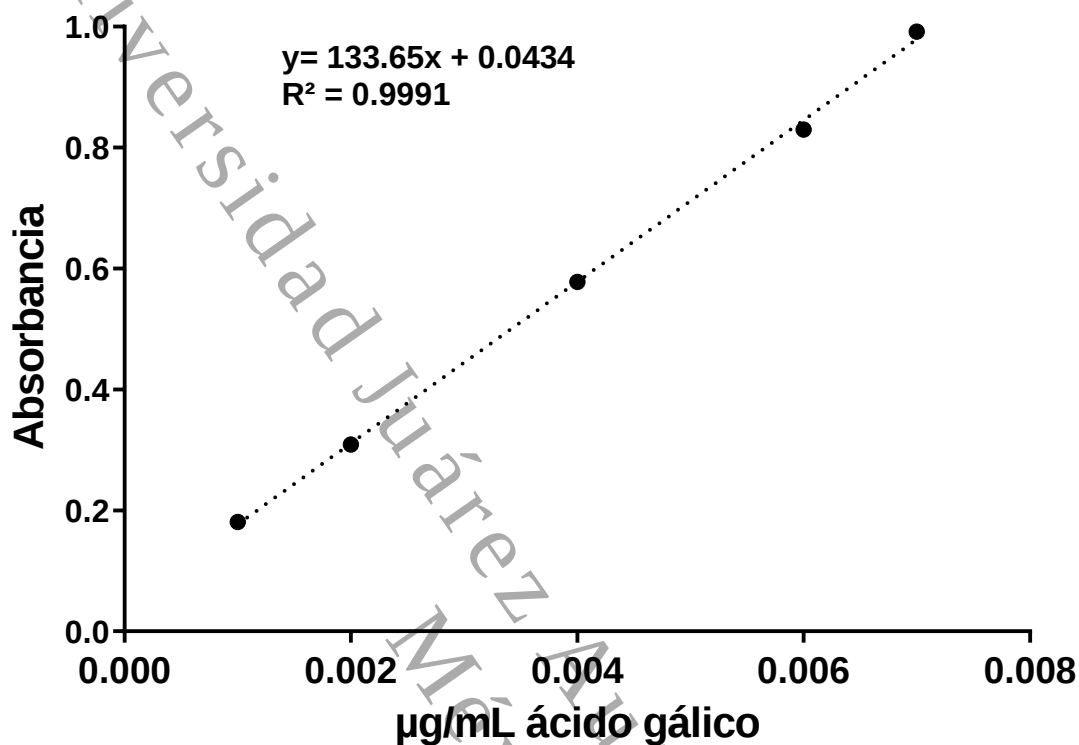
(42) Zhu, X.; Li, W.; Li, Y.; Xu, W.; Yuan, Y.; Zheng, V.; Zhang, H.; O'Donnell, J. M.; Xu, Y.; Yin, X. The Antidepressant- and Anxiolytic-like Effects of Resveratrol: Involvement of Phosphodiesterase-4D Inhibition. *Neuropharmacology* **2019**, 153, 20–31. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.04.022>.

(43) Heitman, E.; Ingram, D. K. Cognitive and Neuroprotective Effects of Chlorogenic Acid. *Nutritional Neuroscience*. Taylor and Francis Ltd. January 2, 2017, pp 32–39. <https://doi.org/10.1179/1476830514Y.0000000146>.

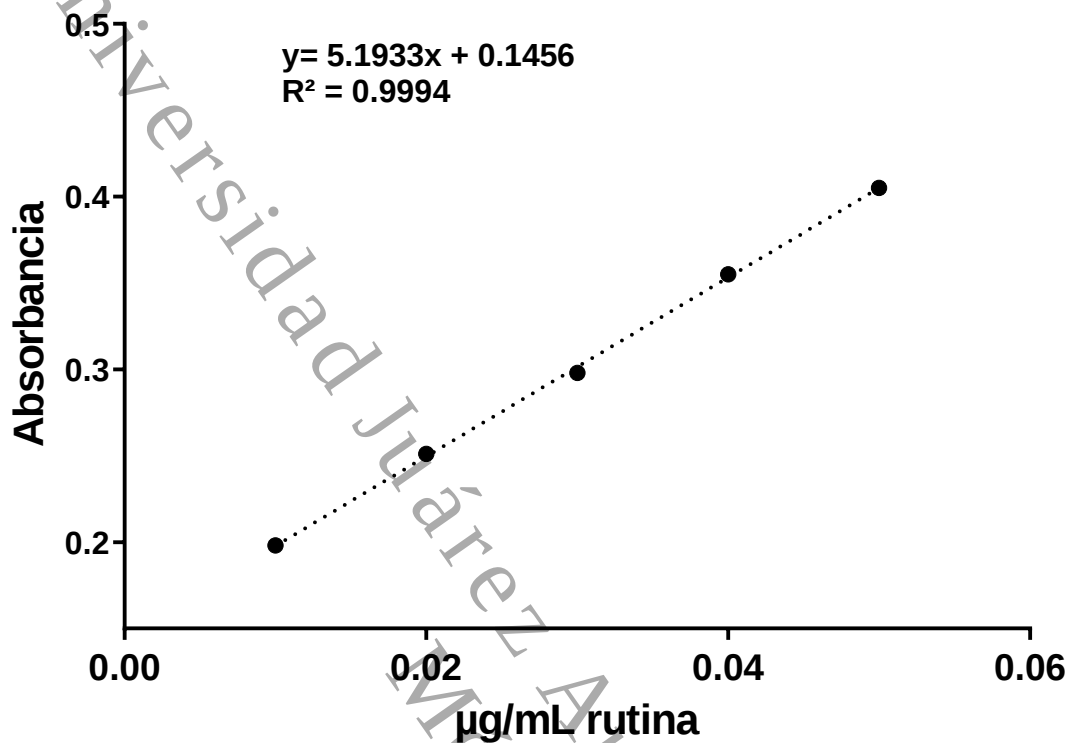
(44) Aguirre-Hernández, E.; González-Trujano, M. E.; Terrazas, T.; Santoyo, J. H.; Guevara-Fefer, P. Anxiolytic and Sedative-like Effects of Flavonoids from *Tilia Americana* Var. Mexicana: GABAergic and Serotonergic Participation. *Salud*



|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p><i>Mental</i> <b>2016</b>, 39 (1), 37–46. <a href="https://doi.org/10.17711/SM.0185-3325.2015.066">https://doi.org/10.17711/SM.0185-3325.2015.066</a>.</p> <p>(45) Singla, R.; Kamboj, S.; Duvey, B. K.; Bhargava, A.; Chaudhary, J. Flavonoids and Anxiety: Decoding Their Role in Brain Function and Pathophysiology. <i>Medicine in Drug Discovery</i>. Elsevier B.V. September 1, 2025. <a href="https://doi.org/10.1016/j.medidd.2025.100214">https://doi.org/10.1016/j.medidd.2025.100214</a>.</p> <p>(46) Hanlon, K. E.; Vanderah, T. W. Constitutive Activity at the Cannabinoid CB1 Receptor and Behavioral Responses. <i>Methods Enzymol.</i> <b>2010</b>, 484, 03–30. <a href="https://doi.org/10.1016/S0076-6879(10)84001-7">https://doi.org/10.1016/S0076-6879(10)84001-7</a>.</p> <p>(47) Fernández, S. P.; Wasowski, C.; Loscalzo, L. M.; Granger, R. E.; Johnston, G. A. R.; Paladini, A. C.; Marder, M. Central Nervous System Depressant Action of Flavonoid Glycosides. <i>Eur. J. Pharmacol.</i> <b>2006</b>, 539 (3), 168–176. <a href="https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.04.004">https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.04.004</a>.</p> |
|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|



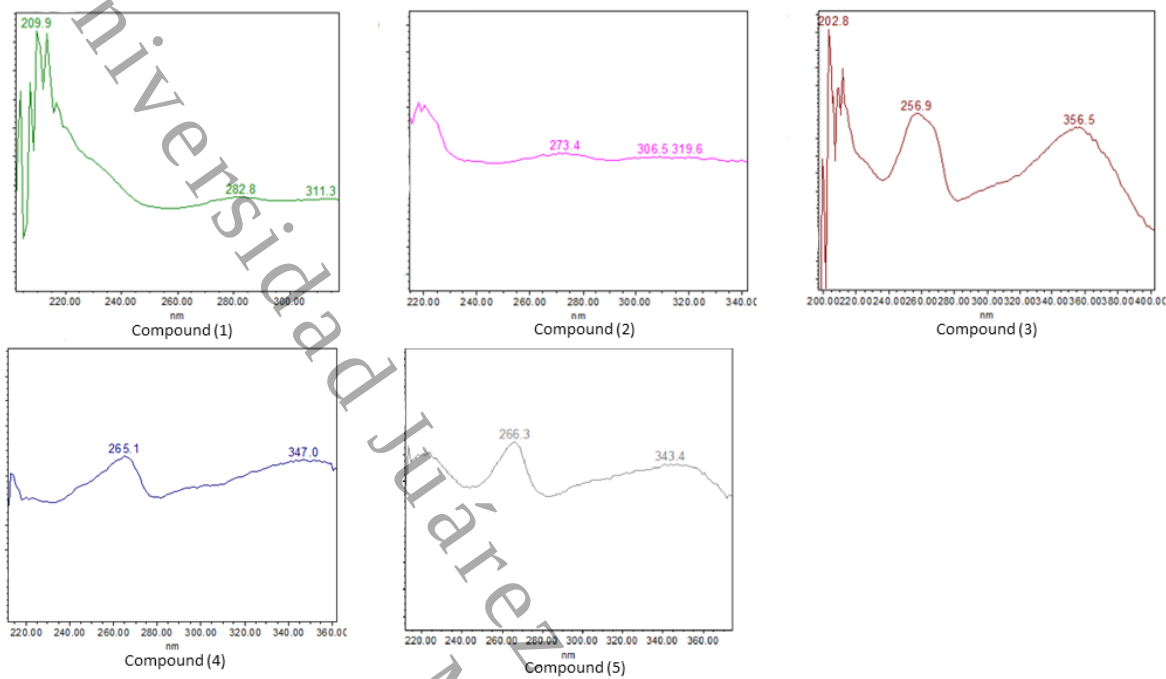
A1.- Curva de calibración empleada para la cuantificación de Polifenoles Totales



A2.- Curva de calibración empleada para la cuantificación de Flavonoides Totales



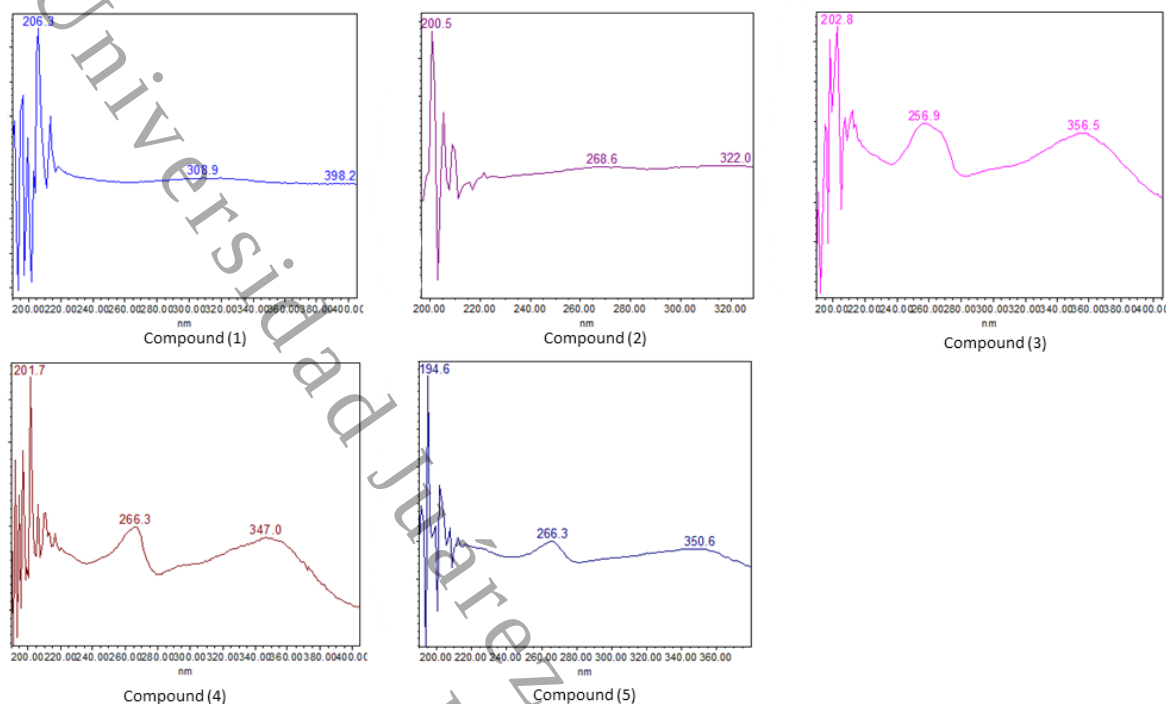
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



**A3.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (1a) *A. muricata*.



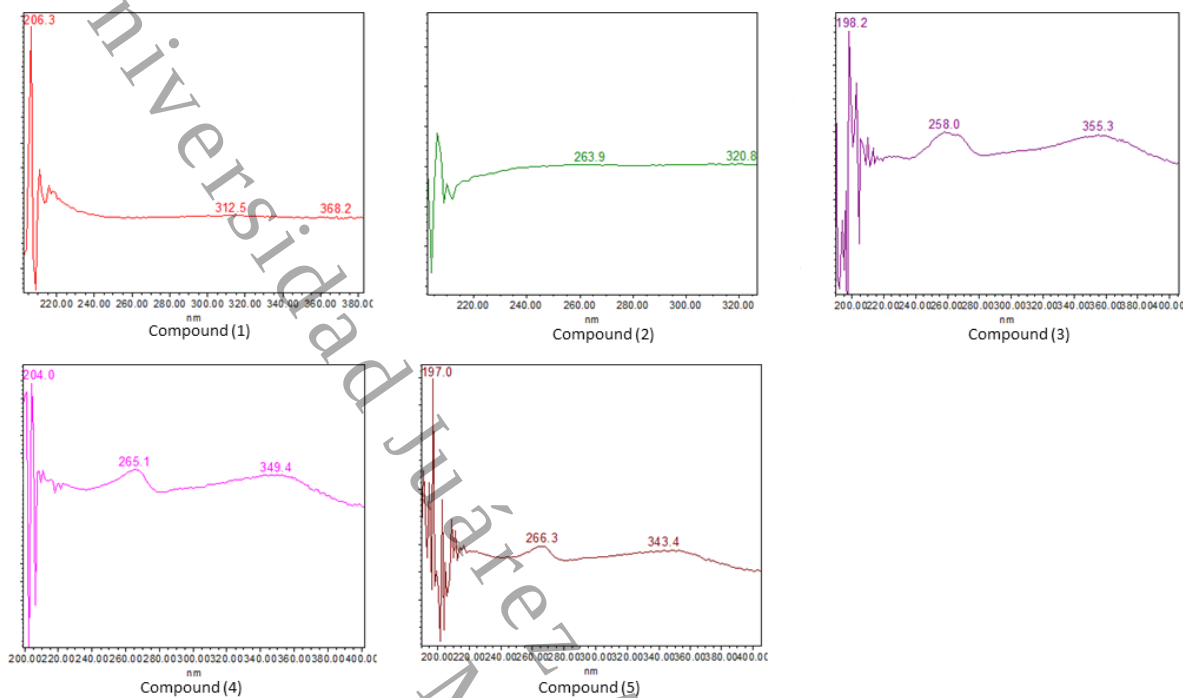
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



**A4.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (1b) *A. muricata*.



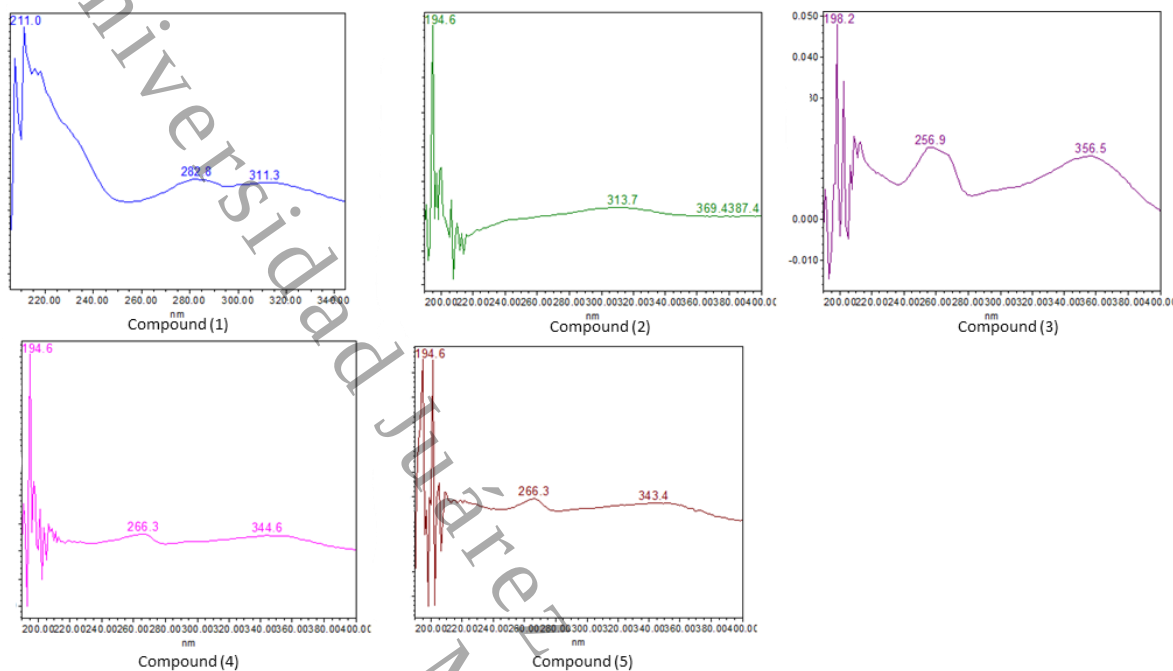
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



**A5.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (2a) *A. muricata*.



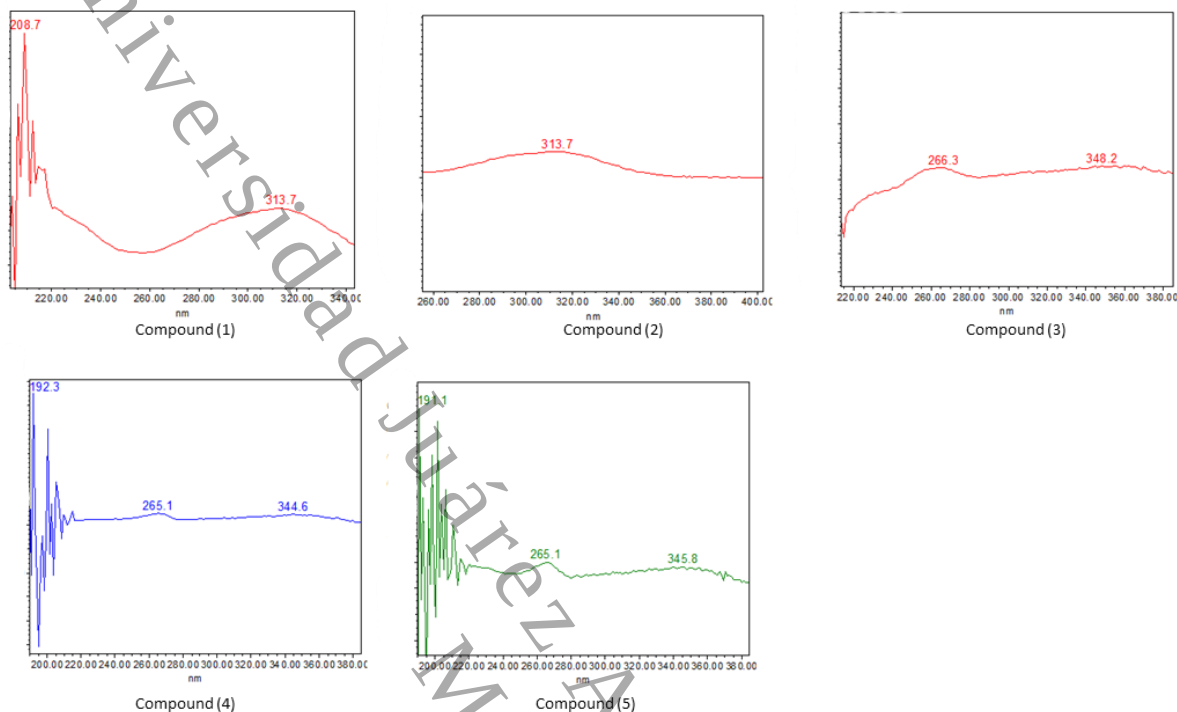
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



**A6.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (2b) *A. muricata*.



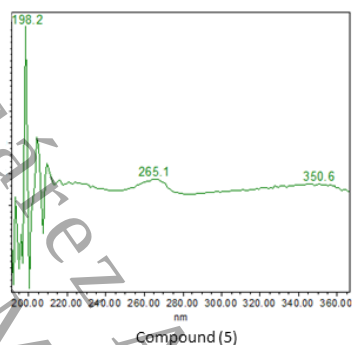
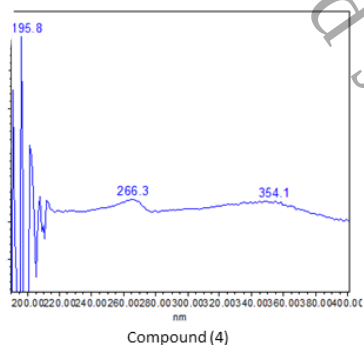
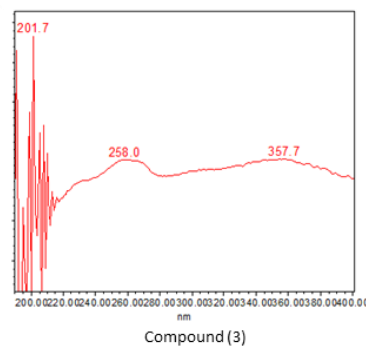
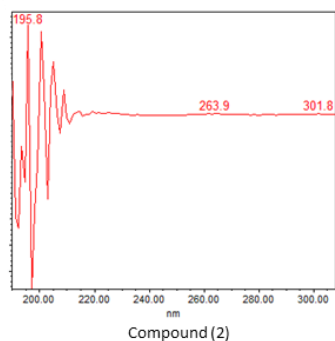
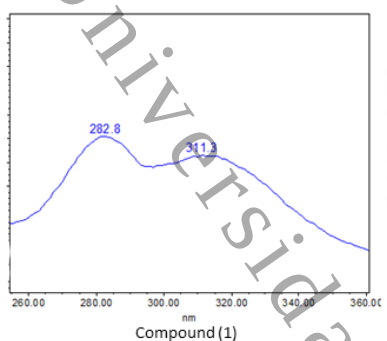
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



**A7.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (3a) *A. muricata*.



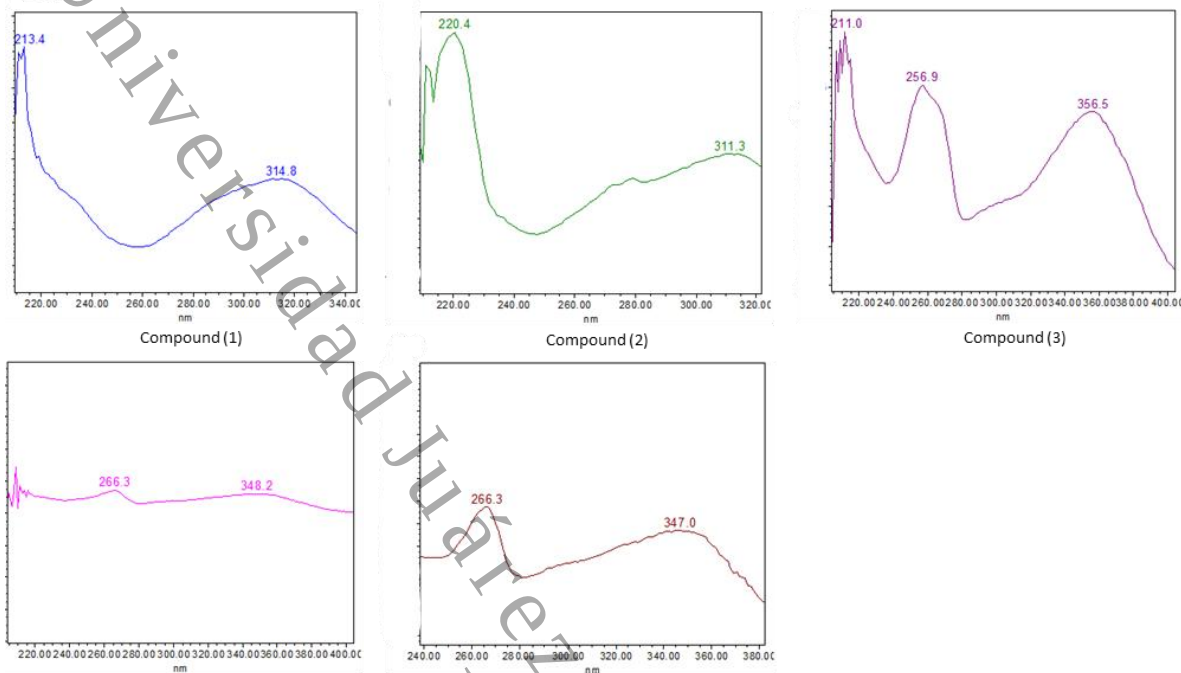
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



**A8.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (3b) *A. muricata*.



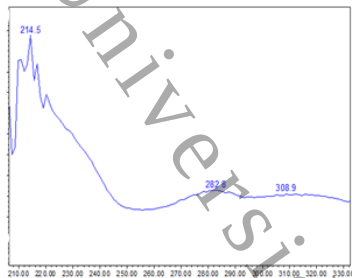
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



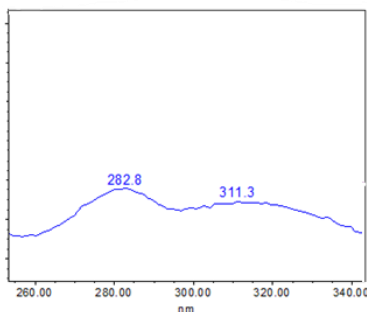
**A9.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (4a) *A. muricata*.



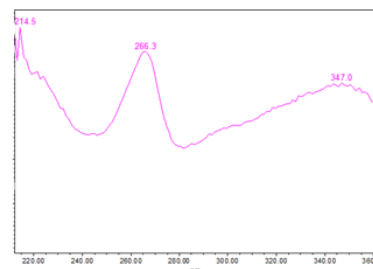
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



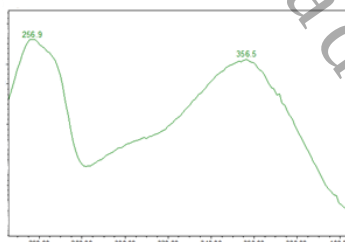
Compound (1)



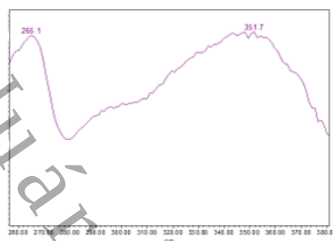
Compound (2)



Compound (5)



Compound (3)

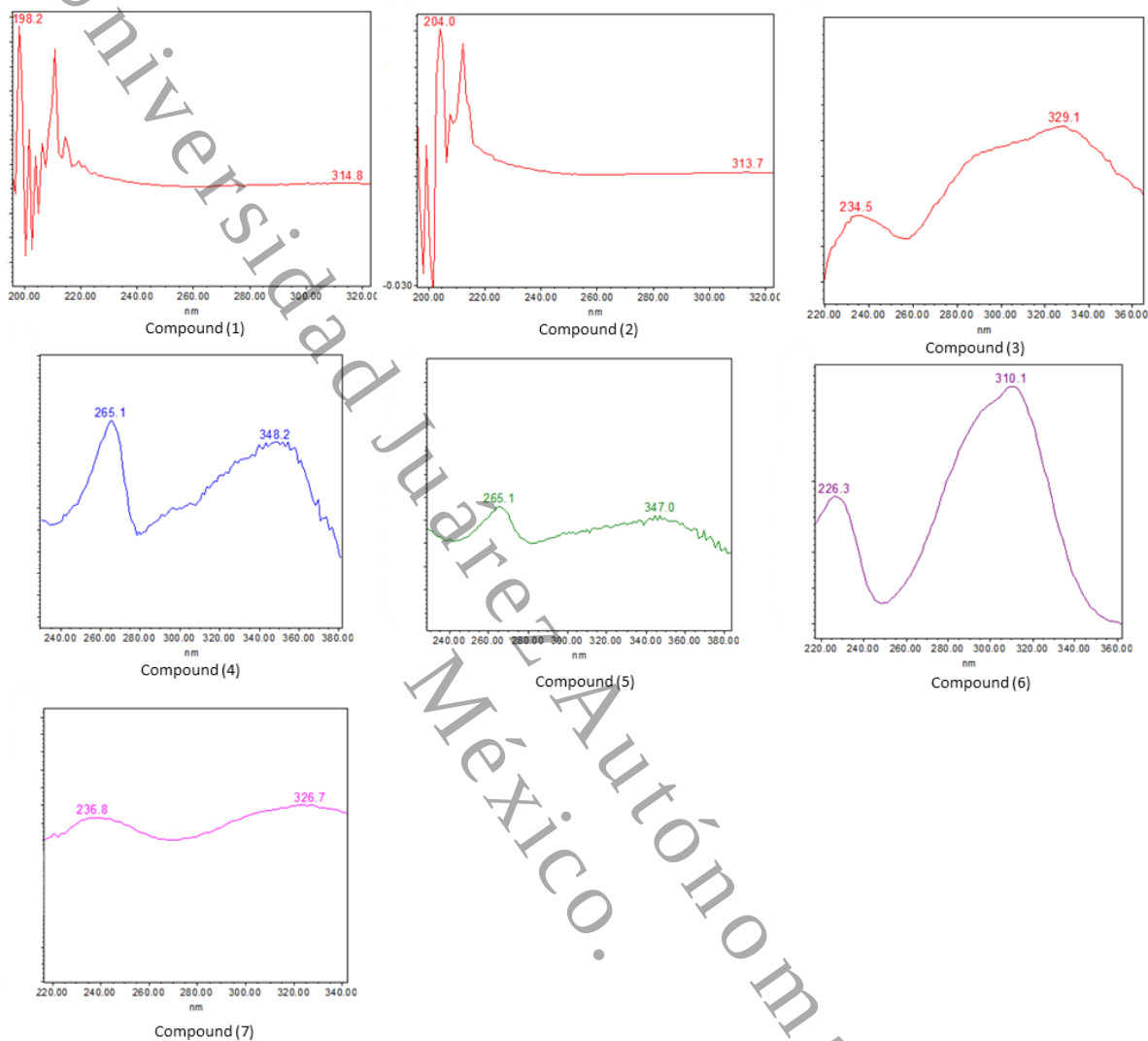


Compound (4)

**A10.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (4b) *A. muricata*.



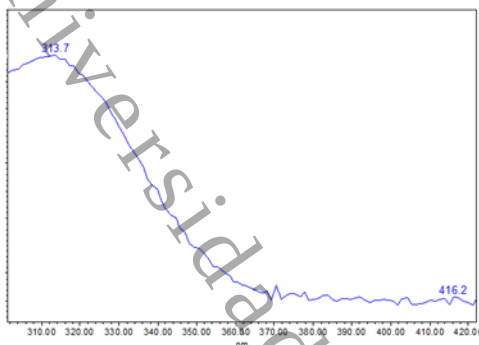
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



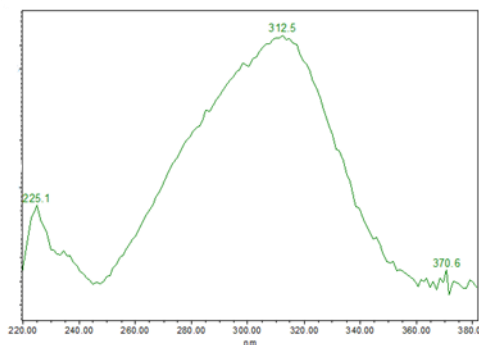
**A11.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (5a) *A. muricata*.



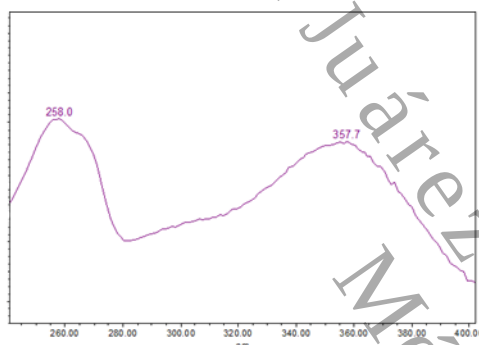
ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE MARCADORES QUÍMICOS Y EFECTO  
ANTIDEPRESIVO DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *Annona muricata* L.  
COLECTADOS EN LAS 5 SUBREGIONES DEL ESTADO DE TABASCO



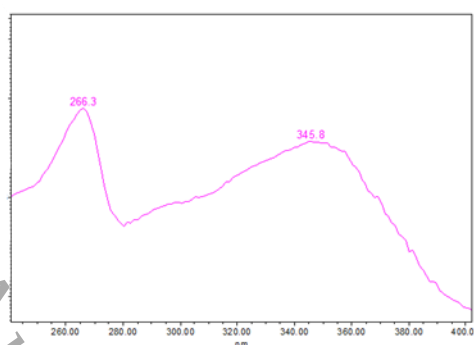
Compound (1)



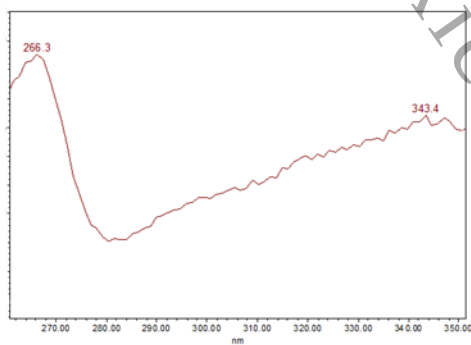
Compound (2)



Compound (3)



Compound (4)



Compound (5)

**A12.-** Espectro-UV de los compuestos principales de (5b) *A. muricata*.