



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América  
Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de las  
hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en ratones  
albinos**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**AUTORES**

Jorge Jesús LAVA GÁLVEZ

César Joseth GARCÍA PÁRRAGA

**ASESOR**

Mg. Francisco Javier María RAMÍREZ CRUZ

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Lava J., García C. Efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en ratones albinos. [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2022.

---

## Metadatos complementarios

<b>Datos de autor 1</b>	
Nombres y apellidos	Jorge Jesús Lava Gálvez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	72789510
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-4027-7341">https://orcid.org/0000-0002-4027-7341</a>
<b>Datos de autor 2</b>	
Nombres y apellidos	César Joseth García Párraga
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	47866903
URL de ORCID	No aplica
<b>Datos de asesor</b>	
Nombres y apellidos	Francisco Javier María Ramírez Cruz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07409206
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-4126-4673">https://orcid.org/0000-0002-4126-4673</a>
<b>Datos del jurado</b>	
<b>Presidente del jurado</b>	
Nombres y apellidos	Carlos Alejandro Bell Cortez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06091747
<b>Miembro del jurado 1</b>	
Nombres y apellidos	Oscar Herrera Calderón

Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	44789288
<b>Miembro del jurado 2</b>	
Nombres y apellidos	Luis Alberto Rojas Ríos
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09738868
<b>Miembro del jurado 3</b>	
Nombres y apellidos	Bertran Santiago Trujillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07186287
<b>Datos de investigación</b>	
Línea de investigación	B.2.1.1. Plantas medicinales con potencial farmacéutico y productos naturales terapéuticos: (estudios fitoquímicos, estudios toxicológicos, estudios farmacológicos, procesos de su industrialización)
Grupo de investigación	Investigación farmacológica y desarrollo de fitofármacos - PRECLIN
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Farmacología País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jr. Puno N° 1002 Latitud: -12.055895 Longitud: -77.023599
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2019 - 2021
URL de disciplinas OCDE	Neurociencias <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.04">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.04</a> Farmacología, Farmacia <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05</a>



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América  
**Facultad de Farmacia y Bioquímica**  
**Decanato**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**"Efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en ratones albinos"**

Que presentan los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

**JORGE JESÚS LAVA GÁLVEZ Y  
CÉSAR JOSETH GARCÍA PÁRRAGA**

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

Dieciocho (18)

de conformidad con el Art. 14.º del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

**JURADO EXAMINADOR Y CALIFICADOR** (R.D. N.º 000923-2021-D-FFB/UNMSM)

- Dr. Carlos Alejandro Bell Cortez
- Dr. Oscar Herrera Calderón
- Mg. Luis Alberto Rojas Ríos
- Mg. Bertran Santiago Trujillo

Lima, 12 de febrero de 2022.

**Dr. Carlos Alejandro Bell Cortez**  
**Presidente**

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**

## **DEDICATORIA**

A mi madre Mery Gálvez, por ser ejemplo de persona íntegra, y por haberme brindado su confianza, paciencia y amor a lo largo de mi vida.

A mi hermano Jhonny Lava, por su motivación y consejos en los en los diversos momentos de mi vida personal y académica.

A mis tíos Orestes y María que están en el cielo, por haberme educado con disciplina y responsabilidad.

A mis padrinos y demás familiares, por brindarme su fortaleza y respaldo incondicional en todo momento.

**Lava Gálvez, Jorge Jesús**

## **DEDICATORIA**

A mi madre Carmen Párraga y mi padre César García, por darme su amor, apoyo, paciencia, confianza, y enseñarme a ser una mejor persona cada día.

A John Rubio, por sus consejos y motivación en cada etapa de mi desarrollo profesional y personal.

A mis hermanos menores Adriano, John y Roy por su preocupación y cariño en todo momento.

A Angela Casio por su comprensión, cariño y aliento en el desarrollo y culminación de mis proyectos y hacer de mí una mejor versión.

A Liz Aliaga por ser una persona admirable y brindarme sus enseñanzas, consejos, respaldo y apoyo en esta etapa profesional de mi vida.

A mis familiares en general por sus deseos sinceros en el logro de mis metas y objetivos.

**García Párraga, César Joseth**



## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por ser nuestro guía y pilar en este camino, brindándonos sabiduría y paciencia para finalizar con éxito nuestras metas propuestas

A nuestro asesor Mg. Q.F. Javier Ramírez, por hacernos llegar su sabiduría, enseñanzas, compromiso, amistad y generosidad para el logro de esta meta.

A los docentes y asistentes del Laboratorio de Farmacología, por sus valiosas recomendaciones y sugerencias en la elaboración y ejecución de la presente investigación, especialmente a Fernanda Alvarado por darnos las facilidades de trabajo y dedicar su tiempo en el desarrollo de este estudio de manera incondicional, deseándole muchos éxitos y prosperidad en sus propósitos personales.

A nuestros compañeros y a la vez amigos, con quienes compartimos momentos de aprendizaje, proyectos, anhelos, aspiraciones y alegrías en esta hermosa carrera profesional. A todos ustedes, nuestra eterna gratitud y éxitos.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	x
ABSTRACT .....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Planteamiento del problema .....	1
1.2. Objetivos .....	3
1.3. Justificación .....	4
1.4. Limitaciones .....	4
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA .....	5
2.1. Marco teórico .....	5
2.2. Antecedentes .....	6
2.3. Bases teóricas .....	8
2.4. Glosario de términos.....	30
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES .....	32
3.1. Hipótesis .....	32
3.2. Variables .....	32
3.3. Operacionalización de variables .....	33
IV. MATERIALES Y MÉTODOS .....	34
4.1. Área de estudio.....	34
4.2. Diseño de la investigación .....	34
4.3. Población y Muestra.....	34
4.4. Materiales y equipos .....	35
4.5. Procedimiento .....	37
4.6. Análisis Estadístico .....	40

V.	RESULTADOS .....	41
5.1.	Propiedades organolépticas del extracto hidroalcohólico .....	41
5.2.	Evaluación del rendimiento del extracto hidroalcohólico.....	41
5.3.	Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico .....	42
5.4.	Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico .....	43
5.5.	Resultados de la Prueba de Preferencia de Sacarosa .....	44
5.6.	Resultados de la Prueba de Natación Forzada Modificada .....	45
VI.	DISCUSIÓN.....	57
VII.	CONCLUSIONES.....	63
VIII.	RECOMENDACIONES.....	64
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	65
X.	ANEXOS.....	76

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica.....	9
Tabla 2. Operacionalización de variables .....	33
Tabla 3. Resultado de las propiedades organolépticas del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero .....	41
Tabla 4. Resultado de la prueba de solubilidad de extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero.....	42
Tabla 5. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero .....	43
Tabla 6. Consumo y porcentaje de preferencia por el consumo de sacarosa en ratones expuestos al UCMS y que fueron tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero. ....	44
Tabla 7. Estadísticos descriptivos del tiempo de inmovilidad, tiempo de nado y tiempo de escalamiento en ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en la prueba de natación forzada modificada. ....	46
Tabla 8. Prueba de normalidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento .....	50
Tabla 9. Prueba de homocedasticidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento.....	51
Tabla 10. Prueba de Kruskal-Wallis del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento.....	52
Tabla 11. Comparaciones múltiples para el tiempo de inmovilidad - Prueba de Tukey .....	54
Tabla 12. Comparaciones múltiples para el tiempo de nado - Prueba de Tukey ..	55
Tabla 13. Comparaciones múltiples para el tiempo de escalamiento - Prueba de Games-Howell.....	56
Tabla 14. Programa de estresores y duración en los días .....	79

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Romero, planta perteneciente a la familia Lamiaceae .....	9
Figura 2. Hojas de Romero en la parte izquierda y planta de Romero en floración en la parte derecha .....	11
Figura 3. Distribución a nivel mundial del Romero .....	12
Figura 4. Estructuras químicas de los componentes del Romero .....	13
Figura 5. Representación esquemática de la neurotransmisión de noradrenalina (NA) y serotonina (5-HT) en la sinapsis neuronal .....	21
Figura 6. Procesos moleculares implicados en el estrés y la depresión .....	22
Figura 7. Modelo de depresión de estrés leve crónico impredecible (UCMS).....	29
Figura 8. Efecto antianhedónico del extracto hidroalcohólico de las hojas Romero en la prueba de preferencia de sacarosa, antes (día 0) y después (día 40) del estrés leve crónico impredecible (UCMS).....	45
Figura 9. Diagrama de cajas del tiempo de inmovilidad en ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en la prueba de natación forzada modificada.....	47
Figura 10. Tiempo de nado en ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en la prueba de natación forzada modificada.....	48
Figura 11. Tiempo de escalamiento en ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en la prueba de natación forzada modificada.....	49
Figura 12. Resumen de la prueba de hipótesis de Kruskal-Wallis en los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento. ....	53
Figura 13. Planta de <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero” .....	81
Figura 14. Hojas de Romero .....	81
Figura 16. Maceración hidroalcohólica de las hojas de Romero al 70% .....	82
Figura 15. Secado de las hojas de Romero .....	82
Figura 17. Filtración del macerado de las hojas de Romero .....	82

Figura 18. Extracto hidroalcohólico seco de las hojas de Romero.....	82
Figura 19. Prozac ® (Fluoxetina 20 mg) utilizado como patrón en las pruebas de comportamiento depresivo.....	83
Figura 20. Administración de extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero vía oral en los animales de experimentación.....	83
Figura 21. Estresor de cama húmeda.....	84
Figura 22. Estresor de aislamiento.....	84
Figura 23. Estresor de luz estroboscópica.....	85
Figura 24. Estresor de natación forzada.....	85
Figura 25. Prueba de Preferencia de Sacarosa.....	86
Figura 26. Prueba de Natación Forzada Modificada.....	86

## ABREVIATURAS

<b>5-HT:</b>	Serotonina
<b>AR:</b>	Ácido Rosmarínico
<b>ATC:</b>	Antidepresivos tricíclicos
<b>BDNF:</b>	Factor neurotrófico derivado del cerebro
<b>CCl<sub>4</sub>:</b>	Tetracloruro de carbono
<b>CRH:</b>	Hormona liberadora de corticotropina
<b>DA:</b>	Dopamina
<b>FST:</b>	Forced Swimming Test, Prueba de Natación Forzada
<b>GABA:</b>	Ácido gamma-aminobutírico
<b>GR:</b>	Receptor de glucocorticoides
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:</b>	Peróxido de hidrógeno
<b>HPA:</b>	Hipotálamo-Pituitaria-Adrenal
<b>IMAO:</b>	Inhibidores de la monoaminoxidasa
<b>IRNA</b>	Inhibidores de la recaptación de noradrenalina
<b>IRSN</b>	Inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina
<b>ISRS</b>	Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
<b>MAO-A:</b>	Monoaminoxidasa A
<b>MR:</b>	Receptor de mineralocorticoides
<b>NE:</b>	Noradrenalina
<b>NET:</b>	Transportador de noradrenalina
<b>NMDA:</b>	N-metil-D-aspartato
<b>SERT:</b>	Transportador de serotonina
<b>SPT:</b>	Sucrose Preference Test, Prueba de Preferencia de Sacarosa
<b>%SPT:</b>	Porcentaje de preferencia por el consumo de sacarosa
<b>TrKB:</b>	Receptor de tirosina quinasa B
<b>TST:</b>	Tail Suspension Test, Prueba de Suspensión de Cola
<b>UCMS</b>	Estrés Leve Crónico Impredecible
<b>VI:</b>	Vía intravenosa

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis* "Romero" en ratones albinos inducidos a depresión. La metodología que se utilizó para identificar los metabolitos secundarios fue la marcha fitoquímica. Para la evaluación de la actividad antidepresiva se empleó el modelo animal del Estrés Leve Crónico Impredecible (UCMS), y mediante la Prueba de Preferencia de Sacarosa (SPT) se midió la anhedonia en los animales después de 40 días de estrés. Complementariamente, se realizó la Prueba de Natación Forzada (FST) modificada, teniendo como indicadores a los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento. Los resultados en el análisis fitoquímico revelaron la presencia de antocianinas, alcaloides, lactonas, aminoácidos, cardenólidos, esteroides, taninos, triterpenos, azúcares reductores y fenoles. En la SPT se observó que los grupos que recibieron 300 y 500 mg/kg de extracto de *Rosmarinus officinalis* obtuvieron un aumento en el porcentaje de preferencia por la sacarosa de 73,73 y 81,17 % respectivamente, posterior al periodo de estrés. Además, en la FST modificada, a todos los grupos que se les administró el extracto de *Rosmarinus officinalis*, disminuyeron el tiempo de inmovilidad significativamente ( $p < 0,05$ ), en comparación con el grupo que recibió agua destilada + UCMS. En el tiempo de nado, no hubo diferencia significativa en los grupos que recibieron el extracto. Mientras en el tiempo de escalamiento, se evidenció un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) con los extractos de 100 y 500 mg/kg de *Rosmarinus officinalis*. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis* "Romero" demostró tener efecto antidepresivo.

**Palabras clave:** *Rosmarinus officinalis*, antidepresivo, estrés crónico, preferencia de sacarosa, natación forzada.



## ABSTRACT

The aim of this study was to determine the antidepressant effect of hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* "Rosemary" on depression induced in albino mice. The method we used to identify the secondary metabolites was the phytochemical march. To evaluate the antidepressant activity, we used the animal model of Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS), and by means of Sucrose Preference Test (SPT) we measured anhedonia in animals after 40 days of stress. Complementarily, we carried out the modified Forced Swimming Test (FST), having as indicators the immobility, swimming and climbing times. The results in the phytochemical analysis revealed the presence of anthocyanins, alkaloids, lactones, amino acids, cardenolides, steroids, tannins, triterpenes, reducing sugars and phenols. In the SPT we observed that groups which received 300 and 500 mg/kg of extract of *Rosmarinus officinalis* obtained an increase in the percentage of preference for sucrose of 73,73 and 81,17 % respectively, after the stress period. In addition, in the modified FST, all groups that were administered extract of *Rosmarinus officinalis*, significantly decreased the immobility time ( $p < 0.05$ ), compared to group which received distilled water + UCMS. In the swimming time, there was no significant difference in the groups which received the extract. While in the climbing time, we evidenced a significant increase ( $p < 0.05$ ) with 100 and 500 mg/kg of extract of *Rosmarinus officinalis*. In conclusion, the hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* "Rosemary" demonstrated antidepressant effect.

**Keywords:** *Rosmarinus officinalis*, antidepressant, chronic stress, sucrose preference, forced swimming.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Planteamiento del problema

La depresión es un problema que preocupa a todos los sistemas de salud a nivel mundial, debido a que es la enfermedad mental más frecuente, puede volverse crónica y perjudicar seriamente la calidad de vida de los individuos. De acuerdo con el último reporte de la Organización Mundial de la Salud indica que hay más de 280 millones de personas que padecen este trastorno mental, lo que ha generado un incremento de más del 18 % de personas enfermas entre el periodo 2005 al 2015. En su forma más grave, existe el riesgo de que esta enfermedad pueda llevar a la conducta suicida; cabe señalar que alrededor de 700 mil personas fallecen anualmente por suicidio, siendo la cuarta causa principal de muerte entre las edades de 15 a 29 años <sup>(1)</sup>.

A nivel de Latinoamérica, la depresión se ubica como la causa principal de discapacidad y el Perú se localiza en el sexto puesto de países con más casos de trastornos depresivos, con una prevalencia de 4,8 % superando al promedio mundial de 4,4 % <sup>(2)</sup>. En nuestro país, de acuerdo con los datos epidemiológicos del Instituto Nacional de Salud Mental “Honorio Delgado – Hideyo Noguchi”, hay aproximadamente 1 millón 700 mil personas que padecen un cuadro depresivo <sup>(3)</sup>. Además, es el trastorno neuropsiquiátrico que causa la mayor carga de años de vida saludables perdidos (AVISA) por efecto de la discapacidad y la muerte prematura, lo que representa 7.5 AVISA por cada 1 000 habitantes <sup>(4)</sup>.

En la actualidad existen una variedad de fármacos con distintos mecanismos de acción que se encuentran disponibles para el tratamiento de la depresión, siendo estos agrupados en tres principales categorías: Los IMAO (inhibidores de la monoaminoxidasa), los ATC (antidepresivos tricíclicos) y los antidepresivos de segunda generación. Estos últimos comprenden a los IRNA (inhibidores de la recaptación de noradrenalina), los ISRS (inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina) y los IRSN (inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina). Sin embargo, no todos los tratamientos dan los resultados esperados e incluso llegan a causar efectos adversos significativos que afectan

negativamente el estado de salud de los pacientes. De modo que, urge la necesidad de encontrar terapias alternativas con similar eficacia y de ser posible menos efectos adversos <sup>(5)</sup>.

Las plantas medicinales han adquirido un gran interés para los investigadores en la búsqueda de nuevos tratamientos, más seguros, eficaces y asequibles a la población. Por ello, en años recientes se han venido realizando estudios preclínicos y clínicos de diversas plantas con potenciales efectos antidepresivos, siendo *Rosmarinus officinalis* (Romero) una de las especies vegetales más destacada a la que se le puede atribuir su actividad antidepresiva a la presencia de compuestos fenólicos, terpenoides y aceites esenciales <sup>(6)</sup>.

A pesar del número creciente de investigaciones en animales que han demostrado los efectos antidepresivos de *Rosmarinus officinalis*, existe un vacío de conocimiento en estos estudios, debido a la corta duración del tratamiento y a la falta de validez de constructo (factores causales que desarrollan la enfermedad) y validez aparente (similitud en la sintomatología humana) en los modelos y pruebas realizadas <sup>(7)</sup>.

Por lo tanto, la presente investigación se realizó con el interés de corroborar el uso de *Rosmarinus officinalis* para el tratamiento de la depresión, empleando un modelo de depresión animal diferente a los ya realizados en esta especie vegetal. Además, de motivar la importancia de la diversidad botánica en generar tratamientos alternativos derivados de las plantas medicinales.

### **Formulación del problema**

¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* administrado en ratones albinos, presentará actividad antidepresiva?

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo General**

- Determinar el efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “Romero” en ratones albinos inducidos a depresión.

### **1.2.2. Objetivos Específicos**

- Identificar los principales metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis*.
- Evaluar en la prueba de preferencia de sacarosa el consumo de sacarosa de ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis*.
- Evaluar en la prueba de natación forzada modificada el tiempo de inmovilidad de ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis*.
- Evaluar en la prueba de natación forzada modificada el tiempo de nado y de escalamiento de ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis*.

### **1.3. Justificación**

El Estado peruano mediante la Resolución Ministerial N° 658-2019/MINSA ha considerado los temas relacionados a la salud mental como una prioridad de investigación en salud, mediante la implementación y desarrollo de estrategias en la promoción, prevención, tratamiento y rehabilitación de la salud mental <sup>(8)</sup>.

En este sentido, la presente investigación se encuentra dentro una de las prioridades de investigación en salud. Asimismo, busca conocer la actividad antidepresiva de *Rosmarinus officinalis* por el modelo animal del estrés leve crónico impredecible (UCMS), dicho modelo es uno de los que cuenta con mayor validez, puesto que induce a un comportamiento depresivo a largo plazo y su característica más importante es el desarrollo de anhedonia en el animal, tratándose de uno de los síntomas centrales de la depresión <sup>(7)</sup>.

Por consiguiente, los resultados obtenidos de esta investigación aportarán una base científica para futuros proyectos preclínicos y clínicos; además de fomentar el uso de la medicina tradicional.

### **1.4. Limitaciones**

El presente estudio tuvo la limitación de no determinar los mecanismos de acción involucrados en el efecto antidepresivo. Además, de no cuantificar y separar los metabolitos secundarios presentes en la planta estudiada. Por último, otra limitación fue no añadir una prueba que evalúe la actividad locomotora en los ratones, para descartar cualquier efecto psicoestimulante que provoque sesgos en la evaluación de la conducta depresiva.

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1. Marco teórico

La presente investigación refirió a un enfoque cuantitativo, puesto que se caracteriza por seguir un conjunto de procesos y ser probatorio. En ese sentido, sigue la misma línea del positivismo filosófico al considerar que los fenómenos estudiados deben ser medibles. Para ello hizo uso de la recolección de datos con la finalidad de probar la hipótesis, basándose en métodos estadísticos que analizan las mediciones o conteo de las variables establecidas <sup>(9)</sup>.

Por otra parte, este estudio guarda relación con la medicina tradicional, la cual representa un conjunto valioso de conocimientos destinados a prevenir y recuperar el nivel de salud de la población. Según la OMS, la medicina tradicional hace referencia a una sumatoria total de conocimientos, capacidades y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias propias de diversas culturas, usadas para prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar enfermedades físicas y mentales. A su vez, la medicina alternativa es aquella que se asume como equivalente a la medicina convencional; en tanto la medicina complementaria involucra las técnicas que provienen de otros procedimientos médicos, utilizadas de manera secundaria o complementaria a la medicina convencional <sup>(10)</sup>.

Es sabido que los medicamentos que provienen de las plantas conforman un grupo importante de agentes terapéuticos en la medicina tradicional y/o moderna. En su mayoría la medicina tradicional involucra el uso de extractos de plantas o sus componentes activos para las terapias de dolencias leves, moderadas o afecciones crónicas de las personas <sup>(11)</sup>. Asimismo, la utilización de estas plantas medicinales y sus preparados naturales representan una práctica frecuente y de gran aceptación en el mundo, es por ello que, la investigación de estas especies vegetales debe representar una mayor consideración y ser uno de los desafíos claves para los sistemas de salud tanto en países desarrollados, como para los que se encuentren en vías de desarrollo.

## **2.2. Antecedentes**

### **2.2.1. Antecedentes Internacionales**

Andrade J. et al. (2018) realizaron una extensa investigación en relación con las actividades biológicas y los constituyentes activos del Romero a través de las bases de datos: PubMed, ScienceDirect y Web of Science. Reportaron que en los últimos 20 años esta planta ha sido más estudiada por presentar propiedades anticancerígenas, antioxidantes y antiinfecciosas, representando el 55 % de los estudios; en tanto el 23 % estuvo relacionado a investigaciones sobre el sistema nervioso central, inflamación y analgesia. Concluyendo que los componentes activos más importantes son el ácido carnósico, el carnosol, el ácido rosmarínico y los aceites esenciales. Se estima que en un futuro el Romero sea utilizado en el tratamiento y prevención de diversas afecciones patológicas y enfermedades que afectan el sistema nervioso central como la depresión, Alzheimer y Parkinson <sup>(12)</sup>.

Kondo S. et al. (2015) investigaron acerca de los efectos antidepresivos del ácido rosmarínico (AR). Para ello, midieron el tiempo de inmovilidad de los ratones a través de la TST, utilizando concentraciones de 5 y 10 mg/kg de AR y 20 mg/kg de bupropión como antidepresivo estándar. Asimismo, se evaluaron los niveles de corticosteroides, catecolaminas y otros biomarcadores. Los resultados evidenciaron una reducción del tiempo de inmovilidad en TST, además de una disminución de los niveles séricos de corticosterona muy similares al bupropión. En cuanto a las catecolaminas a nivel cerebral, el AR no mostró un aumento significativo de las concentraciones de adrenalina y noradrenalina; sin embargo, sí se evidenció un incremento significativo de los niveles de dopamina y una regularización positiva de los biomarcadores analizados <sup>(13)</sup>.

Al Mukhtar E. et al. (2013) evaluaron la actividad antidepresiva del extracto acuoso de Romero en ratones machos con el modelo FST. Se emplearon cuatro grupos, donde al grupo I se le administró 0,3 mL de agua destilada, grupo II 15 mg/kg de imipramina, grupo III y grupo IV 15 y 30 mg/kg de extracto acuoso de Romero respectivamente, por un periodo de 5 días. Se observó que de las dosis de 15 y 30 mg/kg de extracto redujeron significativamente el tiempo de inmovilidad e incrementaron el tiempo de nado, en comparación con el grupo control. Respecto

con la imipramina, los resultados fueron similares concluyendo que el extracto acuoso de Romero tuvo actividad antidepresiva comparable a la imipramina <sup>(14)</sup>.

Moinuddin G. et al. (2011) llevaron a cabo un estudio donde se evaluó la actividad antidepresiva de los extractos de 20 mg/kg de *Hypericum perforatum* y 500 mg/kg de *Rosmarinus officinalis*, mediante cuatro modelos de depresión, tales como FST, reversión de la reserpina (RRT), catalepsia inducida con haloperidol (HIC) y tiempo de sueño de pentobarbital (PST) en ratas Wistar. Los resultados si bien no demostraron un efecto potenciador en PST por parte de los extractos frente al estándar imipramina, sí se observó una disminución mayor de la inmovilidad de *H. perforatum* como de *R. officinalis* en FST y RRT. Finalmente, en HIC se evidenció una inhibición por ambos extractos, pero fue más temprana y significativa con el extracto de *H. perforatum* que con *R. officinalis*. Por consiguiente, se concluye que tanto *Hypericum perforatum* como *Rosmarinus officinalis* poseen una potente actividad antidepresiva <sup>(15)</sup>.

Machado D. et al. (2009) realizaron una investigación del efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de Romero, utilizando las pruebas de TST y FST en ratones suizos machos, donde se les administró concentraciones de 1 a 300 mg/kg de extracto y 10 mg/kg de fluoxetina como antidepresivo estándar. Los resultados mostraron que el extracto actuaba sobre el sistema serotoninérgico y que, a nivel adrenérgico, el extracto ejercía su efecto en los receptores  $\alpha_1$ , pero no en  $\alpha_2$ . Mientras que, los antagonistas dopaminérgicos revirtieron el efecto antidepresivo del extracto. Estos resultados sugieren que el efecto antidepresivo del Romero posiblemente se deba a su interrelación con el sistema monoaminérgico <sup>(16)</sup>.

### **2.2.2. Antecedentes Nacionales**

Garavito E. (2011) demostró el efecto antidepresivo del extracto de *Lactuca sativa* en ratones. Los resultados en la FST modificada mostraron que la concentración de 100 mg/kg de extracto de *Lactuca sativa* produjo una disminución significativa en el tiempo de inmovilidad, y a su vez un aumento en los tiempos de nado y escalamiento. En tanto, en la SPT se evidenció un aumento del consumo de sucrosa posterior al periodo de estrés; mientras que, en la prueba de Actividad



Motora Espontánea, no se presentó una variación significativa en el número de movimientos rápidos y lentos comparados a su basal. Ante lo expuesto, tal efecto antidepresivo podría sugerirse a la presencia de compuestos antioxidantes que reducirían el estrés oxidativo y de esta forma evitarían las enfermedades neuropsiquiátricas <sup>(17)</sup>.

Laines G. (2010) evaluó el efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de *Hypericum laricifolium* en ratones albinos, mediante las pruebas FST modificada y TST. Se observó en los resultados que los grupos tratados con 100 y 1 000 mg/kg de extracto disminuyeron el tiempo de inmovilidad significativamente en la FST modificada, asimismo, en el tiempo de nado se evidenció un aumento significativo con el grupo que recibió 1 000 mg/kg; sin embargo, en el tiempo de escalamiento no hubo un incremento significativo en ninguno de los grupos. Por su parte en la TST, sólo el grupo que fue tratado con 1 000 mg/kg de extracto redujo el tiempo de inmovilidad. En este sentido, la acción antidepresiva del extracto podría explicarse a que actúa contra las enzimas monoaminoxidasas y su acción que ejerce al inhibir la recaptación de las monoaminas <sup>(18)</sup>.

## **2.3. Bases teóricas**

### **2.3.1. *Rosmarinus officinalis* “Romero”**

Esta especie vegetal aromática forma parte de la familia Lamiaceae, la cual está conformada por aproximadamente 236 géneros y de 6 900 a 7 200 especies. Como parte de la práctica sanitaria de diversas culturas, esta familia se ha empleado en la terapéutica de trastornos depresivos, estrés y Alzheimer. De la misma manera que su familia, el Romero se ha utilizado como una hierba medicinal desde hace miles de años por diversas civilizaciones de la antigüedad. La capacidad conservadora y medicinal de la planta está basada principalmente en sus aceites esenciales y extractos, cabe mencionar que, la cantidad y presencia de sus diversos componentes químicos serán diferenciados e influenciados por las circunstancias ambientales en las que crezcan <sup>(19)</sup>.



**Figura 1.** Romero, planta perteneciente a la familia Lamiaceae.

**Fuente:** Flores-Villa et al., 2020 <sup>(19)</sup>.

### 2.3.1.1. Clasificación taxonómica

La identificación taxonómica fue realizada de acuerdo con la clasificación de Cronquist (1988), en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima, Perú.

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica

<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	Asteridae
<b>Orden</b>	Lamiales
<b>Familia</b>	Lamiaceae
<b>Género</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Especie</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.
<b>Nombre vulgar</b>	“Romero”

**Fuente:** Museo de Historia Natural – UNMSM

### 2.3.1.2. Aspectos botánicos

**Nombre común:** Romero (español), alecrim (portugués), rosemary (inglés), rosmarin (francés y alemán), rosmarino (italiano) <sup>(20)</sup>.

**Sinónimos:** *R. angustifolius*, *R. latifolius*, *R. tenuifolius*, entre otros <sup>(20)</sup>.

**Etimología:** Proviene de los vocablos latinos “ros” y “marinus”, los cuales significan “rocío del mar” o “rocío marino” <sup>(19)</sup>. Asimismo, el epíteto específico *officinalis*, se refiere al uso medicinal de la planta <sup>(20)</sup>.

### 2.3.1.3. Descripción morfológica

El Romero es un arbusto erecto o procumbente, cuyo tamaño máximo abarca 2 m de altura. Las hojas presentan forma de agujas con flecos y nervio central prominente, además, son coriáceas, recurvadas y resinosas; en cuanto a sus dimensiones, tienen un largo que va de los 2 a 4 cm, mientras que el ancho mide de 2 a 5 mm <sup>(20-22)</sup>. Respecto a sus superficies exhiben una coloración verde sobre la parte superior y un color gris en la zona inferior, presentando un aspecto lanoso debido a sus numerosos tricomas <sup>(23)</sup>. Las ramas son rígidas y los tallos son marrones, cuadrados y leñosos. Acerca de sus flores, son pequeñas y pueden presentar colores blanquecinos, azules o púrpuras en inflorescencia cimosa <sup>(24)</sup>. Además, manifiestan un fuerte olor característico y fragante, debido al aceite volátil acumulado en los tricomas glandulares típicos del peltado y el capitado <sup>(22)</sup>. Por lo que concierne a sus semillas, son negras y muy pequeñas; el fruto está compuesto de cuatro hojas de nuez de forma subglobosa u obovoide con un aspecto glabro y liso <sup>(21)</sup>.

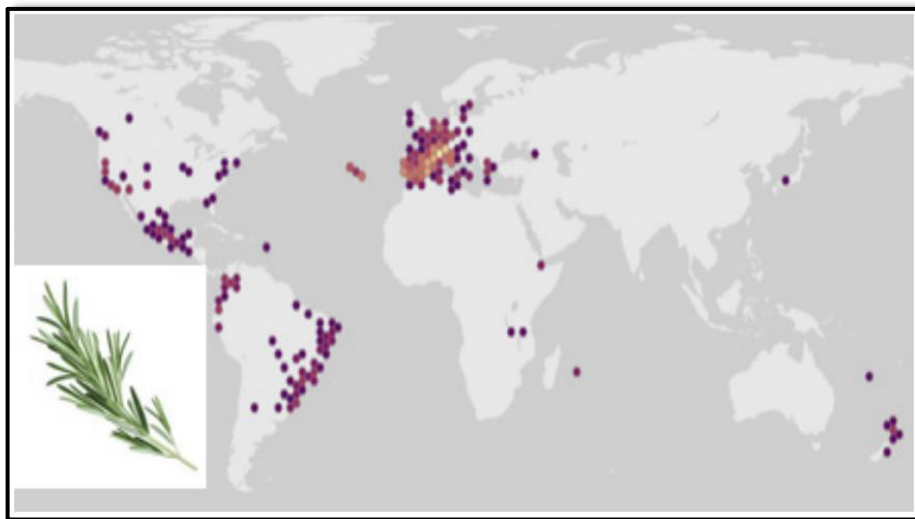


**Figura 2.** Hojas de Romero en la parte izquierda y planta de Romero en floración en la parte derecha.

**Fuente:** Kompelly et al., 2019 <sup>(21)</sup>.

#### **2.3.1.4. Hábitat y distribución geográfica**

*Rosmarinus officinalis* es una especie xeromórfica que se desarrolla en superficies secas o moderadamente húmedas, además logran crecer en suelos arenosos, acantilados y lugares pedregosos. Si bien es originaria de la región mediterránea, se ha adaptado a diferentes tipos de hábitats en el mundo, como el sur de Europa, Asia occidental, África y América <sup>(19,20)</sup>.



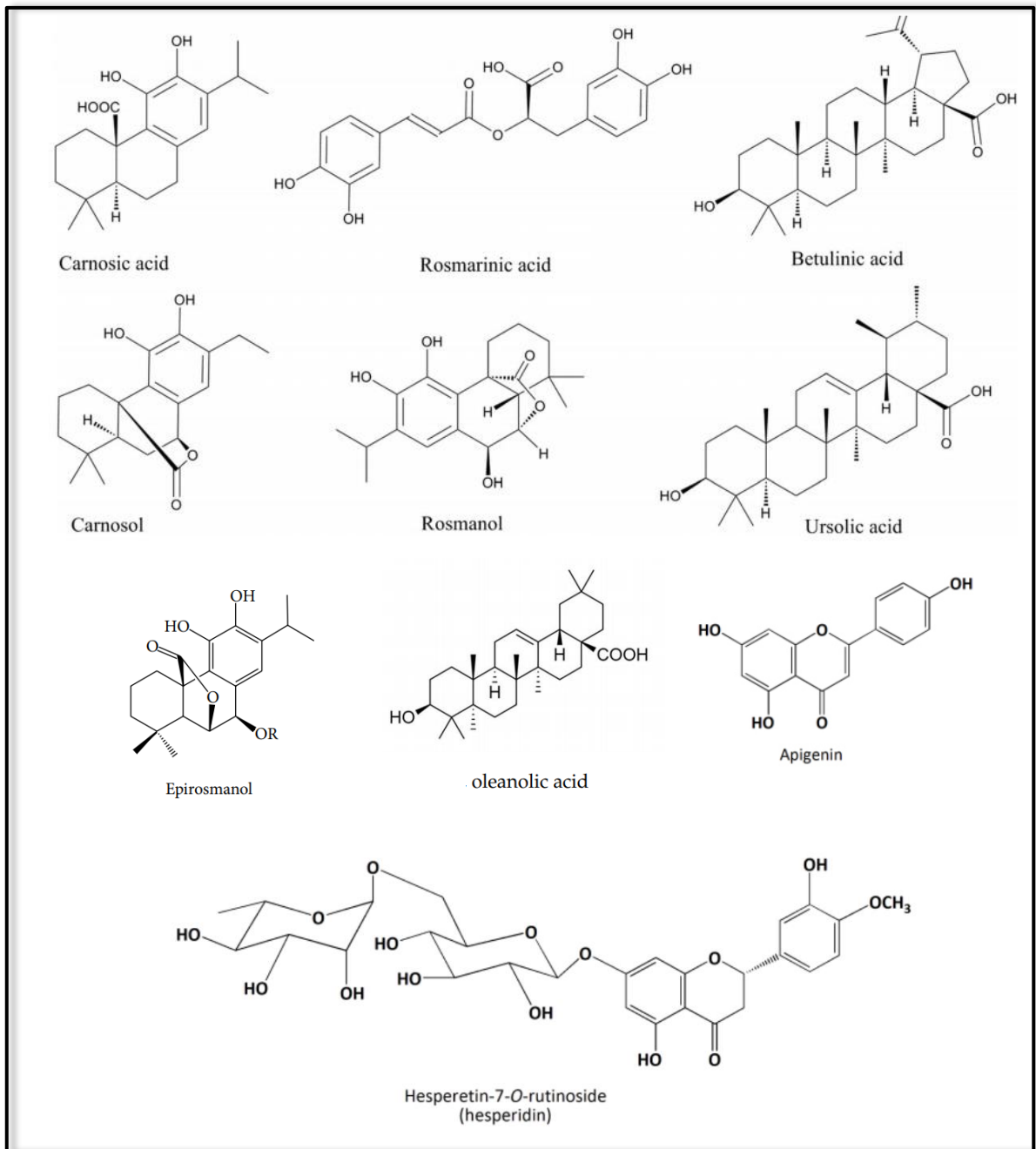
**Figura 3.** Distribución a nivel mundial del Romero.

**Fuente:** González-Minero et al., 2020 <sup>(20)</sup>.

#### **2.3.1.5. Composición química**

Esta planta contiene aproximadamente un 0,5-2,5 % de aceite esencial, integrado en su mayoría por 1,8-cineol (15-50 %), alcanfor (15-25 %),  $\alpha$ -pineno (10-25 %), canfeno (5,2-8,6 %) y borneol (3,2-7,7 %) <sup>(19)</sup>.

Además, en el Romero se han encontrado diferentes compuestos químicos, estos bioactivos son los que le otorgan esas características que han sido de gran utilidad para el ser humano a lo largo del tiempo. Es así como en esta planta se pueden destacar dos familias químicas importantes, como son los compuestos fenólicos y los terpenos. De estas dos familias en ambas hay una gran y diversa cantidad de componentes, por ejemplo, entre los compuestos fenólicos destacan el ácido cafeico y el ácido rosmarínico. Mientras que en los terpenos podemos encontrar al ácido ursólico y al ácido carnósico <sup>(25)</sup>.



**Figura 4.** Estructuras químicas de los componentes del Romero.

**Fuente:** Hassani et al., 2016 <sup>(26)</sup>.

### **2.3.1.6. Cultivo de Romero**

El Romero se puede desarrollar como un cultivo de campo o como planta de interior. Su crecimiento prospera en suelos bien drenados cuyo pH se encuentra entre 6.5 a 7.0, con condiciones climáticas cálidas y soleadas, también crece en un clima tropical semiárido. Se sabe que las propiedades y los nutrientes del suelo, así como su régimen correcto de humedad influyen en el rendimiento y la composición de su aceite, por lo que, esta especie vegetal sin estrés puede producir niveles muy altos de aceites esenciales y compuestos fenólicos, que aquellas que están sometidas a estrés hídrico y nutricional <sup>(24)</sup>.

Por otro lado, el Romero es una hierba perenne propagada por esquejes o semillas, cabe mencionar que, los esquejes de 10 a 15 cm de longitud de las plantas madre son ideales para la propagación vegetativa. Además, se debe tener en cuenta que la poda del Romero es aconsejable, aunque no esencial, después de 2 o 3 años para mejorar la producción de brotes y hojas <sup>(24)</sup>. Su periodo de floración ocurre de mayo a junio en climas mediterráneos, y el de fructificación durante las estaciones de primavera y verano <sup>(19)</sup>. Es importante señalar que el Romero tiene una vida media que oscila entre 5 a 15 años <sup>(27)</sup>.

### **2.3.1.7. Usos medicinales**

Los principales compuestos responsables de las actividades terapéuticas que presenta esta planta radican en los constituyentes fenólicos y volátiles, sin embargo, los componentes menores también pueden influir potencialmente en las actividades biológicas, debido a la posibilidad de un sinergismo entre ellos <sup>(22)</sup>. Las bioactividades más destacadas del Romero son las siguientes:

#### **Actividad antioxidante**

Esta actividad está presente en los constituyentes fenólicos como el ácido carnósico, carnosol, ácido rosmarínico, rosmanol, carnosato de metilo, ácido betulínico, mirceno y flavonoides como luteolina, cirsimaritina y genkwanin, además de los compuestos volátiles <sup>(22)</sup>. La acción antioxidante se debe a que el ácido carnósico y el carnosol, actúan como inhibidores de la peroxidación lipídica en los

sistemas liposomales y microsomales, eliminando los radicales de peroxilo e hidroxilo, además de reducir el citocromo C <sup>(21)</sup>.

### **Actividad hepatoprotectora**

Se ha demostrado que el Romero inhibe y reduce la hepatotoxicidad inducida por el CCl<sub>4</sub> en ratas, posiblemente al eliminar o bloquear la formación de radicales libres generados durante el metabolismo del CCl<sub>4</sub> <sup>(21)</sup>.

### **Actividad anticancerígena**

El Romero presenta acción contra las tres etapas principales del desarrollo del cáncer: iniciación (actividad quimiopreventiva), promoción (actividad antiproliferativa) y progresión (actividad anti invasiva o antimetastásica) <sup>(28)</sup>.

Un estudio realizado en células cancerosas de hígado HepG2 mostró que el ácido carnósico, ácido betulínico y compuestos volátiles, como el 1,8-cineol, el alcanfor y el  $\alpha$ -pineno poseen actividad antiproliferativa, en virtud a la gran capacidad de desestabilizar la membrana mitocondrial, lo que conduce a una liberación de proteínas pro apoptóticas en el citoplasma, para una posterior programación de muerte celular <sup>(22,28)</sup>.

### **Actividad antidiabética**

Se ha evidenciado que el extracto de Romero reduce la glucemia de conejos normoglucémicos, hiperglucémicos y diabéticos; dado que detiene la peroxidación lipídica e impulsa a las enzimas antioxidantes para que promueven la secreción de insulina <sup>(21)</sup>.

### **Actividad antidepresiva**

Se ha comprobado que el Romero mejora las funciones dopaminérgicas, serotoninérgicas, noradrenérgicas y colinérgicas dentro del cerebro; aumentando la concentración de neurotransmisores en el cerebro de ratones <sup>(21)</sup>. Tal efecto radica en componentes activos como el ácido carnósico, carnosol, ácido betulínico, ácido ursólico, 1,8-cineol, luteolina, y ácido rosmarínico presentes en su extracto <sup>(22)</sup>.



### **Actividad neuroprotectora**

Su efecto neuroprotector se debe a que inhibe la acetilcolinesterasa (AChE) y la butirilcolinesterasa (BChE) a nivel cerebral, enzimas responsables de la descomposición de acetilcolina. Al aumentar los niveles totales de colina en el cerebro, el Romero podría atenuar no solo la enfermedad de Alzheimer, sino también la pérdida de memoria, la ansiedad y la depresión. La capacidad neuroprotectora del extracto de Romero es debido a la inhibición de las proteínas de estrés, y también a la promoción de la producción del factor de crecimiento nervioso (NGF), ayudando así a mitigar la enfermedad de Alzheimer, la demencia y otras enfermedades neurodegenerativas <sup>(21)</sup>.

Cabe destacar que, el ácido carnósico y el carnosol protegen las células neuronales eliminando las especies reactivas de oxígeno. En consecuencia, la actividad de los diterpenos de Romero promovería directamente la síntesis de enzimas protectoras antioxidantes, teniendo una influencia positiva en la homeostasis neuronal <sup>(28)</sup>.

### **Actividad antiinflamatoria**

El aceite esencial de Romero y el extracto inhiben significativamente la migración de leucocitos *in vivo*, esto reduce el número de leucocitos en el sitio de inflamación, resultando en una respuesta antiinflamatoria <sup>(21)</sup>. Además, el ácido carnósico y el carnosol detienen la formación de leucotrienos proinflamatorios en los glóbulos blancos polimorfonucleares e inhiben la actividad de la 5-lipoxigenasa <sup>(28)</sup>.

### **Actividad contra la obesidad**

El Romero limita el incremento de peso a través de la supresión de la diferenciación de adipocitos por medio del ácido carnósico. Por otra parte, el extracto de Romero evita el aumento de peso al limitar la absorción de lípidos en el intestino e inhibir su síntesis mediante la supresión del diacilglicerol aciltransferasa (DGAT), la principal enzima responsable de la producción de triglicéridos <sup>(28)</sup>.

### **Actividad ansiolítica**

Se ha evidenciado que la administración oral de té de Romero en ratones machos adultos reduce la ansiedad <sup>(29)</sup>. Los constituyentes implicados en esta actividad radican en los componentes como luteolina, ácido carnósico y apigenina <sup>(30)</sup>.

## Actividad antibacteriana

El Romero es eficaz contra algunos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, entre otros. Por consiguiente, puede reducir el riesgo y la incidencia de infecciones bacterianas causadas por estos microorganismos. Los compuestos volátiles como el 1,8-cineol, alcanfor, eugenol y  $\alpha$ -pineno, así como el ácido carnósico se han asociado con la actividad antimicrobiana del Romero <sup>(22)</sup>.

### 2.3.2. Depresión

El trastorno depresivo mayor denominado comúnmente como “depresión”, es un trastorno mental que se caracteriza básicamente por presentar un decaimiento persistente del estado de ánimo o una disminución del placer o interés en experiencias que solían ser agradables. En ocasiones suele ir acompañada por una sintomatología tales como, falta de energía, alteración del sueño, cambios en el apetito, problemas de concentración, sentimientos de culpa y pensamientos de muerte. De este modo ocasiona alteraciones de las funciones afectivas, cognitivas, vegetativas y somáticas del individuo, disminuyendo sus vínculos interpersonales y de esta manera su calidad de vida <sup>(31)</sup>.

El término depresión procede del vocablo latino *depressus*, cuyo significado es “abatido” o “derribado”, en el cual se evidencia un estado de abatimiento e infelicidad temporal o duradero <sup>(32)</sup>. A menudo, el término *depresión* ha sido utilizado para describir un estado pasajero de tristeza, no obstante; existen claras distinciones entre lo patológico y lo normal. La tristeza es un estado emocional normal, desencadenada por acontecimientos adversos en la vida que por lo general es limitada en el tiempo. En tanto, la depresión es una entidad clínica caracterizada por presentar signos y síntomas, lo que la convierte en una enfermedad mental diagnosticable y necesariamente requiere tratamiento <sup>(33,34)</sup>.

En ocasiones resulta confuso y hasta complejo el realizar un diagnóstico preciso del trastorno depresivo mayor y el trastorno bipolar, especialmente en la fase inicial de ambos cuadros clínicos, dado que comparten síntomas depresivos. Sin embargo, debemos tener claro que, en el trastorno depresivo mayor o depresión

unipolar, existen únicamente episodios depresivos mayores que pueden ser uno o más. A diferencia del trastorno bipolar o depresión bipolar, que se define por ser un trastorno crónico recurrente y principalmente por presentar fluctuaciones en el estado de ánimo, donde se alternan episodios depresivos y maníacos <sup>(35)</sup>.

La depresión al volverse crónica va a generar sufrimiento en el individuo y en las personas de su entorno, con consecuencias lamentables en el aspecto familiar, laboral, económico y social. Por tales motivos, es considerada la razón principal de discapacidad a nivel mundial <sup>(36)</sup>.

A pesar de tener una alta prevalencia, un número alto de casos no se logra diagnosticar y tratar, lo que afecta gravemente su desarrollo, pudiendo aparecer el riesgo del comportamiento suicida, lo que pondría en peligro la vida del individuo que padece esta enfermedad <sup>(37)</sup>.

Según el “*Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-V)*”, los criterios que se utilizan para diagnosticar a una persona de trastorno depresivo mayor, es la existencia de por lo menos cinco síntomas de los nueve descritos en el DSM-V, uno de ellos tiene que ser descenso del estado de ánimo o decaimiento del interés o placer, por al menos dos semanas <sup>(38)</sup>.

1. Descenso del estado de ánimo
2. Decaimiento del interés o placer
3. Variación en el apetito o peso
4. Insomnio o hipersomnia
5. Agitación o retraso psicomotor
6. Disminución de energía o fatiga
7. Sentimientos excesivos de culpabilidad o inutilidad
8. Reducción de la capacidad de concentración y decisión
9. Pensamientos frecuentes de muerte o ideación suicida.

### **2.3.2.1. Epidemiología**

La depresión es la afección mental más frecuente en todas las naciones y culturas, con una prevalencia mundial de 4,4 a 5 % y una incidencia anual de 2.4 a 3.8 %<sup>(39)</sup>. Los trastornos depresivos representan aproximadamente el 50 % de las consultas psiquiátricas y el 12 % de todos los ingresos hospitalarios<sup>(40)</sup>; a su vez se estima que una de cada siete personas sufrirá un episodio depresivo durante su vida<sup>(41)</sup>.

La depresión tiende a afectar casi el doble a las mujeres en comparación con los varones. La diferencia en la prevalencia relacionada con el sexo, surge en la adolescencia debido a los cambios hormonales que interactúan con factores biológicos y sociales. Además, otros estudios indican que el embarazo, la menarquia, la menstruación y la menopausia incrementan el riesgo de padecer trastornos depresivos en las mujeres<sup>(42)</sup>.

La edad de inicio de la depresión en promedio es de 27 años, aunque en la mitad de los pacientes aparece entre los 20 y 50 años; no obstante, la tendencia actual refleja un inicio cada vez más temprano. Por otra parte, los síntomas cambian con la edad; en niños se observa irritabilidad y retraimiento social, en adolescentes se presenta alteración del apetito e hipersomnias, mientras que los ancianos experimentan rasgos melancólicos como anhedonia, insomnio y pérdida de energía<sup>(41)</sup>.

La depresión está relacionada con una muerte temprana en todos los grupos etarios, siendo el suicidio el mayor riesgo como consecuencia de esta enfermedad. El 8 % de pacientes deprimidos comete un suicidio y esta cifra asciende a un 20 % en ausencia de un tratamiento. Para las mujeres las tasas de intentos de suicidio suelen ser de tres a cinco veces más altas que las de los hombres; sin embargo, los pacientes masculinos tienen un mayor riesgo de un suicidio exitoso, puesto que deciden por métodos más violentos. Cabe señalar que la ideación suicida ocurre en casi la mitad de las personas deprimidas<sup>(42)</sup>.

### **2.3.2.2. Fisiopatología**

La depresión es una enfermedad compleja, la cual es originada por la interacción de distintos factores, especialmente los biológicos, genéticos y ambientales; por esta razón se ha propuesto diversos mecanismos fisiopatológicos para comprender mejor esta enfermedad.

#### **2.3.2.2.1. Factores biológicos**

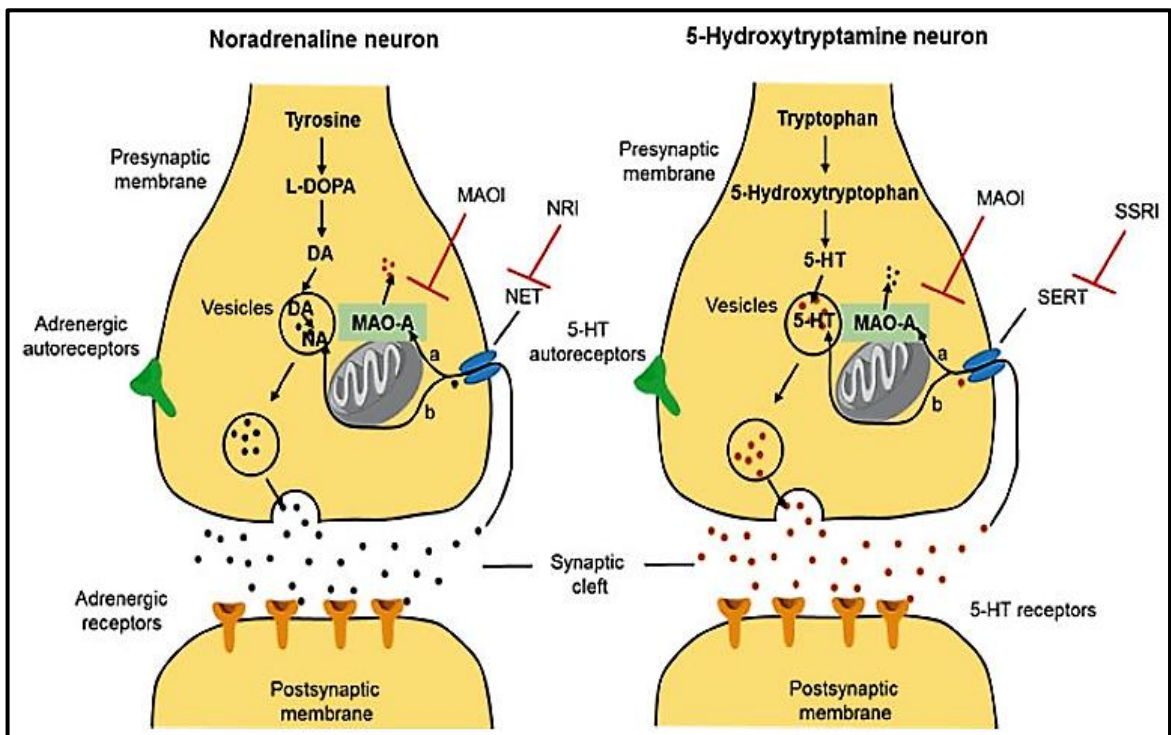
##### **La hipótesis de las monoaminas**

Es la teoría que ha dominado nuestra comprensión fisiopatológica de la depresión durante los últimos decenios. Establece que la enfermedad es causada por un déficit en la neurotransmisión monoaminérgica, de modo que existe una menor concentración de monoaminas a nivel cerebral, principalmente 5-HT, NE y DA. La deficiencia de estos neurotransmisores se produce por los efectos degradantes de la enzima MAO-A, de manera que, varios estudios han revelado una mayor expresión de MAO-A en pacientes deprimidos. Esta explicación fue la base para la utilización de los IMAO como medicamentos antidepresivos <sup>(43)</sup>.

Es de conocimiento que, el sistema serotoninérgico es esencial en regular el humor y temperamento. La 5-HT está involucrada en muchos procesos fisiológicos y conductuales especialmente el estado anímico, el apetito, la conciliación del sueño, la cognición, el comportamiento sexual y el suicidio, los cuales se manifiestan en la depresión <sup>(44)</sup>. Se ha sugerido que el SERT ubicado en las neuronas serotoninérgicas es el responsable principal de la regulación de los niveles de 5-HT, debido a que facilita la recaptación de 5-HT desde la hendidura sináptica hacia las neuronas presinápticas después de la señalización, con lo cual las acciones terapéuticas de los antidepresivos selectivos están dirigidos al bloqueo del SERT <sup>(45)</sup>.

La NE también tiene un papel clave en la depresión, una desregulación en el sistema noradrenérgico está implicado en la aparición de síntomas depresivos. El NET es fisiológicamente responsable de modular la cantidad de NE, limitando el tiempo de permanencia en la hendidura sináptica al promover su recaptación. Por

otra parte, estudios post mortem en pacientes deprimidos encontraron un incremento en la densidad y sensibilización en los receptores  $\alpha$ -<sub>2A</sub> adrenérgicos, quienes se encargan de modular la concentración de NE. En tanto, otras investigaciones hallaron un aumento en el número del receptor  $\beta$ -adrenérgico en la corteza frontal de las víctimas de suicidio <sup>(46)</sup>.



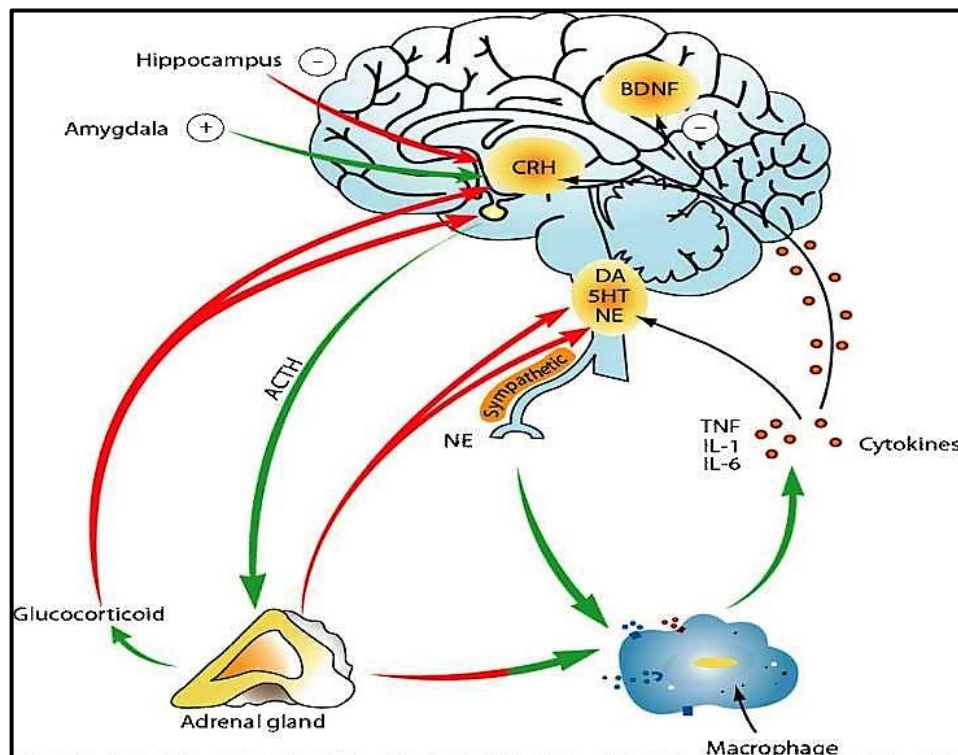
**Figura 5.** Representación esquemática de la neurotransmisión de noradrenalina (NA) y serotonina (5-HT) en la sinapsis neuronal.

**Fuente:** Grosso et al., 2016 <sup>(47)</sup>.

El sistema dopaminérgico de manera similar a los casos anteriores, desempeña un rol principal en la patogénesis del trastorno depresivo mayor. La DA es un neurotransmisor que regula las funciones de motivación, recompensa, concentración, velocidad psicomotora y capacidad de experimentar placer. Una disminución en la neurotransmisión dopaminérgica se ha asociado a una respuesta deteriorada a estímulos gratificantes positivos en individuos deprimidos, manifestado por la presencia de la anhedonia siendo una característica central en la depresión mayor; sin embargo, los hallazgos sobre la función de la DA en la depresión se han visto opacados en gran medida por investigaciones realizadas a los circuitos conformados por 5-HT y NE <sup>(48)</sup>.

## Eje Hipotálamo-Pituitaria-Adrenal (HPA)

La sobreactividad en el eje HPA continúa siendo prominente en la etiología de la depresión. Eventos estresantes incrementan la síntesis y liberación de cortisol desde las glándulas suprarrenales, lo que conduce a que el cortisol atraviese la barrera hematoencefálica y se una al cerebro con una capacidad mayor hacia los MR en comparación con los GR. El exceso de cortisol genera una desensibilización en ambos receptores afectando el circuito de la retroalimentación negativa a nivel pituitaria e hipotálamo. Esta desregulación de MR y/o GR producen efectos neurotóxicos, principalmente alteración en la neurogénesis y reducción del volumen en el hipocampo <sup>(49)</sup>. Además, se ha vinculado una alta proporción de pacientes con síndrome de Cushing con una disminución del estado de ánimo <sup>(50)</sup>.



**Figura 6.** Procesos moleculares implicados en el estrés y la depresión.

**Fuente:** Maletic et al., 2007 <sup>(51)</sup>.

### **La hipótesis neurotrófica**

El BDNF es una neurotrofina encontrada en mayor abundancia en el hipocampo y córtex cerebral, promueve la neuroplasticidad y la neurogénesis, además de estar involucrada en regular el estado anímico. Esta teoría plantea que el estrés crónico produce una menor expresión del BDNF y de su receptor TrKB, produciendo alteraciones en las estructuras límbicas claves en la contribución de los procesos patogénicos de la depresión. Un descenso en la expresión del BDNF en la región del hipocampo genera un alto riesgo de suicidio <sup>(52,53)</sup>.

### **La hipótesis del glutamato**

El glutamato es considerado como el neurotransmisor excitatorio más abundante a nivel cerebral, cumple funciones importantes sobre la neuroplasticidad sináptica, el aprendizaje y la memoria. No obstante, estudios preclínicos y clínicos han vinculado la disfunción del sistema glutamatérgico en la etiología de los trastornos depresivos. La liberación excesiva de glutamato extrasináptico genera una sobreactivación de los receptores NMDA provocando cambios estructurales y funcionales en regiones asociadas con regular el estado anímico, como el córtex prefrontal <sup>(54)</sup>.

### **La hipótesis inflamatoria**

Evidencias clínicas sugieren que la relación entre inflamación y la depresión se debe al aumento de citoquinas proinflamatorias: TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6 y PCR. Estos mediadores proinflamatorios disminuyen la neurotransmisión de monoaminas y de glutamato, induciendo a la aparición de síntomas depresivos. También producen metabolitos neurotóxicos (ácido quinolínico) e interfieren con la actividad del BDNF causando una neurogénesis reducida. Por tales motivos, se está investigando fármacos antiinflamatorios como nuevos agentes antidepresivos <sup>(55)</sup>.



#### **2.3.2.2.2. Factor Genético**

Las características genéticas desempeñan un rol importante en la etiología de la depresión, los estudios realizados en gemelos han demostrado una heredabilidad de 37 %, mientras que parientes de primer grado de personas diagnosticadas de trastorno depresivo mayor, se presenta un riesgo de dos a tres veces más de desarrollar la enfermedad, en comparación a una persona promedio <sup>(56)</sup>.

Los estudios iniciales de vinculación genética en los trastornos depresivos se habían centrado en polimorfismos funcionales, específicamente en el polimorfismo de la región promotora del gen *SLC6A4*, el cual codifica al SERT estableciendo una mayor vulnerabilidad de desarrollar depresión y conductas suicidas por exposición a eventos estresantes <sup>(57)</sup>.

Por otro lado, los genes relacionados a un mayor riesgo de depresión son aquellos que alteran la actividad en el eje HPA, tales como el gen *FKBP5* que reduce la afinidad del GR al cortisol, y el gen *CRHR1* que aumenta los niveles de CRH, en ambos casos se evidencia un aumento del nivel de cortisol <sup>(58)</sup>. El polimorfismo de metionina con valina en el codón 66 del gen *BDNF* disminuye la actividad de BDNF, por lo cual se ha asociado a una disminución del estado de ánimo junto a ideas suicidas <sup>(57)</sup>.

#### **2.3.2.2.3. Factor Ambiental**

La depresión al ser un trastorno complejo y heterogéneo, también se encuentra influenciado por componentes ambientales. Eventos estresantes en la vida, particularmente aquellos que ocurren en la infancia como el maltrato y abandono infantil conducen al desarrollo de esta enfermedad. A su vez, el abuso físico y sexual, los conflictos familiares, problemas laborales, dificultades económicas y los eventos de pérdida se asocian a la aparición de trastornos depresivos <sup>(59)</sup>.

Aunque los factores ambientales son importantes, no a todas las personas afecta de la misma manera, se está planteando con una mayor firmeza que la interacción gen-ambiente produce una mayor vulnerabilidad de desarrollar depresión <sup>(59)</sup>.

### **2.3.2.3. Tratamiento**

#### **Inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO)**

Los IMAO fueron los primeros fármacos utilizados clínicamente en tratar el trastorno depresivo mayor. Fueron introducidos en el decenio de 1950 dado que la iproniazida (originalmente un agente antituberculoso) inducía a una mejora en el estado de ánimo en pacientes deprimidos. Los efectos antidepresivos de los IMAO están mediados por inhibir la enzima MAO, lo que previene la descomposición de los neurotransmisores (DA, 5-HT, NE) y aumenta sus niveles en la hendidura sináptica para la transmisión monoaminérgica. Después se descubrió que la MAO presentaba dos isoenzimas principales, la MAO-A que posee una mayor capacidad en degradar 5-HT y NE; en cambio, la MAO-B muestra mayor afinidad para descomponer feniletilamina y bencilamina. Cabe resaltar, que la tiramina y la DA muestran la misma afinidad en ambas isoenzimas. La falta de selectividad de los IMAO por una isoenzima es la responsable de graves interacciones entre medicamentos y alimentos, especialmente aquellos que contienen tiramina como es el caso del queso, logrando que los pacientes experimenten una crisis hipertensiva <sup>(60)</sup>.

Posteriormente se desarrollaron los IMAO selectivos para mejorar el perfil de seguridad como la moclobemida, que actúa sobre la MAO-A; y la selegelina, que inhibe la MAO-B. Actualmente, los IMAO no son antidepresivos de primera línea debido a que presentan problemas de seguridad y tolerabilidad; no obstante, siguen teniendo una ventaja en la depresión resistente al tratamiento <sup>(61)</sup>.

#### **Antidepresivos tricíclicos (ATC)**

La imipramina fue el primer ATC utilizado en la práctica clínica, inicialmente desarrollado como un medicamento antipsicótico. Los ATC están relacionados estructuralmente con la fenotiazina, se caracterizan por presentar tres anillos centrales con una cadena lateral, y en función de su nitrógeno terminal en la cadena lateral son agrupadas en aminas terciarias (amitriptilina, clomipramina, imipramina) y secundarias (desipramina, nortriptilina). Su acción principal consiste en bloquear la recaptación de NE y 5-HT en las neuronas presinápticas aumentando su

disponibilidad para la neurotransmisión. También bloquean los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ , histamínicos  $H_1$  y colinérgicos muscarínicos <sup>(61,62)</sup>.

La aparición de efectos adversos de los ATC proviene de su amplio espectro, ya que presenta actividad anticolinérgica pudiendo ocasionar xerostomía, retención de orina, estreñimiento, pérdida de la visión; en ancianos taquicardia, problemas de memoria, glaucoma y delirio. A su vez, el bloqueo en los receptores histamínicos  $H_1$  puede causar sedación y aumento de peso, mientras que las propiedades antagonistas en los receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  se asocia con la hipotensión ortostática. Los ATC en la mayoría de casos son cardiotoxicos incluso a dosis terapéuticas causando arritmias cardiacas. En la actualidad los ATC siguen siendo muy usados, pero por la presencia de muchos efectos no deseados son considerados tratamiento de segunda o tercera línea <sup>(60)</sup>.

### **Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS)**

La introducción de la fluoxetina marcó la llegada de ISRS, desde entonces se han convertido en los antidepresivos de primera línea más utilizados en el tratamiento de la depresión, debido a que presentan una mejor tolerabilidad, seguridad y facilidad de uso. El grupo de los ISRS incluye a la fluoxetina, fluvoxamina, sertralina, paroxetina, citalopram y escitalopram. Su acción consiste en inhibir selectivamente la recaptación de 5-HT en la hendidura sináptica, aumentando los niveles de 5-HT para la transmisión serotoninérgica. La selectividad de su acción y su baja capacidad para unirse a los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, histamínicos y colinérgicos explica una disminución de efectos secundarios comparados con los IMAO y los ATC. También presentan una ventaja en caso de sobredosis, de modo que no requieren un ajuste de dosis en el inicio de la terapia a diferencia de los ATC <sup>(63)</sup>.

La estimulación excesiva de los receptores serotoninérgicos está asociado a la aparición de efectos adversos, entre los más comunes se encuentran las náuseas, vómitos, estreñimiento, dolor de cabeza, temblores, boca seca, insomnio y disfunción sexual. Por otro lado, el síndrome de abstinencia puede desarrollarse al suspender repentinamente un tratamiento prolongado con un ISRS. Además, es muy importante tener en cuenta que la administración simultánea de fármacos

serotoninérgicos puede conducir al síndrome de serotonina, considerada como una afección grave y mortal. Por esta razón, está contraindicado la combinación de un IMAO con un ISRS <sup>(63)</sup>.

### **Inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (IRSN)**

Los IRSN se han vuelto la segunda categoría de fármacos más recetados para tratar la depresión, este grupo lo conforman: venlafaxina, desvenlafaxina, duloxetina, milnaciprán y levomilnaciprán. Algunos estudios sugieren que los IRSN son más eficaces en comparación con los ISRS en tratar los trastornos depresivos. Su mecanismo de acción consiste en bloquear al SERT y NET en la hendidura sináptica serotoninérgica y adrenérgica respectivamente, de modo que evita la recaptación y posterior degradación de 5-HT y NE. La venlafaxina tiene una afinidad treinta veces mayor como inhibidor del SERT que del NET, a dosis bajas (75 mg) se comporta principalmente como un ISRS, mientras que a dosis altas (150 mg) la inhibición de la recaptación de NE se hace más significativa, pudiendo también inhibir la recaptación de DA <sup>(60)</sup>. En comparación con los ATC, los IRSN no son tan afines sobre los receptores muscarínicos, histamínicos y  $\alpha$ -adrenérgicos, lo que limita sus efectos adversos y los hace mejor tolerables <sup>(64)</sup>.

Los efectos adversos de los IRSN son muy similares que los ISRS, incluyen náuseas, diarrea, vómitos, insomnio, sudoración, disfunción sexual, síndrome de abstinencia y de serotonina. En dosis más altas la venlafaxina presenta la posibilidad de producir hipertensión y taquicardia <sup>(64)</sup>.

### **Otros antidepresivos**

En esta categoría se encuentran los medicamentos que no pertenecen a las principales clases de antidepresivos antes mencionadas, debido a que presentan propiedades únicas y mecanismos múltiples que se dirigen a diversos receptores en el sistema nervioso central.

El bupropión presenta un mecanismo único dado que inhibe la recaptación de DA y NE, es dos veces más potente inhibiendo la DA que la NE. Además de utilizarse en la depresión mayor también se emplea en pacientes que presentan adicción al tabaco. La reacción adversa más importante respecto al bupropión es la convulsión, se asocia frecuentemente a casos de sobredosis <sup>(63)</sup>.

La mirtazapina es un compuesto tetracíclico muy utilizado en tratar el trastorno depresivo mayor. Su mecanismo consiste en antagonizar los autorreceptores y heterorreceptores presinápticos  $\alpha_2$ -adrenérgicos, aumentando la liberación de NE y 5-HT. Asimismo, antagoniza los receptores 5-HT<sub>2</sub> y 5-HT<sub>3</sub> en la fase postsináptica, logrando una mayor disponibilidad de 5-HT. Por otra parte, su efecto sedante se debe a que también antagoniza los receptores histamínicos H<sub>1</sub>. Los efectos adversos que predominan son la somnolencia, xerostomía, estreñimiento, incremento en el apetito y peso <sup>(61)</sup>.

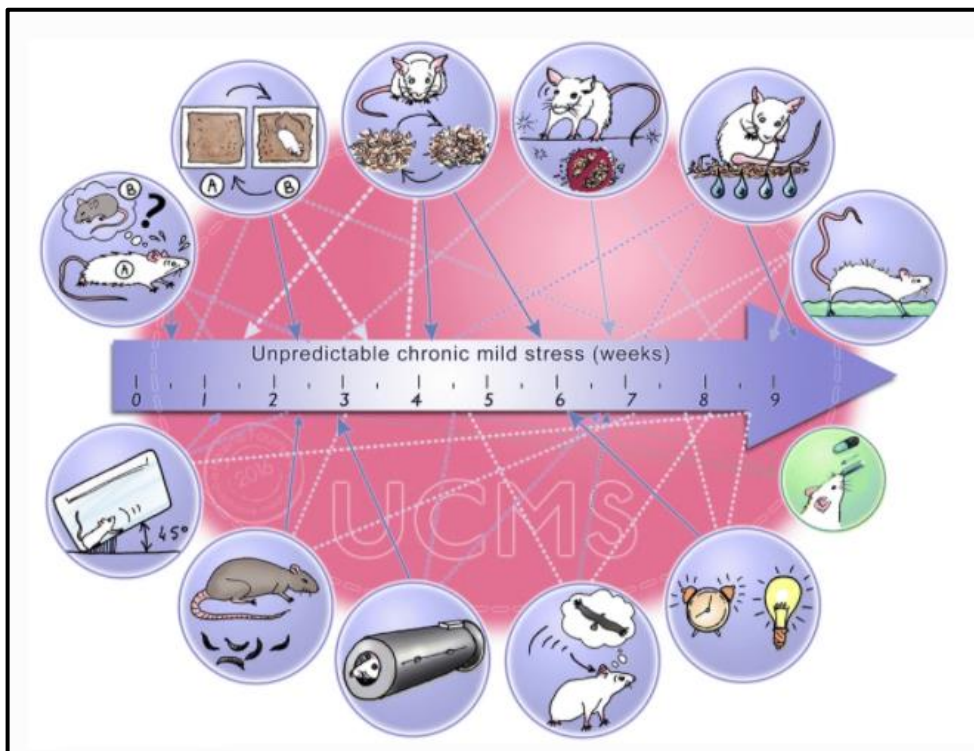
La ketamina a dosis subanestésicas (0,5 mg/kg) y administrado VI ha demostrado presentar efectos antidepresivos de acción rápida en cuestión de horas, sobre todo en pacientes con trastornos depresivos graves, depresión bipolar y depresión resistente al tratamiento. Se ha propuesto que este fármaco actúa como antagonista del receptor de glutamato NMDA y posteriormente activa los receptores AMPA, mejorando la plasticidad sináptica. En efecto, se ha evidenciado que la ketamina posee efectos antihedónicos y contra la ideación suicida <sup>(65)</sup>.

#### **2.3.2.4. Modelos Animales de Depresión**

Diferentes modelos de animales han sido utilizados para comprender los mecanismos biológicos de la depresión y evaluar los efectos antidepresivos de las drogas en investigación con la finalidad de encontrar nuevos tratamientos. Además, son importantes ya que replican las anomalías conductuales observadas en la depresión humana.

### 2.3.2.4.1. Modelo de Estrés Leve Crónico Impredecible (UCMS)

Este modelo se basa en el fundamento de aplicar en los animales una variedad de estresores leves a una secuencia impredecible durante varias semanas. La característica más importante de este modelo animal es la manifestación de la anhedonia, uno de los dos síntomas más importantes del trastorno depresivo mayor, cuya medición es realizada a través de la SPT. En esta prueba se le expone al consumo de soluciones azucaradas a los animales; sin embargo, la exposición crónica a factores estresantes en los roedores genera una disminución en la capacidad de respuesta a recompensas, reflejándose en un menor consumo de sacarosa o sacarina. No obstante, esta conducta depresiva puede ser revertida mediante la administración diaria de fármacos antidepresivos durante el periodo de estrés crónico <sup>(66,67)</sup>.



**Figura 7.** Modelo de depresión de estrés leve crónico impredecible (UCMS).

**Fuente:** Planchez et al., 2019 <sup>(68)</sup>.

#### 2.3.2.4.2. Prueba de Natación Forzada (FST)

Es el modelo farmacológico más utilizado en animales para evaluar la actividad antidepresiva de la droga en estudio por su alto grado de validez predictiva. Se basa en el principio de la desesperanza aprendida, en el que los animales adoptan una postura inmóvil después de colocarlos en un cilindro lleno de agua durante 5 ó 6 minutos, del cual no pueden escapar. Inicialmente los animales realizan movimientos de escape, pero al verse sometidos a una situación continua e incontrolable desarrollan la inmovilidad. Esta inmovilidad mostrada en los animales es el reflejo de una desesperación conductual que adoptan cuando se enfrentan a estímulos estresantes (comportamiento similar en la depresión). El tiempo de inmovilidad es reducido con el tratamiento de distintas clases de antidepresivos <sup>(69)</sup>.

#### 2.4. Glosario de términos

- **Anhedonia:** Síntoma central del trastorno depresivo mayor, que hace referencia a la pérdida o disminución de la capacidad para experimentar placer <sup>(70)</sup>.
- **Antidepresivos:** Fármacos utilizados como estimulantes del estado de ánimo para combatir los trastornos depresivos, mediante mecanismos que actúan regulando los sistemas de la neurotransmisión monoaminérgica <sup>(71)</sup>.
- **Depresión:** Trastorno mental caracterizado por presentar un decaimiento persistente del estado de ánimo o una disminución del placer o interés, por al menos dos semanas <sup>(31)</sup>.
- **Extracto:** Es aquel producto resultante del accionar de un adecuado disolvente frente a una droga pudiendo ser esta de origen vegetal o animal, mediante diversos procesos metodológicos y que puede clasificarse según la naturaleza específica del vehículo extractivo <sup>(72)</sup>.

- **Fluoxetina:** Fármaco antidepresivo perteneciente a la clase de los ISRS, actúa incrementando la neurotransmisión serotoninérgica al bloquear los SERT en las neuronas presinápticas <sup>(73)</sup>.
- **Metabolitos Secundarios:** Son aquellos compuestos sintetizados en pequeñas cantidades por un determinado género de plantas, ejercen efectos importantes en su entorno y en la planta misma, además de presentar propiedades biológicas que sustentan la medicina tradicional <sup>(74)</sup>.
- **Modelo animal:** Es un sistema experimental que utiliza métodos de análisis que no pueden realizarse en el ser humano, con el fin de proporcionar información importante para encaminar el desarrollo de posibles aplicaciones terapéuticas enfocadas tanto a la prevención, diagnóstico y tratamiento de una patología <sup>(75)</sup>.
- **Monoaminas:** Sustancias químicas que provienen de la descarboxilación enzimática de aminoácidos, conforman el grupo más importante de neurotransmisores del sistema nervioso central <sup>(76)</sup>.
- **Neurotransmisores:** Sustancias químicas endógenas que logran transmitir información de una neurona hacia otras por medio de la sinapsis <sup>(77)</sup>.
- **Plantas medicinales:** Vegetales capaces de producir sustancias que ejerzan determinadas actividades farmacológicas en beneficio del organismo <sup>(78)</sup>.



### **III. HIPÓTESIS Y VARIABLES**

#### **3.1. Hipótesis**

H<sub>1</sub>: El extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero presenta actividad antidepresiva en ratones albinos inducidos a depresión en el modelo animal del estrés leve crónico impredecible (UCMS).

H<sub>0</sub>: El extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero no presenta actividad antidepresiva en ratones albinos inducidos a depresión en el modelo animal del estrés leve crónico impredecible (UCMS).

#### **3.2. Variables**

##### **3.2.1. Variable Independiente**

Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis*.

##### **3.2.2. Variable Dependiente**

Actividad antidepresiva.

### 3.3. Operacionalización de variables

Tabla 2. Operacionalización de variables

Variables		Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de Variable	Escala de Medición	Indicador	Unidad de Medida	Instrumento
Independiente	Dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i>	Cantidad de extracto hidroalcohólico administrado vía oral a los animales de experimentación.	Se mide pesando la cantidad de extracto hidroalcohólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> de acuerdo al peso de los animales de experimentación a las dosis de 100, 300 y 500 mg/Kg.	Cuantitativa	Razón	Dosis Administrada	mg/kg	Balanza Analítica
Dependiente	Actividad antidepresiva	Restauración hacia un estado de ánimo normal donde ya no se presenta disforia y anhedonia.	Prueba de Preferencia de Sacarosa	Cuantitativa	Razón	Solución de sacarosa consumida	g	Balanza Analítica
			Prueba de Natación Forzada Modificada	Cuantitativa	Razón	Tiempo de Inmovilidad	s	Cronómetro
				Cuantitativa	Razón	Tiempo de Nado	s	Cronómetro
			Cuantitativa	Razón	Tiempo de Escalamiento	s	Cronómetro	

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Área de estudio**

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM en la ciudad de Lima – Perú (12°03'20.7"S, 77°01'24.9"W).

### **4.2. Diseño de la investigación**

La presente investigación fue de tipo experimental, puesto que hubo una manipulación intencional de la variable independiente para evaluar el impacto o resultados que dicha manipulación tiene sobre las variables dependientes. Además, según las características del diseño fue un estudio: correlacional, prospectivo y longitudinal <sup>(79)</sup>.

### **4.3. Población y Muestra**

#### **4.3.1. Población de estudio**

Ratones albinos cepa Balb/c/CNPB, con un peso de 20 a 25 g y con una edad de 29 a 37 días, todos procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú.

#### **4.3.2. Muestra**

Se empleó 60 ratones albinos de la cepa Balb/c/CNPB como animales de experimentación, que fueron divididos en 6 grupos de 10 cada uno para las pruebas de preferencia de sacarosa y natación forzada modificada.

### **4.3.3. Muestreo**

El tipo de muestreo fue no probabilístico y por conveniencia, la selección de los animales de experimentación se realizó de acuerdo a los siguientes criterios:

#### **Criterios de inclusión**

- Ratones sanos
- Ratones macho

#### **Criterios de exclusión**

- Ratones con un peso menor a 20 g y mayor a 25 g.
- Ratones que hayan sido utilizados en otra prueba de experimentación.

## **4.4. Materiales y equipos**

### **4.4.1. Equipos**

- Cámara filmadora Canon, modelo VIXIA HF R800
- Piscinas cilíndricas de plexiglás
- Cronómetro
- Balanza analítica
- Molino de cuchillas
- Estufa
- Cocinilla eléctrica
- Jaulas
- Agitador magnético

## **4.4.2. Materiales**

### **4.4.2.1. Material Biológico**

- Hojas de *Rosmarinus officinalis*.
- 60 ratones macho albinos cepa Balb/c/CNPB.

### **4.4.2.2. Material Farmacológico**

- Fluoxetina 20 mg (Prozac ®) Cápsulas

### **4.4.2.3. Material de Laboratorio**

- Tubos de ensayo
- Termómetro ambiental
- Jeringas descartables
- Sonda orogástrica
- Frascos de color ámbar
- Embudo de vidrio
- Papel filtro
- Papel Kraft
- Pipeta Pasteur
- Algodón
- Guantes descartables
- Gradilla

## **4.5. Procedimiento**

### **4.5.1. Recolección de la planta**

Esta planta en investigación proviene de los cultivos de la zona altoandina del distrito de Puquio (3 215 msnm), provincia de Lucanas, departamento de Ayacucho, durante el mes de agosto. Luego, se envió al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para que sea identificada y clasificada taxonómicamente.

### **4.5.2. Preparación del extracto hidroalcohólico**

Las hojas se separaron del tallo, se lavaron con agua corriente y se secó durante aproximadamente una semana a temperatura ambiente sobre una superficie de papel Kraft. Posteriormente, se trasladó a una estufa de 37 °C para un secado completo por un periodo de 72 horas, una vez obtenida la muestra seca se realizó la molienda para conseguir un polvo uniforme. Posteriormente, se procedió a pesar 500 g del pulverizado los cuales se combinaron con 2 L de etanol al 70 % en un recipiente de color ámbar, dejándose macerar por 2 semanas y con agitación constante. El producto resultante se filtró, seguidamente se procedió a llevar el filtrado a la estufa para su secado a una temperatura de 37 °C por 48 horas, con la finalidad de obtener un extracto seco. Finalmente, el extracto seco fue utilizado para preparar las concentraciones correspondientes y administrarlas a los ratones <sup>(30)</sup>.

### **4.5.3. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico**

Una vez obtenido el extracto de las hojas de Romero se prosiguió a disponer y etiquetar los tubos de ensayo con los rótulos de los solventes de distinta polaridad. Se colocaron 20 mg de extracto a cada tubo y se añadió 1 mL de solvente (cloroformo, etanol, dimetilsulfóxido, metanol, agua destilada). Posteriormente se agitó cada tubo y se realizó la observación de los resultados del ensayo por un período de 10 minutos como máximo. La solubilidad se evidenció según la polaridad que presentó el extracto, pudiendo ser no soluble o soluble <sup>(80)</sup>.

#### **4.5.4. Tamizaje farmacognóstico**

Se usó el extracto hidroalcohólico seco de las hojas de Romero para realizar las pruebas de caracterización fitoquímica. Su determinación se dio desde no reacción hasta una reacción muy evidente, según los resultados observados en el análisis farmacognóstico <sup>(80-87)</sup>.

#### **4.5.5. Animales**

Se utilizaron 60 ratones macho albinos de cepa Balb/c/CNPB de 29 a 37 días de edad procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Salud. Los ratones de experimentación se alojaron en condiciones controladas en el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM para su aclimatación durante una semana antes de que comenzaran los experimentos. La temperatura ambiental fue aproximadamente de  $23 \pm 2$  °C, con un ciclo de luz/oscuridad (12-12 horas), recibiendo agua y alimentos *ad libitum*. Los procedimientos de este estudio se realizaron cumpliendo lo descrito en la “Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón” por el Instituto Nacional de Salud.

#### **4.5.6. Administración**

Se dividió a los animales en 6 grupos de 10 cada uno, para la administración diaria de las drogas y agua a lo largo de los 40 días de exposición del UCMS.

- Grupo 1 (control): Agua destilada
- Grupo 2: Agua destilada + UCMS
- Grupo 3: 20 mg/kg de fluoxetina + UCMS
- Grupo 4: 100 mg/kg de extracto hidroalcohólico de Romero + UCMS
- Grupo 5: 300 mg/kg de extracto hidroalcohólico de Romero + UCMS
- Grupo 6: 500 mg/kg de extracto hidroalcohólico de Romero + UCMS

#### 4.5.7. Procedimiento del Estrés Leve Crónico Impredecible (UCMS)

Los animales fueron expuestos durante 40 días a diferentes estresores: Jaula inclinada, cama húmeda, privación de agua, privación de alimentos, aislamiento social, natación forzada y luz estroboscópica. Todo ello con la finalidad de lograr desarrollar en el animal la anhedonia. Cabe resaltar que al grupo sin estrés o control se le mantuvo intacto y no fue expuesto al UCMS, sólo se les dio una dieta estándar y agua *ad libitum* <sup>(88)</sup>. El cronograma del UCMS y la duración de los estresores se presenta en la Tabla 13.

#### 4.5.8. Prueba de Preferencia de Sacarosa (SPT)

Se utilizó la SPT para la evaluación de la anhedonia en todos los grupos de experimentación, antes y después de los 40 días de ser expuestos al UCMS. La prueba implicó en ofrecerle a los animales una botella de solución de sacarosa al 1 % y otra botella de agua simultáneamente durante 24 horas *ad libitum*, después de 12 horas se cambió la posición de las botellas para evitar cualquier sesgo en la conducta de beber. Antes de cada prueba a los ratones de experimentación sólo se les privó de agua por 20 h <sup>(88)</sup>.

La preferencia por el consumo de sacarosa se define conforme a la siguiente fórmula:

$$\% SPT = \frac{CSS(g)}{CSS(g) + CA(g)} \times 100 \%$$

Donde:

- % SPT = Porcentaje de preferencia por el consumo de sacarosa (%)
- CSS = Consumo de Solución de Sacarosa (g)
- CA = Consumo de Agua (g)



#### **4.5.9. Prueba de Natación Forzada (FST) modificada**

La FST modificada se realizó utilizando el método de Cryan, 2002 <sup>(89)</sup>. En la primera sesión o pretest, los animales fueron colocados de forma individual en un contenedor de plexiglás transparente (30 cm de altura x 20 cm de diámetro) lleno de agua hasta una altura de 18 cm a  $23 \pm 2$  °C, durante 15 minutos. Luego, se les retiró cuidadosamente del contenedor y se les secó con una toalla para devolverlos a sus respectivas jaulas <sup>(89)</sup>.

Después de 24 horas del pretest se realizó la segunda sesión o test, donde se volvió a colocar individualmente a los animales en el cilindro por un periodo de 6 minutos, para que fueran evaluados los siguientes parámetros <sup>(89)</sup>:

- Inmovilidad: Ausencia de movimientos o actividad mínima, para preservar la cabeza sobre el nivel del agua.
- Nado: Movimientos generalmente horizontales a lo largo del cilindro, que además comprende cruzar de un lado a otro del contenedor.
- Escalamiento: Movimientos hacia arriba de las patas delanteras a lo largo de las paredes del cilindro.

Los parámetros conductuales fueron registrados por una cámara de video y evaluados a intervalos de 5 segundos. Asimismo, se registró los movimientos a partir del minuto 2 hasta el minuto 6 <sup>(90)</sup>.

#### **4.6. Análisis Estadístico**

Se utilizó el programa estadístico SPSS para Windows (versión 25), en tanto para determinar si existían diferencias significativas entre los grupos, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, dado que no se cumplió las dos condiciones (distribución normal e igualdad de varianzas) de la prueba paramétrica ANOVA. Al existir significancia estadística se realizó el análisis Post Hoc, recurriendo a la prueba de Tukey, siempre que se cumpla la condición de homocedasticidad, mientras que en los casos que no cumplan lo anteriormente mencionado se empleó la prueba de Games-Howell. Se consideró significativo un  $p < 0.05$ .

## V. RESULTADOS

### 5.1. Propiedades organolépticas del extracto hidroalcohólico

**Tabla 3.** Resultado de las propiedades organolépticas del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero.

Propiedades organolépticas	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Aspecto	Sólido
Color	Verde oscuro
Olor	Aromático agradable
Sabor	Astringente

### 5.2. Evaluación del rendimiento del extracto hidroalcohólico

Se empleó 500 g de la muestra en estudio (hojas de *Rosmarinus officinalis*) y se obtuvo 27,39 g de extracto seco.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{27,39}{500} \times 100 = 5,48 \%$$

Obteniendo 5,48 % de rendimiento de las hojas de Romero.

### 5.3. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico

Se observó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero es más soluble en dimetilsulfóxido y etanol (Tabla 4 y Anexo 7).

**Tabla 4.** Resultado de la prueba de solubilidad de extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero.

SOLVENTE	RESULTADO
Cloroformo	-
Etanol	+
Dimetilsulfóxido	+
Metanol	-
Agua	-

LEYENDA

Insoluble:	-
Poco soluble:	+
Soluble:	++
Muy soluble:	+++

#### 5.4. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico

Se evidenció que el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero presentó mayor concentración en lactonas, cardenólidos, taninos, azúcares reductores y fenoles (Tabla 5 y Anexo 6).

**Tabla 5.** Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero.

<b>METABOLITO</b>	<b>ENSAYO</b>	<b>RESULTADO</b>
<b>Antocianinas</b>	Prueba con NaOH 10 %	+
<b>Alcaloides</b>	Reacción de Dragendorff	+
<b>Alcaloides</b>	Reacción de Mayer	+
<b>Alcaloides</b>	Reacción de Wagner	+
<b>Lactonas</b>	Reacción de Baljet	+
<b>Flavonoides</b>	Reacción de Shinoda	-
<b>Aminoácidos</b>	Reacción de Ninhidrina	+
<b>Cardenólidos</b>	Reacción de Kedde	+
<b>Esteroides</b>	Reacción de Liebermann - Burchard	+
<b>Saponinas</b>	Reacción de espuma	-
<b>Taninos</b>	Reacción con cloruro férrico	+
<b>Triterpenos</b>	Reacción de Liebermann - Burchard	+
<b>Azúcares Reductores</b>	Reacción de Fehling	+
<b>Fenoles</b>	Reacción con cloruro férrico	+

LEYENDA

Reacción positiva :    +

Reacción negativa:    -

## 5.5. Resultados de la Prueba de Preferencia de Sacarosa

En la tabla 6 se aprecia los resultados del porcentaje de preferencia por el consumo de sacarosa (% SPT) de los seis grupos. En el día cero el % SPT es similar en todos los grupos; sin embargo, en el día cuarenta el grupo tratado con agua destilada y sometido a estrés leve crónico impredecible (UCMS) presentó una disminución en el % SPT de 61,54 a 36,51 %. Del mismo modo, el grupo tratado con *Rosmarinus officinalis* 100 mg/kg y expuesto a UCMS disminuyó su % SPT de 62,39 a 43,92 %; mientras que en los otros grupos se observó un aumento en el % SPT posterior al periodo de estrés.

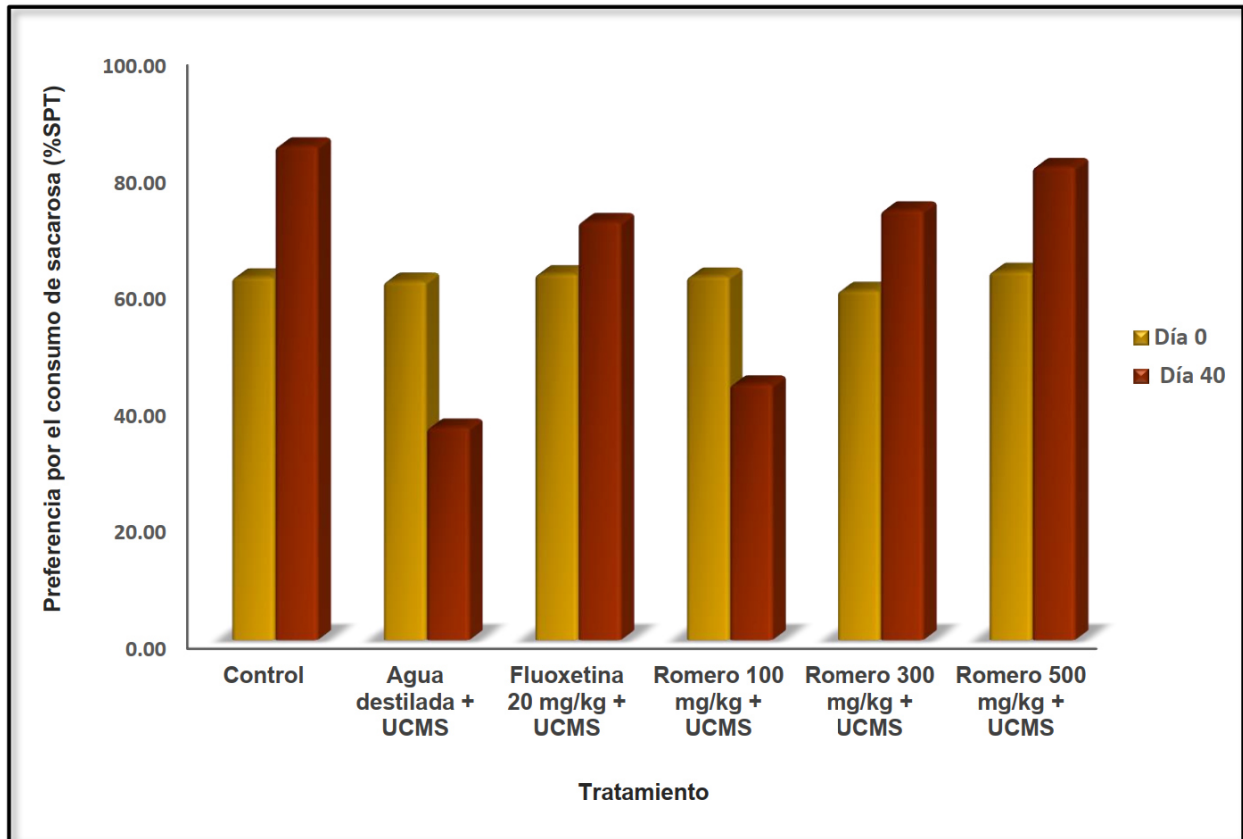
**Tabla 6.** Consumo y porcentaje de preferencia por el consumo de sacarosa en ratones expuestos al UCMS y que fueron tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero.

Grupos (n=10)	Día 0			Día 40		
	Consumo Sacarosa (g)	Consumo Agua (g)	%SPT	Consumo Sacarosa (g)	Consumo Agua (g)	%SPT
Control	40,08	24,31	62,25	58,73	10,61	84,69
Agua destilada + UCMS	41,46	25,91	61,54	22,62	39,34	36,51
Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	33,65	19,93	62,81	41,93	16,52	71,74
Romero 100 mg/kg + UCMS	26,14	15,76	62,39	24,72	31,57	43,92
Romero 300 mg/kg + UCMS	44,83	29,94	59,95	65,96	23,50	73,73
Romero 500 mg/kg + UCMS	35,54	20,68	63,22	49,92	11,58	81,17

% SPT = Porcentaje de preferencia por el consumo de sacarosa

**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 8.** Efecto antianhedónico del extracto hidroalcohólico de las hojas Romero en la prueba de preferencia de sacarosa, antes (día 0) y después (día 40) del estrés leve crónico impredecible (UCMS).



Fuente: Elaboración propia

### 5.6. Resultados de la Prueba de Natación Forzada Modificada

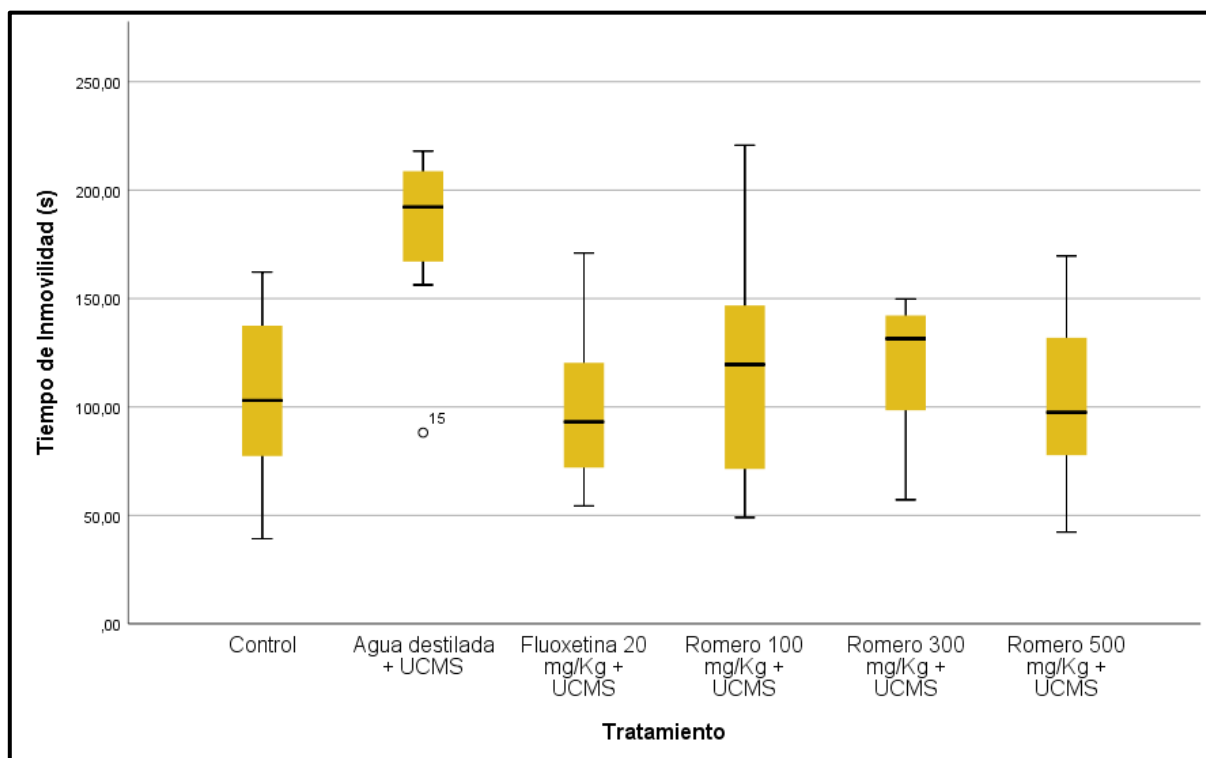
En la tabla 7 podemos apreciar los resultados estadísticos descriptivos de la prueba de natación forzada modificada, a través del tiempo de inmovilidad, tiempo de nado y tiempo de escalamiento.

**Tabla 7.** Estadísticos descriptivos del tiempo de inmovilidad, tiempo de nado y tiempo de escalamiento en ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en la prueba de natación forzada modificada.

Tiempo	Grupos	N	Media (s)	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
<b>Tiempo de Inmovilidad</b>	Control	10	105.82	37.77	39.23	162.20
	Agua destilada + UCMS	10	180.61	38.41	88.18	218.00
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	10	100.42	39.15	54.40	171.02
	Romero 100 mg/kg + UCMS	10	116.39	52.18	49.08	220.77
	Romero 300 mg/kg + UCMS	10	118.23	31.12	57.22	149.83
	Romero 500 mg/kg + UCMS	10	100.91	40.07	42.27	169.65
<b>Tiempo de Nado</b>	Control	10	95.93	41.66	52.09	193.29
	Agua destilada + UCMS	10	39.92	31.74	13.03	116.74
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	10	73.29	34.01	20.52	143.48
	Romero 100 mg/kg + UCMS	10	55.28	20.96	13.30	81.07
	Romero 300 mg/kg + UCMS	10	71.48	28.31	39.29	126.01
	Romero 500 mg/kg + UCMS	10	64.49	25.90	15.17	98.89
<b>Tiempo de Escalamiento</b>	Control	10	38.25	22.24	7.48	81.78
	Agua destilada + UCMS	10	19.47	9.41	8.00	35.08
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	10	66.30	39.76	13.22	152.29
	Romero 100 mg/kg + UCMS	10	68.33	35.99	5.93	122.36
	Romero 300 mg/kg + UCMS	10	53.44	21.81	28.51	88.89
	Romero 500 mg/kg + UCMS	10	74.45	37.89	21.68	123.95

Fuente y elaboración: Datos estadísticos del estudio / Propia

**Figura 9.** Diagrama de cajas del tiempo de inmovilidad en ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en la prueba de natación forzada modificada.

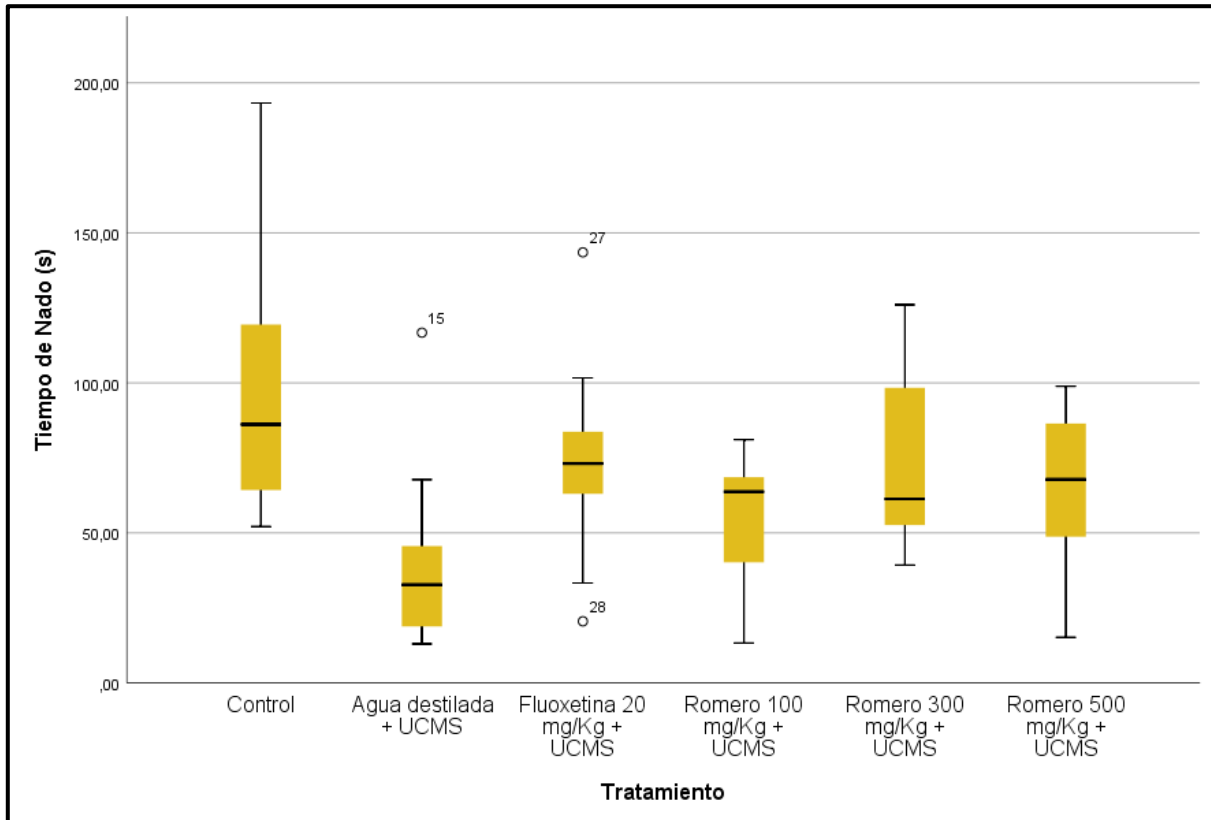


**Fuente:** Elaboración propia

En la figura 9 podemos observar que el grupo tratado con agua destilada y sometido a UCMS, presentó un mayor tiempo de inmovilidad de  $180.61 \pm 38.41$  segundos, significativamente mayor comparados con los otros grupos ( $p < 0.05$ ). En tal sentido, se evidencia efecto antidepresivo en el grupo control y en los grupos que recibieron fluoxetina y extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero durante el periodo de estrés crónico.



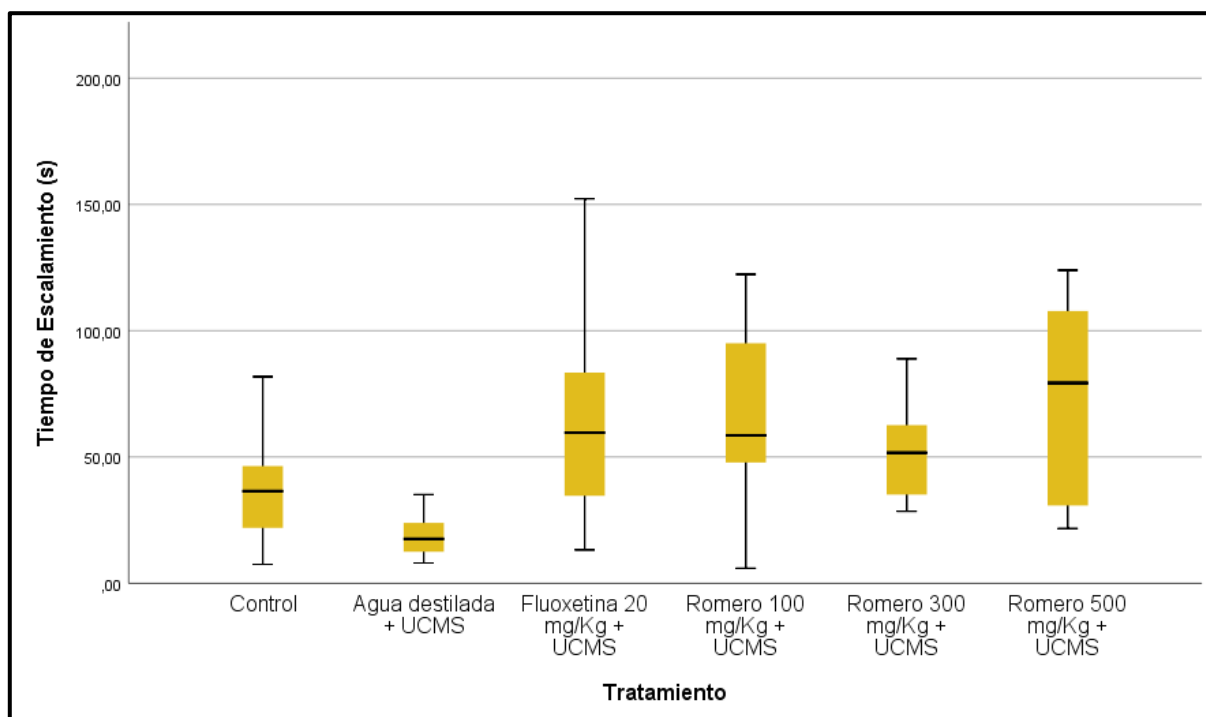
**Figura 10.** Tiempo de nado en ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en la prueba de natación forzada modificada.



**Fuente:** Elaboración propia

En la figura 10 se observa un mayor tiempo de nado en el grupo control, con un registro de  $95.93 \pm 41.66$  segundos, existiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en relación con el grupo agua destilada + UCMS, cuyo tiempo de nado registrado fue de  $39.92 \pm 31.74$  segundos. En los grupos restantes no se evidenció diferencia significativa acerca del tiempo de nado.

**Figura 11.** Tiempo de escalamiento en ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en la prueba de natación forzada modificada.



**Fuente:** Elaboración propia

En la figura 11 podemos apreciar que los grupos que fueron expuestos al UCMS y recibieron tratamiento de fluoxetina y Romero de 100 mg/kg y 500 mg/kg, obtuvieron un mayor tiempo de escalamiento, siendo estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) respecto al grupo agua destilada + UCMS. Por lo que se evidencia una posible actividad noradrenérgica y dopaminérgica en dichos grupos.

**Tabla 8.** Prueba de normalidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento.

Prueba de Normalidad				
Tiempo	Grupos	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Tiempo de Inmovilidad	Control	0.966	10	0.849
	Agua destilada + UCMS	0.840	10	0.044
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	0.923	10	0.385
	Romero 100 mg/kg + UCMS	0.945	10	0.615
	Romero 300 mg/kg + UCMS	0.885	10	0.148
	Romero 500 mg/kg + UCMS	0.963	10	0.825
Tiempo de Nado	Control	0.873	10	0.108
	Agua destilada + UCMS	0.803	10	0.016
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	0.940	10	0.551
	Romero 100 mg/kg + UCMS	0.907	10	0.260
	Romero 300 mg/kg + UCMS	0.850	10	0.058
	Romero 500 mg/kg + UCMS	0.941	10	0.561
Tiempo de Escalamiento	Control	0.963	10	0.822
	Agua destilada + UCMS	0.899	10	0.215
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	0.939	10	0.540
	Romero 100 mg/kg + UCMS	0.947	10	0.635
	Romero 300 mg/kg + UCMS	0.892	10	0.180
	Romero 500 mg/kg + UCMS	0.903	10	0.239

Fuente y elaboración: Datos estadísticos del estudio / Propia

En la tabla 8, se detalla la prueba de normalidad Shapiro-Wilk en cada uno de los grupos que recibieron extracto hidroalcohólico de Romero. Se obtuvo un p-valor menor a 0.05 en los tiempos de inmovilidad y nado; en consecuencia, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que la distribución de los datos no es normal para estos tiempos. En tanto, el tiempo de escalamiento es el único que pasa la prueba de normalidad al tener un p-valor mayor a 0.05; por consiguiente, se acepta la hipótesis nula y se concluye que para este tiempo la distribución de los datos es normal.

**Tabla 9.** Prueba de homocedasticidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento.

<b>Prueba de Homocedasticidad</b>				
<b>Tiempos</b>	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
<b>Inmovilidad</b>	1.083	5	54	0.734
<b>Nado</b>	1.185	5	54	0.816
<b>Escalamiento</b>	3.481	5	54	0.005

Fuente y elaboración: Datos estadísticos del estudio / Propia

En la tabla 9, se evaluó la igualdad de varianzas haciendo uso de la prueba de Levene. Se observa que el tiempo de inmovilidad y nado presentan un p-valor mayor a 0.05, por lo que se cumple la igualdad de varianzas. Mientras tanto, en el tiempo de escalamiento se observa un p-valor menor a 0.05, de modo que no se cumple la homocedasticidad de varianzas. En consecuencia, dado que en los tres tiempos de la prueba de natación forzada modificada solo se cumple una condición para realizar el ANOVA (prueba paramétrica), se aplicará en la prueba de hipótesis la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

**Tabla 10.** Prueba de Kruskal-Wallis del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero en los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento.

<b>Estadístico de prueba <sup>a,b</sup></b>			
	<b>Tiempo de Inmovilidad</b>	<b>Tiempo de Nado</b>	<b>Tiempo de Escalamiento</b>
H de Kruskal-Wallis	17.442	15.138	21.326
gl	5	5	5
Sig. asintótica	0.004	0.010	0.001

- a. Prueba de Kruskal Wallis
- b. Variable de agrupación: Tratamiento

Fuente y elaboración: Datos estadísticos del estudio / Propia

En conformidad con los resultados obtenidos en la prueba de Kruskal-Wallis (tabla 10 y figura 12), se puede observar que en todos los casos el p-valor es menor a 0.05, por ello se concluye que existe diferencia significativa en las medias de los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento en al menos uno de los grupos de los diferentes tratamientos.

Con lo anteriormente analizado, se llevaron a cabo las pruebas Post Hoc a fin de realizar las comparaciones múltiples entre los tratamientos y establecer en qué grupos existe diferencia significativa. Para los tiempos de inmovilidad y nado se aplicó la prueba Post Hoc de Tukey, mientras que para el tiempo de escalamiento se empleó la prueba Post Hoc de Games-Howell.

**Figura 12.** Resumen de la prueba de hipótesis de Kruskal-Wallis en los tiempos de inmovilidad, nado y escalamiento.

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Tiempo de Inmovilidad (s) es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,004	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de Tiempo de Swimming (s) es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,010	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Tiempo de Climbing (s) es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,001	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

**Fuente y elaboración:** Datos estadísticos del estudio / SPSS 25

**Tabla 11.** Comparaciones múltiples para el tiempo de inmovilidad - Prueba de Tukey

Tratamiento (I)	Tratamiento (J)	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	Agua destilada + UCMS	-74,792*	18.010	<b>0.002</b>	-128.004	-21.580
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	5.401	18.010	1.000	-47.811	58.613
	Romero 100 mg/kg + UCMS	-10.574	18.010	0.991	-63.786	42.638
	Romero 300 mg/kg + UCMS	-12.410	18.010	0.982	-65.622	40.802
	Romero 500 mg/kg + UCMS	4.908	18.010	1.000	-48.304	58.120
Agua destilada + UCMS	Control	74,792*	18.010	<b>0.002</b>	21.580	128.004
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	80,193*	18.010	<b>0.001</b>	26.981	133.405
	Romero 100 mg/kg + UCMS	64,218*	18.010	<b>0.010</b>	11.006	117.430
	Romero 300 mg/kg + UCMS	62,382*	18.010	<b>0.013</b>	9.170	115.594
	Romero 500 mg/kg + UCMS	79,700*	18.010	<b>0.001</b>	26.488	132.912
Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	Control	-5.401	18.010	1.000	-58.613	47.811
	Agua destilada + UCMS	-80,193*	18.010	<b>0.001</b>	-133.405	-26.981
	Romero 100 mg/kg + UCMS	-15.975	18.010	0.948	-69.187	37.237
	Romero 300 mg/kg + UCMS	-17.811	18.010	0.920	-71.023	35.401
	Romero 500 mg/kg + UCMS	-0.493	18.010	1.000	-53.705	52.719
Romero 100 mg/kg + UCMS	Control	10.574	18.010	0.991	-42.638	63.786
	Agua destilada + UCMS	-64,218*	18.010	<b>0.010</b>	-117.430	-11.006
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	15.975	18.010	0.948	-37.237	69.187
	Romero 300 mg/kg + UCMS	-1.836	18.010	1.000	-55.048	51.376
	Romero 500 mg/kg + UCMS	15.482	18.010	0.954	-37.730	68.694
Romero 300 mg/kg + UCMS	Control	12.410	18.010	0.982	-40.802	65.622
	Agua destilada + UCMS	-62,382*	18.010	<b>0.013</b>	-115.594	-9.170
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	17.811	18.010	0.920	-35.401	71.023
	Romero 100 mg/kg + UCMS	1.836	18.010	1.000	-51.376	55.048
	Romero 500 mg/kg + UCMS	17.318	18.010	0.928	-35.894	70.530
Romero 500 mg/kg + UCMS	Control	-4.908	18.010	1.000	-58.120	48.304
	Agua destilada + UCMS	-79,700*	18.010	<b>0.001</b>	-132.912	-26.488
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	0.493	18.010	1.000	-52.719	53.705
	Romero 100 mg/kg + UCMS	-15.482	18.010	0.954	-68.694	37.730
	Romero 300 mg/kg + UCMS	-17.318	18.010	0.928	-70.530	35.894

\* p<0.05 existe diferencia significativa

**Tabla 12.** Comparaciones múltiples para el tiempo de nado - Prueba de Tukey

Tratamiento (I)	Tratamiento (J)	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	Agua destilada + UCMS	56,011*	13.918	<b>0.002</b>	14.889	97.133
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	22.643	13.918	0.585	-18.479	63.765
	Romero 100 mg/kg + UCMS	40.651	13.918	0.054	-0.471	81.773
	Romero 300 mg/kg + UCMS	24.450	13.918	0.502	-16.672	65.572
	Romero 500 mg/kg + UCMS	31.437	13.918	0.229	-9.685	72.559
Agua destilada + UCMS	Control	-56,011*	13.918	<b>0.002</b>	-97.133	-14.889
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	-33.368	13.918	0.175	-74.490	7.754
	Romero 100 mg/kg + UCMS	-15.360	13.918	0.878	-56.482	25.762
	Romero 300 mg/kg + UCMS	-31.561	13.918	0.225	-72.683	9.561
	Romero 500 mg/kg + UCMS	-24.574	13.918	0.496	-65.696	16.548
Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	Control	-22.643	13.918	0.585	-63.765	18.479
	Agua destilada + UCMS	33.368	13.918	0.175	-7.754	74.490
	Romero 100 mg/kg + UCMS	18.008	13.918	0.787	-23.114	59.130
	Romero 300 mg/kg + UCMS	1.807	13.918	1.000	-39.315	42.929
	Romero 500 mg/kg + UCMS	8.794	13.918	0.988	-32.328	49.916
Romero 100 mg/kg + UCMS	Control	-40.651	13.918	0.054	-81.773	0.471
	Agua destilada + UCMS	15.360	13.918	0.878	-25.762	56.482
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	-18.008	13.918	0.787	-59.130	23.114
	Romero 300 mg/kg + UCMS	-16.201	13.918	0.852	-57.323	24.921
	Romero 500 mg/kg + UCMS	-9.214	13.918	0.985	-50.336	31.908
Romero 300 mg/kg + UCMS	Control	-24.450	13.918	0.502	-65.572	16.672
	Agua destilada + UCMS	31.561	13.918	0.225	-9.561	72.683
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	-1.807	13.918	1.000	-42.929	39.315
	Romero 100 mg/kg + UCMS	16.201	13.918	0.852	-24.921	57.323
	Romero 500 mg/kg + UCMS	6.987	13.918	0.996	-34.135	48.109
Romero 500 mg/kg + UCMS	Control	-31.437	13.918	0.229	-72.559	9.685
	Agua destilada + UCMS	24.574	13.918	0.496	-16.548	65.696
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	-8.794	13.918	0.988	-49.916	32.328
	Romero 100 mg/kg + UCMS	9.214	13.918	0.985	-31.908	50.336
	Romero 300 mg/kg + UCMS	-6.987	13.918	0.996	-48.109	34.135

\* p<0.05 existe diferencia significativa



**Tabla 13.** Comparaciones múltiples para el tiempo de escalamiento - Prueba de Games-Howell

Tratamiento (I)	Tratamiento (J)	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	Agua destilada + UCMS	18.779	7.636	0.210	-6.825	44.383
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	-28.045	14.406	0.416	-75.233	19.143
	Romero 100 mg/kg + UCMS	-30.080	13.378	0.273	-73.547	13.387
	Romero 300 mg/kg + UCMS	-15.188	9.851	0.644	-46.495	16.119
	Romero 500 mg/kg + UCMS	-36.199	13.893	0.157	-81.526	9.128
Agua destilada + UCMS	Control	-18.779	7.636	0.210	-44.383	6.825
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	-46,824*	12.920	<b>0.040</b>	-91.695	-1.953
	Romero 100 mg/kg + UCMS	-48,859*	11.764	<b>0.017</b>	-89.538	-8.180
	Romero 300 mg/kg + UCMS	-33,967*	7.513	<b>0.007</b>	-59.121	-8.813
	Romero 500 mg/kg + UCMS	-54,978*	12.346	<b>0.011</b>	-97.769	-12.187
Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	Control	28.045	14.406	0.416	-19.143	75.233
	Agua destilada + UCMS	46,824*	12.920	<b>0.040</b>	1.953	91.695
	Romero 100 mg/kg + UCMS	-2.035	16.959	1.000	-55.990	51.920
	Romero 300 mg/kg + UCMS	12.857	14.341	0.941	-34.195	59.909
	Romero 500 mg/kg + UCMS	-8.154	17.368	0.997	-63.363	47.055
Romero 100 mg/kg + UCMS	Control	30.080	13.378	0.273	-13.387	73.547
	Agua destilada + UCMS	48,859*	11.764	<b>0.017</b>	8.180	89.538
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	2.035	16.959	1.000	-51.920	55.990
	Romero 300 mg/kg + UCMS	14.892	13.309	0.866	-28.415	58.199
	Romero 500 mg/kg + UCMS	-6.119	16.526	0.999	-58.654	46.416
Romero 300 mg/kg + UCMS	Control	15.188	9.851	0.644	-16.119	46.495
	Agua destilada + UCMS	33,967*	7.513	<b>0.007</b>	8.813	59.121
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	-12.857	14.341	0.941	-59.909	34.195
	Romero 100 mg/kg + UCMS	-14.892	13.309	0.866	-58.199	28.415
	Romero 500 mg/kg + UCMS	-21.011	13.826	0.658	-66.190	24.168
Romero 500 mg/kg + UCMS	Control	36.199	13.893	0.157	-9.128	81.526
	Agua destilada + UCMS	54,978*	12.346	<b>0.011</b>	12.187	97.769
	Fluoxetina 20 mg/kg + UCMS	8.154	17.368	0.997	-47.055	63.363
	Romero 100 mg/kg + UCMS	6.119	16.526	0.999	-46.416	58.654
	Romero 300 mg/kg + UCMS	21.011	13.826	0.658	-24.168	66.190

\* p<0.05 existe diferencia significativa

## VI. DISCUSIÓN

En los últimos años, ha existido una mayor demanda en investigar las plantas medicinales para tratar y prevenir los trastornos depresivos, debido a que los casos de depresión siguen aumentando en el mundo. Además, se ha informado que el perfil de seguridad de estas hierbas por lo general es favorable, logrando ser una alternativa a los antidepresivos convencionales, los cuales causan efectos adversos importantes <sup>(91)</sup>.

Es de conocimiento que los productos extraídos de las plantas medicinales son mezclas relativamente complejas de metabolitos, por ello, es de suma importancia la utilización de solventes selectivos para su extracción, así como conocer los factores que impactan en la calidad del extracto, tal como lo menciona Tiwari et al. <sup>(83)</sup>. En esa línea, y teniendo en cuenta la investigación realizada por Jacotet et al. <sup>(92)</sup>, quien destaca que los rendimientos más altos de extracción de *Rosmarinus officinalis* varía en una proporción de 50 a 80 % en etanol.

En el presente estudio se utilizó una maceración hidroalcohólica al 70 % para conseguir mayores concentraciones de los constituyentes bioactivos afines a la actividad antidepresiva. Sin embargo, el rendimiento de extracción obtenido en nuestra investigación fue de 5.48 %, estos resultados se alejan a los obtenidos por Lamponi et al. <sup>(93)</sup>, probablemente esta diferencia se deba a las condiciones de extracción, y principalmente a las condiciones ambientales, ya que *Rosmarinus officinalis* es una planta sensible a las variaciones climáticas que afectan su composición química <sup>(19)</sup>.

En cuanto a sus propiedades organolépticas de nuestro extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero, se observó un aspecto semisólido, con una coloración verde oscura y un olor aromático agradable, acompañado también de un sabor astringente (Tabla 3). Estos resultados emitidos coinciden con lo reportado por Muñoz <sup>(94)</sup>, donde en su investigación describe a las hojas del Romero con un olor fuertemente aromático y un sabor áspero y amargo. Por otro lado, en la prueba de solubilidad (Tabla 4), podemos evidenciar que los metabolitos secundarios presentes en nuestro extracto,

en su mayoría son solubles en etanol y en dimetilsulfóxido, lo que indicaría que dichos componentes denotan una polaridad intermedia <sup>(95)</sup>.

En relación con la marcha fitoquímica (Tabla 5), se identificó la presencia de: antocianinas, alcaloides, lactonas, aminoácidos, cardenólidos, esteroides, taninos, triterpenos, azúcares reductores y fenoles. Dentro de todo este grupo, los constituyentes hallados en el presente estudio que se asocian a la actividad antidepresiva, son los compuestos fenólicos, y en menor grado, pero también relevantes, los triterpenos <sup>(21)</sup>. Este análisis cualitativo reveló que estos metabolitos hallados son semejantes a otros trabajos reportados en la literatura, como lo hace notar Andrade et al. <sup>(12)</sup>, quien mediante un estudio de revisión sistemática, informa la presencia de dichos constituyentes y un creciente interés de investigación por los mismos. También, en nuestro screening farmacognóstico se logró observar una reacción positiva de cloruro férrico para taninos y fenoles, por lo que estos resultados son acordes con lo mencionado por Fierascu et al. <sup>(96)</sup>, quien señala que las mezclas de agua/alcohol permiten un buen rendimiento de recuperación para compuestos fenólicos debido a una alta solubilidad.

Por otra parte, Hosseinzadeh et al. <sup>(97)</sup>, identificó la presencia de alcaloides, taninos, saponinas y flavonoides en el extracto acuoso de las partes aéreas de *Rosmarinus officinalis*. Sus resultados coinciden con los hallazgos de nuestro estudio, en cuanto a la presencia de los dos primeros metabolitos secundarios. Si bien nuestros resultados indican una baja presencia de antocianinas, dado que se muestra una reacción poco evidente en el análisis fitoquímico; no se logró observar una reacción positiva en el ensayo de Shinoda para las demás clases de flavonoides, ni tampoco para saponinas, lo cual se asemeja con lo expuesto en el screening farmacognóstico del extracto acuoso de Romero por Mejía <sup>(98)</sup>. Las diferencias respecto a la composición de nuestro extracto pueden estar influenciadas por diversos factores como la ubicación geográfica de la planta, la variación climática, los solventes de extracción, el estadio de recolección, la calidad de suelo, los nutrientes empleados, la parte de la planta utilizada, entre otros, que afectan la expresión de sus metabolitos secundarios <sup>(27)</sup>.

Para determinar la actividad antidepresiva del extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis* se empleó el modelo animal de UCMS, cuya característica principal es la manifestación de la anhedonia. En roedores, la anhedonia se mide mediante la SPT y se expresa por un menor consumo de solución de sacarosa, luego de que los animales hayan sido sometidos a diversos estresores <sup>(88)</sup>. Al respecto, no hay estudios de *Rosmarinus officinalis* empleando este modelo animal de depresión, por lo que los resultados de nuestra investigación aportarán conocimiento para posteriores investigaciones.

En este estudio se demostró que los animales tratados con 300 y 500 mg/kg de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* presentaron un mayor consumo de sacarosa de 44,83 a 65,96 g y 35,54 a 44,92 g respectivamente, luego de 40 días de exposición a diferentes estresores (Tabla 6). También el grupo control (sin estrés) y el grupo tratado con 20 mg/kg de fluoxetina mostraron un mayor consumo de sacarosa de 40,08 a 58,73 g y 33,65 a 41,93 g; comparados con los grupos que recibieron agua destilada y 100 mg/kg de *Rosmarinus officinalis*. De igual forma, el porcentaje de preferencia por el consumo de sacarosa (% SPT) fue mayor en el día 40 para los animales que se les administró 300 y 500 mg/kg de *Rosmarinus officinalis*, 20 mg/kg de fluoxetina y el grupo control, que en el día cero (Tabla 6); por lo que estos resultados guardan concordancia con los obtenidos por Willner et al. <sup>(99)</sup>. Cabe destacar que, Liu et al. <sup>(100)</sup>, plantea que un consumo menor al 60 % de preferencia de sacarosa está asociado a un comportamiento depresivo.

Los resultados obtenidos se pueden explicar, tomando en cuenta un estudio realizado por Machado et al. <sup>(101)</sup>, quien reportó que la administración crónica de 10 a 300 mg/kg del extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis* durante 14 días en el modelo de bulbectomía olfativa, produjo en los ratones una disminución significativa en el comportamiento anhedónico, sugiriendo que tal efecto antidepresivo es producto de la actividad anticolinesterasa a nivel del hipocampo que presenta el extracto.

Acerca del modelo animal de depresión empleado en nuestro estudio, Willner <sup>(7)</sup>, menciona que una de las principales ventajas es que responde a terapias de antidepresivos crónicos utilizados en la actualidad, además de destacar el rol fundamental del estrés crónico como causa etiológica de la depresión. La fiabilidad y

aceptación de este modelo en el campo de las neurociencias, se debe a sus tres tipos de validez que presenta. La validez predictiva, la cual destaca que, la respuesta de un tratamiento específico en personas depresivas es similar que en el modelo animal. La validez aparente, se refiere a las similitudes fenomenológicas o morfológicas entre la condición humana y el modelo animal; es decir, la presencia de síntomas y desórdenes conductuales. Finalmente, la validez de constructo, se refiere a que los factores causales en la patología humana son semejantes al modelo animal, lo que implica que cuente con un fundamento sólido <sup>(68)</sup>.

En el presente estudio también se realizó la FST modificada para la confirmación de la hipótesis de investigación. La FST fue propuesta inicialmente por Porsolt et al. <sup>(69)</sup>, y modificada posteriormente por Cryan et al. <sup>(89)</sup>, con la finalidad de que alcance una mayor sensibilidad a la clase de los antidepresivos ISRS. Esta prueba evalúa la actividad antidepresiva a través de un menor tiempo de inmovilidad, ya que los animales desarrollan una postura inmóvil en el momento en que se hallen frente a un estado de estrés ineludible. Además, se evalúa el tiempo de nado, cuyo aumento se relaciona de cierta forma, sobre el sistema serotoninérgico, mientras que el tiempo de escalamiento se asocia con actividad en el sistema noradrenérgico y dopaminérgico <sup>(89)</sup>.

Analizando los resultados en el tiempo de inmovilidad (Tabla 6), se muestra que las dosis de 100, 300 y 500 mg/kg de extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis*, existió una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el tiempo de inmovilidad, en comparación con el grupo que recibió agua destilada + UCMS. Aparte, se aprecia que el perfil antidepresivo de los extractos fue similar al grupo que recibió 20 mg/kg de fluoxetina y al grupo control. Estos resultados concuerdan con lo reportado anteriormente por Machado et al. <sup>(18)</sup>, consiguiendo también una reducción en el tiempo de inmovilidad en la FST. Por otro lado, un estudio efectuado por Moinuddin et al. <sup>(16)</sup>, refiere que 500 mg/kg de *Rosmarinus officinalis* tuvo un efecto antidepresivo en la FST, de igual significancia ( $p < 0.001$ ) que 20 mg/kg de *Hypericum perforatum* y 15 mg/kg de imipramina, por lo que se obtiene resultados similares con los de nuestro estudio, tanto en la dosis utilizada como en la actividad antidepresiva. De igual forma, otra investigación realizada por Al Mukhtar et al. <sup>(14)</sup>, informa que el extracto acuoso de 15 y 30 mg/kg de *Rosmarinus officinalis* presentaron mayor efecto antidepresivo

que 15 mg/kg de imipramina, utilizada como control positivo. De lo anteriormente mencionado, se evidencia que *Rosmarinus officinalis* posee propiedades antidepresivas, esto puede explicarse debido a que actúa en los receptores serotoninérgicos (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>3A</sub>), noradrenérgicos ( $\alpha_1$ ) y dopaminérgicos (D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>), resultando en una mayor biodisponibilidad de monoaminas (5-HT, NA y DA) en la neurotransmisión <sup>(18)</sup>.

En lo que se refiere al tiempo de nado, se registró un mayor tiempo con 300 mg/kg de extracto de *Rosmarinus officinalis* y 20 mg/kg de fluoxetina, pero no fue significativo, respecto al grupo agua destilada + UCMS. Solo el grupo control presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ); por lo que estos resultados no corresponden a los expuestos por Cryan et al. <sup>(89)</sup>. Asimismo, tampoco se ajustan a los resultados obtenidos por Lucki <sup>(102)</sup>, quien plantea que la administración de fluoxetina aumenta significativamente el tiempo de nado, esto sucede debido a que la conducta de nado en el animal es sensible a los fármacos antidepresivos serotoninérgicos. Por el contrario, en nuestra investigación se evidenció que las dosis de 100 y 500 mg/kg de extracto de *Rosmarinus officinalis* obtuvieron un mayor tiempo de escalamiento, siendo esto estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) en comparación al grupo agua destilada + UCMS, por lo cual estos resultados son similares a lo descrito por Emamghoreishi et al. <sup>(103)</sup>. Por su parte, Cryan et al. <sup>(104)</sup>, explica que la conducta de escalamiento se incrementa por el efecto que ejercen los antidepresivos de acción selectiva en la transmisión catecolaminérgica.

Machado et al. <sup>(105)</sup>, ha reportado que el ácido ursólico, un constituyente triterpeno del Romero, ejerce un efecto antidepresivo en ratones, relacionando su accionar a un aumento en la neurotransmisión de DA y a una activación de sus receptores a nivel D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub>. También, hace mención a que el ácido ursólico causaría una mejora de la transmisión serotoninérgica, y esto a su vez, podría ocasionar de manera indirecta una activación dopaminérgica. Como se ha mencionado anteriormente, la DA desempeña una función muy importante en la recompensa, la motivación y la respuesta a estímulos placenteros, por lo que un aumento en la transmisión dopaminérgica lograría contrarrestar la anhedonia <sup>(106)</sup>.

Se ha evidenciado que en pacientes con estrés crónico se presenta una hiperactividad del eje Hipotálamo-Pituitaria-Adrenal, lo cual provoca una aumentada liberación de cortisol, desarrollando o incrementando el proceso depresivo <sup>(49)</sup>. Referente a eso, Kondo et al. <sup>(13)</sup>, evidenció a través de un estudio preclínico en ratones, que la actividad antidepresiva del ácido rosmarínico, un compuesto fenólico del Romero, consiguió regular los niveles de corticosterona en suero y reestablecer la actividad en el eje HPA, lo que provocaría un aumento en los niveles de DA en el cerebro. Además, la actividad antidepresiva atribuida a este compuesto es debido a que incrementa la expresión del gen BDNF, lo cual genera una mayor producción de la proteína BDNF en las neuronas, promoviendo la neurogénesis en el hipocampo <sup>(13)</sup>.

De lo anteriormente descrito, podemos evidenciar que el extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis* presenta actividad antidepresiva en los modelos animales de SPT y en la FST modificada. Estos hallazgos indican que nuestro extracto consiguió revertir el síntoma depresivo de la anhedonia en los animales, causada por la exposición de factores estresantes. Asimismo, tomando en cuenta los resultados de nuestro análisis farmacognóstico, en el que se evidenció la presencia de triterpenos, y principalmente la de compuestos fenólicos, se podría explicar que estos grupos de metabolitos secundarios son los responsables del efecto antidepresivo de la especie estudiada.

## VII. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “Romero” presentó efecto antidepresivo comparable a la fluoxetina en el modelo animal del estrés leve crónico impredecible (UCMS).
2. A través de la marcha fitoquímica se identificó en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “Romero”, la presencia principalmente de fenoles, azúcares reductores, taninos, cardenólidos y lactonas; así como también en menor proporción la presencia de triterpenos, antocianinas, alcaloides y aminoácidos.
3. Se demostró que el tratamiento crónico con 300 y 500 mg/kg de peso corporal del extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis* “Romero” indujo a un aumento en el consumo de sacarosa, logrando revertir la anhedonia manifestada en los ratones después de cuarenta días de estrés.
4. De acuerdo con el diseño experimental del presente estudio, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “Romero” presentó actividad antidepresiva al reducir significativamente ( $p < 0.05$ ) el tiempo de inmovilidad.
5. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “Romero”, no mostró un aumento significativo en el tiempo de nado, pero sí en el tiempo de escalamiento a dosis de 100 y 500 mg/kg de extracto de Romero, lo cual podría indicar mayor actividad en el sistema noradrenérgico y dopaminérgico.



## VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios complementarios que relacionen la actividad antidepresiva del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis*, con los marcadores bioquímicos implicados en el proceso patológico de la depresión.
- Desarrollar más investigaciones utilizando otros modelos de animales de depresión que cuenten con validez predictiva, validez aparente y validez de constructo.
- Aislar y elucidar los metabolitos secundarios encontrados en esta especie vegetal del presente estudio, para determinar los compuestos responsables de su potencial actividad antidepresiva.
- Llevar a cabo estudios de seguridad, donde se evalúe la toxicidad aguda y crónica de los extractos de *Rosmarinus officinalis*.
- Realizar trabajos de investigación clínica con el propósito de comprobar si el efecto antidepresivo hallado en el presente estudio es comparable en seres humanos.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud, Depresión [Internet]. Ginebra: OMS; 2020 [citado el 26 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/depression>.
2. Organización Panamericana de la Salud. Depresión y otros trastornos mentales comunes. Estimaciones sanitarias mundiales [Internet]. Washington: OPS; 2017 [citado el 26 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/34006/PAHONMH17005-spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
3. Instituto Nacional de Salud Mental "Honorio Delgado - Hideyo Noguchi". Nota de Prensa N°038 [Internet]. Lima: INSM; 2014 [citado el 28 de febrero del 2020]. Disponible en: <http://www.insm.gob.pe/oficinas/comunicaciones/notasdeprensa/2014/038.html>.
4. Lineamientos de Política Sectorial en Salud Mental Perú 2018 (RM N° 935-2018/MINSA). Ministerio de Salud Dirección General de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública – Dirección de Salud Mental – Lima: Ministerio de Salud; 2018.
5. Lee G, Bae H. Therapeutic Effects of Phytochemicals and Medicinal Herbs on Depression. *Biomed Res Int.* 2017;2017: 6596241. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/6596241>.
6. Rabiei Z, Rabiei S. A review on antidepressant effect of medicinal plants. *Bangladesh J Pharmacol.* 2017;12(1):1–11. DOI: 10.3329/bjp.v12i1.29184.
7. Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. *Neurobiol Stress.* 2016;6:78-93. DOI: 10.1016/j.ynstr.2016.08.002.
8. Aprueban las "Prioridades Nacionales de Investigación en Salud en Perú 2019–2023". Publicado en el diario oficial El Peruano, Resolución Ministerial N° 658-2019/MINSA (19 de julio del 2019).
9. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 6ta ed. México D.F.: McGraw Hill; 2014. p. 4.
10. Mejía J, Carrasco E, Miguel J, Flores S. Conocimiento, aceptación y uso de medicina tradicional peruana y de medicina alternativa/complementaria en

- usuarios de consulta externa en Lima Metropolitana. REV PERU MED INTEGRATIVA. 2017;2(1):47-57.
11. Prieto-González S, Garrido-Garrido G, González-Lavaut J, Molina-Torres J. Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. Rev. CENIC, Cienc. biol. 2004;35(1):19-36.
  12. Andrade J, Faustino C, Garcia C, Ladeiras D, Reis C, Rijo P. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. Future Sci OA. 2018;4(4):FSO283. DOI: 10.4155/fsoa-2017-0124.
  13. Kondo S, El Omri A, Han J, Isoda H. Antidepressant-like effects of rosmarinic acid through mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 and brain-derived neurotrophic factor modulation. J Funct Foods. 2015;14:758-766. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.001>.
  14. Al Mukhtar E, Selman S, Sahib Z, Naji H. Antidepressant-Like Effect of *Rosmarinus officinalis* Extract in Male Mice. Med J Babylon. 2013;10(4):803-808.
  15. Moinuddin G, Devi K, Satish H, Khajuria D. Comparative Pharmacological Evaluation of *Hypericum perforatum* and *Rosmarinus officinalis* for Anti-Depressant Activity. Lat Am J Pharm. 2011;30(5):1028-1032.
  16. Machado D, Bettio L, Cunha M, Capra J, Dalmarco J, Pizzolatti M, et al. Antidepressant-like effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* in mice: Involvement of the monoaminergic system. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009;33(4):642-650. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2009.03.004.
  17. Garavito E. Efecto antidepresivo del extracto liofilizado del zumo de *Lactuca sativa* L (Lechuga) en ratones. [Tesis de maestría]. [Lima – Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2011.
  18. Laines G. Estudio del efecto Antidepresivo del extracto Hidroalcohólico de hojas de *Hypericum Laricifolium* (Chinchango) en ratones Albinos. [Tesis de maestría]. [Lima – Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
  19. Flores-Villa E, Sáenz-Galindo A, Castañeda-Facio A, Narro-Céspedes R. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. TIP Rev.Esp.Cienc.Quím.Biol. 2020;23:1-17. DOI: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>.

20. González-Minero F, Bravo-Díaz L, Ayala-Gómez A. *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary): An Ancient Plant with Uses in Personal Healthcare and Cosmetics. *Cosmetics*. 2020;7(4):77. DOI: 10.3390/cosmetics7040077.
21. Kompelly A, Kompelly S, Vasudha B, Narender B. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *J Drug Deliv Ther*. 2019; 9(1):323-330. DOI: <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v9i1.2218>.
22. Ribeiro-Santos R, Carvalho-Costa D, Cavaleiro C, Costa H, Albuquerque T, Castilho M, et al. A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Trends Food Sci Technol*. 2015;45(2):355-368. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.015>.
23. Begum A, Sandhya S, Shaffath S, Vinod K, Reddy S, Banji D. An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 2013; 12(1): 61-73.
24. Sasikumar B. Rosemary. In: Peter K, editor. *Handbook of Herbs and Spices*. 2nd ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2012. p. 452-468.
25. Soliz J. Efectos de los compuestos activos y funcionales del romero (*Rosmarinus officinalis*) en el control del peso corporal y del metabolismo energético [Trabajo de fin de grado]. [Illes Balears – España]: Universitat de les Illes Balears. Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud; 2014.
26. Hassani F, Shirani K, Hosseinzadeh H. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: a review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2016;389(9):931-949. DOI: 10.1007/s00210-016-1256-0.
27. Lax V. Estudio de la Variabilidad Química, Propiedades Antioxidantes y Biocidas de Poblaciones Espontaneas de *Rosmarinus officinalis* L. en la Región de Murcia. [Tesis doctoral]. [Murcia - España]: Universidad de Murcia. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular B e Inmunología; 2014.
28. Sánchez-Camargo A, Herrero M. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a functional ingredient: recent scientific evidence. *Curr Opin Food Sci*. 2017;14:13-19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.12.003>.
29. Ferlemi A, Katsikoudi A, Kontogianni V, Kellici T, Iatrou G, Lamari F, et al. Rosemary tea consumption results to anxiolytic- and anti-depressant-like

- behavior of adult male mice and inhibits all cerebral area and liver cholinesterase activity; phytochemical investigation and in silico studies. *Chem Biol Interact.* 2015;237:47-57. DOI: 10.1016/j.cbi.2015.04.013.
30. Noori A, Mortazavi M, Kalani N, Marzouni H, Kooti W, Ali-Akbari S. Effect of Hydroalcoholic Extract of *Rosmarinus officinalis* L. Leaf on Anxiety in Mice. *J Evid Based Complementary Altern Med.* 2016;21(4):85-90. DOI: 10.1177/2156587216642101.
  31. World Health Organization. "Depression: let's talk" says WHO, as depression tops list of causes of ill health. [INTERNET] Geneva: WHO; 2017 [citado el 15 de marzo de 2021] Disponible en: <https://www.who.int/news-room/detail/30-03-2017--depression-let-s-talk-says-who-as-depression-tops-list-of-causes-of-ill-health>.
  32. Gómez-Restrepo C, Hernández-Bayona G, Jordán-Quintero M, Rojas-Urrego A, Santacruz-Oleas H, Uribe-Restrepo M. *Psiquiatría Clínica: Diagnóstico y tratamiento en niños, adolescentes y adultos.* 4ta ed. Bogotá: Médica Panamericana; 2018. p. 359.
  33. Maj M. The Continuum of Depressive States in the Population and the Differential Diagnosis Between "Normal" Sadness and Clinical Depression. In: Wakefield J, Demazeux S, editors. *Sadness or Depression? International Perspectives on the Depression Epidemic and Its Meaning.* Dordrecht: Springer; 2016. p. 29-38.
  34. Leventhal A. Sadness, Depression, and Avoidance Behavior. *Behav Modif.* 2008;32(6):759-779. DOI: 10.1177/0145445508317167.
  35. Grande I, Berk M, Birmaher B, Vieta E. Bipolar disorder. *Lancet.* 2016;387(10027):1561-1572. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)00241-X.
  36. Mingote J, Gálvez M, Del Pino P, Gutiérrez D. El paciente que padece un trastorno depresivo en el trabajo. *Med Segur Trab.* 2009;55(214):41-63.
  37. Kraus C, Kadriu B, Lanzenberger R, Zarate C, Kasper S. Prognosis and improved outcomes in major depression: a review. *Transl Psychiatry.* 2019;9(1):127 DOI: 10.1038/s41398-019-0460-3.
  38. American Psychiatric Association. *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, DSM-5.* 5ta ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2014. p. 155-188.

39. Ferrari A, Somerville A, Baxter A, Norman R, Patten S, Vos T, et al. Global variation in the prevalence and incidence of major depressive disorder: a systematic review of the epidemiological literature. *Psychol Med*. 2013;43(3):471-481. DOI: 10.1017/S0033291712001511.
40. Wang J, Wu X, Lai W, Long E, Zhang X, Li W, et al. Prevalence of depression and depressive symptoms among outpatients: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2017;7(8): e017173. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-017173.
41. Lam R. Epidemiology and burden. In: Oxford Psychiatry Library, editors. *Depression*. 3rd ed. New York: Oxford University Press; 2018. p. 3-9.
42. Strakowski S, Nelson E. Epidemiology of Depressive Disorders. In: Oxford American Psychiatry Library, editor. *Major Depressive Disorder*. New York: Oxford University Press; 2015. p. 15-21.
43. Jesulola E, Micalos P, Baguley I. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet?. *Behav Brain Res*. 2018;34:79-90. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.12.025.
44. Jans L, Riedel W, Markus C, Blokland A. Serotonergic vulnerability and depression: assumptions, experimental evidence and implications. *Mol Psychiatry*. 2007;12(6):522-543. DOI: 10.1038/sj.mp.4001920.
45. Yeh Y-W, Ho P-S, Kuo S-C, Chen C-Y, Liang C-S, Yen C-H, et al. Disproportionate Reduction of Serotonin Transporter May Predict the Response and Adherence to Antidepressants in Patients with Major Depressive Disorder: A Positron Emission Tomography Study with 4-[<sup>18</sup>F]-ADAM. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2015;18(7):1-12. DOI: 10.1093/ijnp/pyu120.
46. Moriguchi S, Yamada M, Takano H, Nagashima T, Takahata K, Yokokawa K, et al. Norepinephrine Transporter in Major Depressive Disorder: A PET Study. *Am J Psychiatry*. 2017;174(1):36-41. DOI: 10.1176/appi.ajp.2016.15101334.
47. Grosso C, Valentão P, Andrade P. Depressive Disorders: Prevalence, Costs, and Theories. In: Grosso C, editor. *Herbal Medicine in Depression: Traditional Medicine to Innovative Drug Delivery*. Switzerland: Springer; 2016. p. 13.
48. Dunlop B, Nemeroff C. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. *Arch Gen Psychiatry*. 2007;64(3):327-337. DOI: 10.1001/archpsyc.64.3.327.

49. Keller J, Gomez R, Williams G, Lembke A, Lazzeroni L, Murphy G, et al. HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. *Mol Psychiatry*. 2017;22(4):527-536. DOI: 10.1038/mp.2016.120.
50. Bao A, Swaab D. The human hypothalamus in mood disorders: The HPA axis in the center. *IBRO Rep*. 2018;6:45-53. DOI: 10.1016/j.ibror.2018.11.008.
51. Maletic V, Robinson M, Oakes T, Iyengar S, Ball S, Russell J. Neurobiology of depression: an integrated view of key findings. *Int J Clin Pract*. 2007;61(12):2030-2040. DOI: 10.1111/j.1742-1241.2007.01602.x.
52. Khan M, Wu G, Reus V, Hough C, Lindqvist D, Westrin Å, et al. Low serum brain-derived neurotrophic factor is associated with suicidal ideation in major depressive disorder. *Psychiatry Res*. 2019;273:108-113. DOI: 10.1016/j.psychres.2019.01.013.
53. Jaggar M, Fanibunda S, Ghosh S, Duman R, Vaidya V. The Neurotrophic Hypothesis of Depression Revisited: New Insights and Therapeutic Implications. In: Quevedo J, Carvalho A, Zarate C, editors. *Neurobiology of Depression*. Amsterdam: Elsevier; 2019. p. 43-62.
54. Amidfar M, Woelfer M, Réus G, Quevedo J, Walter M, Kim YK. The role of NMDA receptor in neurobiology and treatment of major depressive disorder: Evidence from translational research. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;94:109668. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2019.109668.
55. Miller A, Raison C. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(1):22-34. DOI: 10.1038/nri.2015.5.
56. Shadrina M, Bondarenko E, Slominsky P. Genetics Factors in Major Depression Disease. *Front Psychiatry*. 2018;9:334. DOI: 10.3389/fpsy.2018.00334.
57. Dunn E, Brown R, Dai Y, Rosand J, Nugent N, Amstadter A, et al. Genetic determinants of depression: recent findings and future directions. *Harv Rev Psychiatry*. 2015;23(1):1-18. DOI: 10.1097/HRP.0000000000000054.
58. Menke A. Is the HPA Axis as Target for Depression Outdated, or Is There a New hope?. *Front Psychiatry*. 2019;10:101. DOI: 10.3389/fpsy.2019.00101.

59. Lin E, Tsai S-J. Epigenetics and Depression: An Update. *Psychiatry Investig.* 2019;16(9):654-661. DOI: 10.30773/pi.2019.07.17.2.
60. Palazidou, E. Traditional and Novel Possible Targets for Antidepressant Drugs. In: Grosso C, editor. *Herbal Medicine in Depression: Traditional Medicine to Innovative Drug Delivery.* Switzerland: Springer; 2016. p. 43-73.
61. Strakowski S, Nelson E. Psychopharmacology and Other Biological Therapies in the Management of Depression. In: Oxford American Psychiatry Library, editor. *Major Depressive Disorder.* New York: Oxford University Press; 2015. p. 49-67.
62. Hillhouse T, Porter J. A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. *Exp Clin Psychopharmacol.* 2015;23(1):1-21. DOI: 10.1037/a0038550.
63. Ciraulo D, Shader R, Greenblatt D. Clinical Pharmacology and Therapeutics of Antidepressants. In: Ciraulo D, Shader R, editors. *Pharmacotherapy of Depression.* 2nd ed. New York: Humana Press; 2011. p. 33-124.
64. Shelton R. Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibitors. In: Macaluso M, Preskorn S, editors. *Antidepressants: From Biogenic Amines to New Mechanisms of Action.* Handbook of Experimental Pharmacology, vol 250. Switzerland: Springer; 2018. p. 145-180.
65. Matveychuk D, Thomas R, Swainson J, Khullar A, MacKay M-A, Baker G, et al. Ketamine as an antidepressant: overview of its mechanisms of action and potential predictive biomarkers. *Ther Adv Psychopharmacol.* 2020;10:1-21. DOI: 10.1177/2045125320916657.
66. Willner P. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology (Berl).* 1984;83(1):1-16. DOI: 10.1007/BF00427414.
67. Abelaira H, Réus G, Quevedo J. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. *Braz J Psychiatry.* 2013;35 (Suppl 2):S112-S120. DOI: 10.1590/1516-4446-2013-1098.
68. Planchez B, Surget A, Belzung C. Animal models of major depression: drawbacks and challenges. *J Neural Transm (Vienna).* 2019;126(11):1383-1408. DOI: 10.1007/s00702-019-02084-y.
69. Porsolt R, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 1977;266:730-732. DOI: 10.1038/266730a0.



70. Billones R, Kumar S, Saligan L. Disentangling fatigue from anhedonia: a scoping review. *Transl Psychiatry*. 2020; 10(1):273. DOI: 10.1038/s41398-020-00960-w.
71. Pérez R. Tratamiento farmacológico de la depresión: actualidades y futuras direcciones. *Rev. Fac. Med. (Méx.)*.2017;60(5):7-16.
72. Viveros P. Extractos Medicinales de Plantas. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. [Santiago de Chile - Chile]: Universidad de Chile; 1923.
73. Chiovatto R; Fukuda E, Feder D, Nassis C. Fluoxetina ou Hypericum perforatum no tratamento de pacientes portadores de transtorno depressivo maior leve a moderado? Uma revisão. *Arq. bras. ciênc. Saúde*. 2011; 36(3):168 -175. DOI: <https://doi.org/10.7322/abcs.v36i3.57>.
74. Ávalos A, Pérez-Urria E. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*. 2009;2(3):119-145.
75. Valdés S, Álvarez Á, y Del Barrio G. LOS MODELOS ANIMALES EN LA EVALUACIÓN PRECLÍNICA DE ANTIVIRALES CONTRA LOS VIRUS DEL HERPES SIMPLE. *Rev. Salud Anim*. 2009;31(2):86-92.
76. Zambrano J. Restricción Calórica Una revisión teórica sobre sus efectos en las monoaminas y el estado de ánimo. [Trabajo de fin de grado]. [Tenerife – España]: Universidad de La Laguna; 2015.
77. Sheffler ZM, Reddy V, Pillarisetty LS. Physiology, Neurotransmitters [Internet]. USA: StatPearls; 2021 [citado el 01 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539894/>.
78. Quesada A. LAS PLANTAS MEDICINALES. *Revista Biocenosis*. 2008;21(1-2):20-23.
79. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 6ta ed. México D.F.: McGraw Hill; 2014. p. 129.
80. Rengifo D. Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de Flavonoides y Taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum* Schubert. *Rev Soc Quím Perú*. 2018;84(2):175-181.
81. Linares C, Quiñones-Gálvez J, Pérez A, Carvajal C, Rivas M, Cid G, et al. Obtención de extractos fenólicos foliares de *Moringa oleifera* Lam mediante el uso de diferentes métodos de extracción. *Biot. Veg*. 2018;18(1):47-56.

82. Yadav R, Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *J. Phytol.* 2011;3(12):10-14.
83. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Int. pharm. sci.* 2011;1(1):98-106.
84. Ardoino S, Boeris M, Toso R. Caracterización fitoquímica de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* (algarrobo) y *Prosopis flexuosa* var. *depressa* (alpataco), plantas con acción farmacológica. *Rev. Cienc. Vet.* 2013;15(1):115-125.
85. Amaringo F, Hormaza A, Arias M. Thevetin B: glicósido cardiotónico predominante en thevetia peruviana. *Sci. Tech.* 2011;XVI(49),298-303.
86. Cortez A. Identificación de metabolitos secundarios en hojas de *Schinus molle* (molle) procedente del caserío de Huañimba- Cajabamba. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. [Trujillo - Perú]: Universidad Católica de los Ángeles de Chimbote; 2018.
87. Colina A. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de "Muehlenbeckia hastulata (J.E.Sm) I.M. Johnst" de la zona de Yucay (Cusco). [Tesis para optar el título de Químico]. [Lima – Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
88. Foyet H, Tchinda D, Koagne Y, Antioch I, Zingue S, Asongalem E, et al. Ficus sycomorus extract reversed behavioral impairment and brain oxidative stress induced by unpredictable chronic mild stress in rats. *BMC Complement Altern Med.* 2017;17(1):502. DOI: 10.1186/s12906-017-2012-9.
89. Cryan J, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci.* 2002;23(5):238-245. DOI: 10.1016/s0165-6147(02)02017-5.
90. Can A, Dao D, Arad M, Terrillion C, Piantadosi S, Gould T. The mouse forced swim test. *J Vis Exp.* 2012;(59):e3638. DOI: 10.3791/3638.
91. Ismail H, Amanat M, Iqbal A, Mirza B. Medicinal Plants: A Complementary and Alternative Antidepressant Therapy. *Curr Pharm Des.* 2018;24(22):2609-2624. DOI: 10.2174/1381612824666180727123950.
92. Jacotet-Navarro M, Laguerre M, Fabiano-Tixier A, Tenon M, Feuillère N, Bily A, et al. What is the best ethanol-water ratio for the extraction of antioxidants from

- rosemary? Impact of the solvent on yield, composition, and activity of the extracts. *Electrophoresis*. 2018;39(15):1946–1956. DOI: 10.1002/elps.201700397.
93. Lamponi S, Baratto M, Miraldi E, Bains G, Biagi M. Chemical Profile, Antioxidant, Anti-Proliferative, Anticoagulant and Mutagenic Effects of a Hydroalcoholic Extract of Tuscan *Rosmarinus officinalis*. *Plants (Basel)*. 2021;10(1):97. DOI: 10.3390/plants10010097.
  94. Muñoz L. PLANTAS MEDICINALES ESPAÑOLAS. *ROSMARINUS OFFICINALIS* L. (LAMIACEAE) (ROMERO) *Spanish medicinal plants. Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) (rosemary). *Stud. bot.* 2002;21:105-118.
  95. Sacristán M, Díaz E, Alarcón B, Vicente C, Legaz M. Curso de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): Prácticas de laboratorio y cuestiones teórico-prácticas. Parte III. Práctica de laboratorio: optimización en la separación de compuestos semejantes mediante modificación de la fase móvil. *Reduca (Biología). Serie Técnicas y Métodos*. 2011;4(3):48-78.
  96. Fierascu R, Fierascu I, Baroi A, Ortan A. Selected Aspects Related to Medicinal and Aromatic Plants as Alternative Sources of Bioactive Compounds. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4):1521. DOI: 10.3390/ijms22041521.
  97. Hosseinzadeh H, Nourbakhsh M. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts extract on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytother Res*. 2003;17(8):938-941. DOI: 10.1002/ptr.1311.
  98. Mejía P. Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos alcohólico y acuoso de romero (*Rosmarinus officinalis*), frente a un compuesto sintético. [Tesis para optar el título de Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales]. [Cuenca - Ecuador]: Universidad Politécnica Salesiana. 2019.
  99. Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)*. 1987;93(3):358-64. DOI: 10.1007/BF00187257.
  100. Liu M, Yin C, Zhu L, Zhu X, Xu C, Luo C, et al. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nat Protoc*. 2018;13(7):1686-1698. DOI: 10.1038/s41596-018-0011-z.

101. Machado D, Cunha M, Neis V, Balen G, Colla A, Grando J, et al. *Rosmarinus officinalis* L. hydroalcoholic extract, similar to fluoxetine, reverses depressive-like behavior without altering learning deficit in olfactory bulbectomized mice. *J Ethnopharmacol.* 2012;143(1):158-169. DOI: 10.1016/j.jep.2012.06.017.
102. Lucki I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol.* 1997;8:523-532. DOI: 10.1097/00008877-199711000-00010.
103. Emamghoreishi M, Talebianpour M. Antidepressant effect of *Melissa officinalis* in the forced swimming test. *DARU Journal of Pharmaceutical Science.* 2009;17(1):42-47.
104. Cryan J, Valentino R, Lucki I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005;29:547-569. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2005.03.008.
105. Machado D, Neis V, Balen G, Colla A, Cunha M, Dalmarco J, et al. Antidepressant-like effect of ursolic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. in mice: evidence for the involvement of the dopaminergic system. *Pharmacol Biochem Behav.* 2012;103:204-211. DOI: 10.1016/j.pbb.2012.08.016.
106. Belujon P, Grace A. Dopamine System Dysregulation in Major Depressive Disorders. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2017;20(12):1036-1046. DOI: 10.1093/ijnp/pyx056.

## X. ANEXOS

### ANEXO 1: Clasificación Taxonómica



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

#### CONSTANCIA N° 276-USM-2019

LA JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **César Joseth García Parraga y Jorge Jesús Lava Gálvez**, estudiantes de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Rosmarinus officinalis* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: LAMIALES**

**FAMILIA: LAMIACEAE**

**GENERO: *Rosmarinus***

**ESPECIE: *Rosmarinus officinalis* L.**

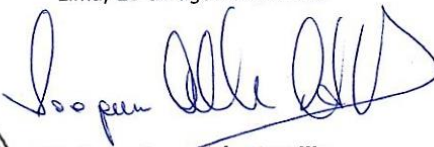
Nombre vulgar: “Romero”

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre Acuy

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 23 de agosto de 2019



  
**Dra. Joaquina Albán Castillo**  
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

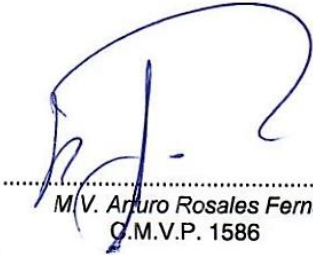
JAC/ddb

Av. Arenales 1256, Jesús María  
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

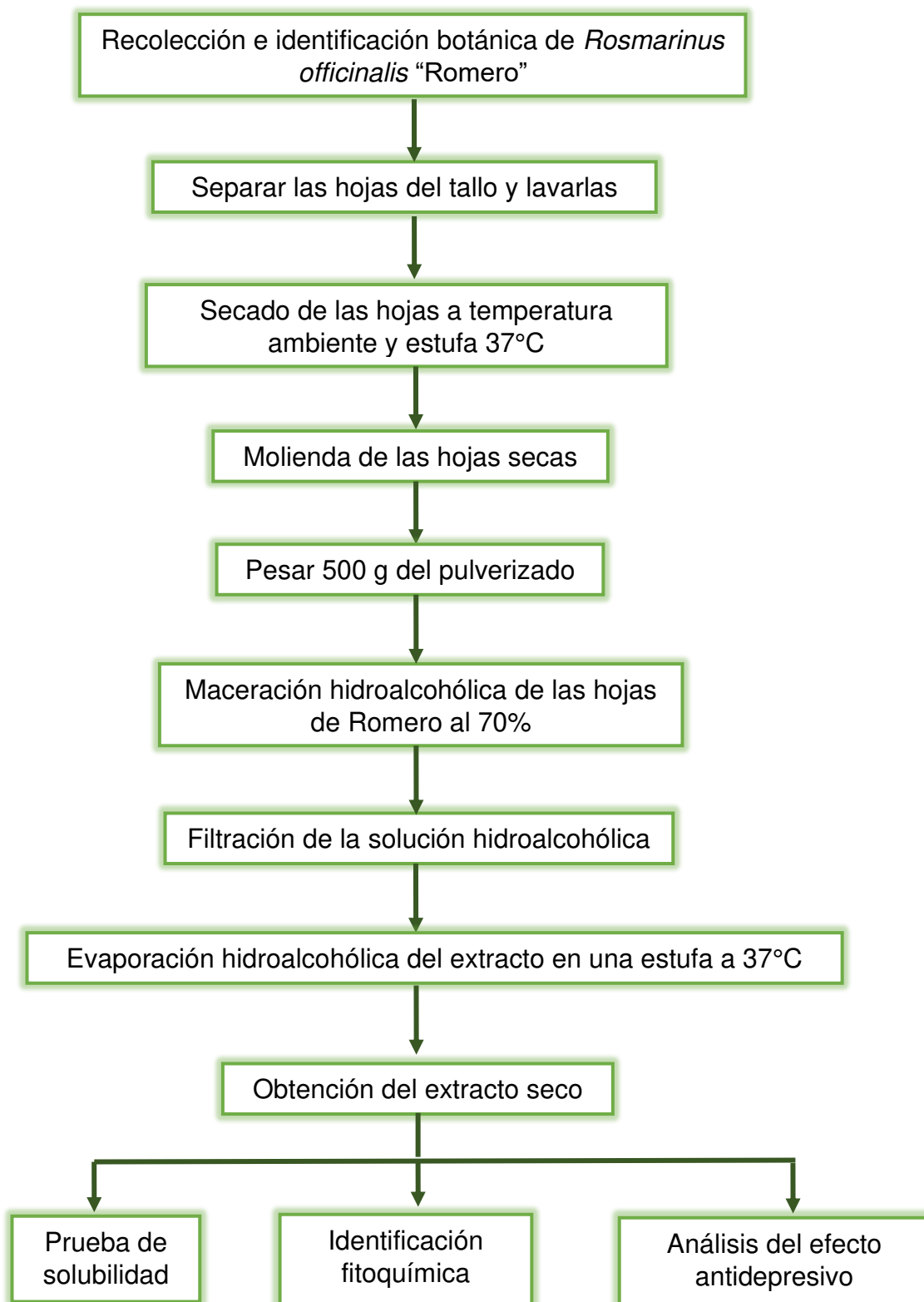
Teléfono:  
619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: [muscohn@unmsm.edu.pe](mailto:muscohn@unmsm.edu.pe)  
<http://muscohn.unmsm.edu.pe>

**ANEXO 2:** Certificado sanitario de ratones para experimentación

<b>INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO</b>			
<b>CERTIFICADO SANITARIO N°</b>		<b>338- 2019</b>	
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M-51-2019
Especie	: <u>Mus músculus</u>	Cantidad	: 70
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 29 a 30 días
Peso	: 20 a 22 g.	Sexo	: Macho
Guías de remisión	: 038518	Destino	: Lava Gálvez, Jorge
Chorrillos	: 18 - 12 - 2019		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, <b>Arturo Rosales Fernández</b>. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias * .</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p>			
Chorrillos, 18 de diciembre del 2019 (Fecha de emisión del certificado)			
<b>NOTA:</b> El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.		 ..... M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586	

### ANEXO 3: Flujograma de la parte experimental



#### ANEXO 4:

**Tabla 14.** Programa de estresores y duración en los días

<b>Día</b>	<b>Estresores</b>	<b>Duración</b>
1	Jaula inclinada	7 h
2	Cama húmeda	1 h
3	Privación de agua	24 h
4	Privación de alimentos	24 h
5 - 6	Aislamiento social	48 h
7	Natación forzada	10 min
8	Luz estroboscópica	3 h
9	No estrés	24 h
10	Privación de agua	24 h
11	Cama húmeda	1 h
12	Luz estroboscópica	2 h
13 - 14	Aislamiento social	48 h
15	Natación forzada	15 min
16	Privación de alimentos	24 h
17	Jaula inclinada	7 h
18	No estrés	24 h
19 - 20	Aislamiento social	48 h
21	Luz estroboscópica	3 h
22	Privación de agua	24 h
23	Natación forzada	10 min
24	Jaula inclinada	7 h
25	Privación de alimentos	24 h
26	Cama húmeda	1 h
27	No estrés	24 h
28	Natación forzada	15 min
29	Privación de agua	24 h



30	Privación de alimentos	24 h
31	Jaula inclinada	7 h
32	Cama húmeda	1 h
33	Luz estroboscópica	2 h
34	Privación de alimentos	24 h
35 – 36	Aislamiento social	48 h
37	No estrés	24 h
38	Natación forzada	10 min
39	Jaula inclinada	7 h
40	Privación de agua	24 h

**ANEXO 5:** Parte experimental



**Figura 13.** Planta de *Rosmarinus officinalis* "Romero".



**Figura 14.** Hojas de Romero.



**Figura 15.** Secado de las hojas de Romero



**Figura 16.** Maceración hidroalcohólica de las hojas de Romero al 70%



**Figura 17.** Filtración del macerado de las hojas de Romero



**Figura 18.** Extracto hidroalcohólico seco de las hojas de Romero



**Figura 19.** Prozac ® (Fluoxetina 20 mg) utilizado como patrón en las pruebas de comportamiento depresivo



**Figura 20.** Administración de extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero vía oral en los animales de experimentación





**Figura 21.** Estresor de cama húmeda



**Figura 22.** Estresor de aislamiento social



**Figura 23.** Estresor de luz estroboscópica



**Figura 24.** Estresor de natación forzada



**Figura 25.** Prueba de Preferencia de Sacarosa



**Figura 26.** Prueba de Natación Forzada Modificada



**ANEXO 6: Resultados de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero**



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



**PROCOLO DE ANÁLISIS N.º00480-CPF-2019**

ORDEN DE ANÁLISIS : 05559/2019  
SOLICITADO POR : JORGE JESÚS LAVA GÁLVEZ  
MUESTRA : EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* (Romero)  
NÚMERO DE LOTE : ----  
CANTIDAD : 01 frasco  
FECHA DE RECEPCIÓN : 13 de Noviembre del 2019  
FECHA DE FABRICACIÓN : ----  
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

MARCHA FITOQUÍMICA			
METABOLITO	ENSAYO	MÉTODOS	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba con NaOH 10%	Cualitativo	+
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	+
	Reacción de Mayer	Cualitativo	+
	Reacción de Wagner	Cualitativo	+
LACTONAS	Reacción de Baljet	Cualitativo	++
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	Cualitativo	-
AMINOÁCIDOS	Reacción de Ninhidrina	Cualitativo	+
CARDENÓLIDOS	Reacción de Kedde	Cualitativo	++
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann – Burchard	Cualitativo	+
SAPONINAS	Reacción de espuma	Cualitativo	-
TANINOS	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	+++
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann – Burchard	Cualitativo	+
AZUCARES REDUCTORES	Reacción de fehling	Cualitativo	+++
FENOLES	Reacción de cloruro férrico	Cualitativo	+++



**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú  
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1  
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS  
Certification

N° BR233265





**ANEXO 7: Resultados de la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero**



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**  
**CENPROFARMA**  
**CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA**



**Leyenda:**

- +++ : Reacción muy evidente
- ++ : Reacción evidente
- + : Reacción poco evidente
- : No hubo reacción

ENSAYO	ESPECIFICACIONES	MÉTODOS	RESULTADOS
SOLUBILIDAD			
ETANOL	----	USP 41	Soluble
METANOL	----	USP 41	No Soluble
AGUA	----	USP 41	No Soluble
DMSO	----	USP 41	Soluble
CLOROFORMO	----	USP 41	No Soluble

Lima, 28 de Noviembre del 2019

**Q.F. Gustavo Guerra Brizuela**  
 Director del Centro de Control Analítico


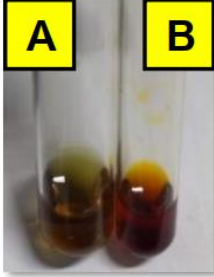
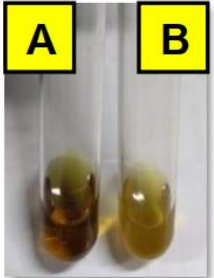




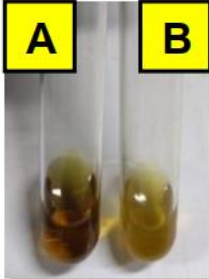

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**


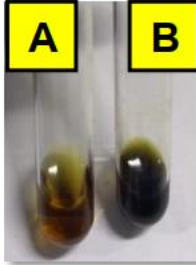
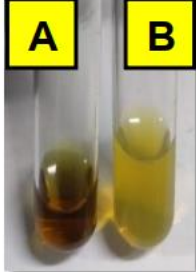

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú  
 ☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1  
 E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>




**ANEXO 8:** Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de Romero

METABOLITO	REACTIVO	RESULTADO	
<b>ANTOCIANINA</b>	Prueba cualitativa	+	<div style="text-align: center;">  </div> <p>A. Blanco extracto hidroalcohólico      B. Reacción positiva (Color amarilla)</p>
<b>ALCALOIDES</b>	Dragendorff	+	<div style="text-align: center;">  </div> <p>A. Blanco extracto hidroalcohólico      B. Reacción positiva (Precipitado pardo naranja)</p>
	Mayer	+	<div style="text-align: center;">  </div> <p>A. Blanco extracto hidroalcohólico      B. Reacción positiva (Precipitado color amarillo)</p>

METABOLITO	REACTIVO	RESULTADO	
ALCALOIDES	Wagner	+	 <p data-bbox="868 600 1066 658">A. Blanco extracto hidroalcohólico</p> <p data-bbox="1145 600 1362 689">B. Reacción positiva (Precipitado marrón rojizo)</p>
LACTONAS	Reacción de Baljet	+	 <p data-bbox="871 1003 1069 1061">A. Blanco extracto hidroalcohólico</p> <p data-bbox="1142 1003 1359 1061">B. Reacción positiva (Coloración rojiza)</p>
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	-	 <p data-bbox="868 1413 1066 1471">A. Blanco extracto hidroalcohólico</p> <p data-bbox="1118 1413 1374 1503">B. Reacción negativa (Ausencia de coloración rosa escarlata)</p>
AMINOÁCIDOS	Reacción de ninhidrina	+	 <p data-bbox="863 1861 1061 1919">A. Blanco extracto hidroalcohólico</p> <p data-bbox="1139 1861 1356 1919">B. Reacción positiva (Coloración violeta)</p>

METABOLITO	REACTIVO	RESULTADO	
<b>CARDENÓLIDOS</b>	Reacción de Kedde	+	 <p data-bbox="858 595 1350 680">A. Blanco extracto hidroalcohólico      B. Reacción positiva (Coloración rojo violeta)</p>
<b>TRITERPENOS</b>	Reacción de Lieberman Burchard	+	 <p data-bbox="858 992 1350 1077">A. Blanco extracto hidroalcohólico      B. Reacción positiva (Coloración azul verdosa)</p>
<b>SAPONINAS</b>	Reacción de espuma	-	 <p data-bbox="858 1424 1350 1509">A. Blanco extracto hidroalcohólico      B. Reacción negativa (Ausencia de formación de espuma)</p>
<b>AZÚCARES REDUCTORES</b>	Reacción de Fehling	+	 <p data-bbox="858 1865 1350 1928">A. Blanco extracto hidroalcohólico      B. Reacción positiva (Precipitado rojo ladrillo)</p>

METABOLITO	REACTIVO	RESULTADO	
FENOLES	Reacción de cloruro férrico	+	 <p data-bbox="868 602 1070 663">A. Blanco extracto hidroalcohólico</p> <p data-bbox="1145 602 1366 692">B. Reacción positiva (Coloración azul verdosa)</p>

Leyenda. “+” Reacción positiva, “-” Reacción negativa.