

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



TESIS II

“Efecto depresor del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* en *Mus musculus var. albinus*, mediante el test de Irwin”

PARA OPTAR EL GRADO ACADEMICO DE
BACHILLER EN FARMACIA Y BIOQUIMICA

AUTOR: GIL VELÁSQUEZ, Jenner Omar

ASESORA: Dra. MARÍN TELLO, Carmen Luisa

TRUJILLO – PERÚ

2018

DEDICATORIAS

A Dios Todopoderoso:

A mi Dios Todopoderoso, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles, quien supo guiarme por el buen camino, dándome fuerzas necesarias para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban.

A mis queridos padres:

Eli y Kelly

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que los caracterizan, por su amor que me bridan siempre, por el valor mostrado para salir adelante. Ya que son el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional.

A mi hermano:

Acxel

Por llenarme de alegría día tras día, por todos los consejos brindados, por compartir horas y horas de películas. A pesar de que tengamos nuestras eventuales discusiones, gracias por estar siempre presente.

Jenner Omar Gil Velásquez

AGRADECIMIENTOS

*A la facultad de **Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo** y sus docentes por su trabajo, dedicación y entrega en la parte académica para poder formarnos día a día como futuros Q.F. de calidad.*

*A **PIC 2013 Fondo Canon Minero**. “Etnobotánica, taxonomía, farmacología, fitoquímica y valorización de plantas con aplicación biomédica de Cachicadán. La Libertad” por qué gracias a ello se pudo viajar a Cachicadán para la colecta y extracción de la *Passiflora tripartita* sin mayores gastos personales.*

*Agradezco a La **Dra. Carmen Luisa Marín Tello** por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la concreción de este trabajo.*

*Agradezco a mi enamorada **Carol Villa Ruiz**, porque en los últimos años de mi carrera fuiste una fuente de estímulo y apoyo incondicional, siempre me das ánimo logrando en mí una sonrisa y con tu amor haces que todo sea menos pesado.*

*Agradezco a los señores miembros del jurado del presente informe; **Dra. Anabel González Siccha; Dr. Julio Campos Florián y Dra Carmen Luisa Marín Tello** por su apoyo, comentarios y sugerencias necesarios para la realización de este trabajo*

Jenner Omar Gil Velásquez

JURADO DICTAMINADOR

Dra. González Siccha Anabel Doris

PRESIDENTE

Dr. Campos Florián Julio Víctor

SECRETARIO

Dra. Marín Tello Carmen Luisa

VOCAL

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado dictaminador:

Dando cumplimiento a lo establecido por el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo – La Libertad, someto a vuestra honorable consideración y elevado criterio profesional el presente informe final de Tesis II:

“Efecto depresor del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* en *Mus musculus var. albinus*, mediante el test de Irwin”

Es propicia la oportunidad para manifestar mi más sincero reconocimiento a nuestra Alma Mater y toda su plana docente que con su capacidad, buena voluntad y enseñanzas que se imparten día a día contribuyen positivamente a nuestra formación profesional.

Dejo a vuestro criterio Señores Miembros del Jurado dictaminador, invocando su comprensión a los errores que involuntariamente haya cometido, esperando su veredicto en la calificación del presente informe.

GIL VELÁSQUEZ Jenner Omar

Trujillo, diciembre del 2018

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto depresor del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* en *Mus musculus var. albinus* mediante el test de Irwin. Para lo cual se trabajó con 24 especímenes distribuidos aleatoriamente en 4 grupos a quienes se les administró por única vez vía intraperitoneal (VIP) como sigue: G1: grupo blanco, 1 mL de solución salina; G2: grupo control, dosis de Diazepam 1mg/Kg; G3 y G4: grupos problema dosis, de 100 mg/Kg/p.c y 200 mg/kg/ p.c de extracto etanólico al 45% de hojas de *Passiflora tripartita*. Posteriormente se determinó el efecto depresor usando 12 pruebas (actividad locomotora, base de sustentación, marcha tambaleante, inmovilidad, escape, facilidad de manejo, fuerza muscular, cuerda tirante, plano inclinado, catatonía, reflejo nociceptivo y muerte) que forman parte del test de Irwin. Los resultados mostraron que el 33% y 16.7% de los animales del grupo G3 y G4 tienen efecto depresor, no encontrándose diferencia significativa entre estos con un $p > 0.05$ a comparación del G1 donde no se presentó actividad depresora. Se evidenció asimismo una respuesta en el G2 que presentó un $p < 0.05$ con respecto a la *Passiflora tripartita* a dosis de 100mg/Kg y un $p < 0.05$ con respecto a la *Passiflora tripartita* de 200mg/Kg. Por lo que se concluye que las dosis de 100 mg/Kg/p.c y 200 mg/kg/p.c del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* no son estadísticamente significativas, a ambas dosis se presenta efecto depresor a nivel del SNC.

PALABRAS CLAVES: *Passiflora tripartita*, diazepam, efecto depresor, test de Irwin.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the depressant effect of the ethanolic extract of leaves of *Passiflora tripartita* in *Mus musculus var. albinus* through the Irwin test. For which we worked with 24 specimens randomly distributed in 4 groups who were administered once intraperitoneally (VIP) as follows: G1: white group, 1 mL of saline; G2: control group, dose of Diazepam 1mg/Kg; G3 and G4: dose problem groups of 100 mg/kg / p.c and 200 mg / kg / p.c of ethanolic extract to 45% of leaves of *Passiflora tripartita*. Subsequently, the depressant effect was determined using 12 tests (locomotor activity, support base, staggering gait, immobility, escape, ease of handling, muscle strength, tightrope, inclined plane, catatonia, nociceptive reflex and death) that are part of the test. Irwin. The results showed that 33% and 16.7% of the animals of group G3 and G4 have depressant effect, finding no significant difference between them with a $p > 0.05$ compared to G1 where there was no depressive activity. There was also a response in the G2 that showed a $p < 0.05$ with respect to the *Passiflora tripartite* at a dose of 100mg/Kg and a $p < 0.05$ with respect to the *Passiflora tripartite* of 200mg/Kg. Therefore, it is concluded that the doses of 100 mg / kg / p.c and 200 mg / kg / p.c of the ethanolic extract of the leaves of *Passiflora tripartita* are not statistically significant, at both doses there is a depressant effect at the level of the CNS.

KEYWORDS: *Passiflora tripartita*, Diazepam, depressant effect, Irwin test

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

PRESENTACION

	Página
Resumen -----	i
Abstract -----	ii
I. INTRODUCCIÓN -----	01
II. MATERIAL Y MÉTODO -----	08
III. RESULTADOS -----	11
IV. DISCUSIÓN -----	13
V. CONCLUSIONES -----	17
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	18
ANEXOS -----	21

I. INTRODUCCIÓN

El sistema nervioso central constituye uno de los sistemas más complejos del cuerpo humano radicando su importancia en la autogeneración de impulsos nerviosos, involucrándose de ésta manera en los mecanismos de la conducta y funciones cerebrales superiores¹. La función comunicativa del SNC depende además de ciertas moléculas que se liberan en las terminales axonales donde una neurona se comunica funcionalmente con otra sinapsis, como los neurotransmisores, que modifican la actividad de las células a las cuales están dirigidos, siendo su acción local y rápida; los neuromoduladores que regulan la respuesta neuronal, pero son incapaces de llevar a cabo la neurotransmisión y finalmente las neurohormonas, las cuales son producto de secreción de las neuronas hacia el líquido extracelular, a través del cual regulan respuestas en extensas regiones de forma más lenta y prolongada en el tiempo¹.

Generalmente los neurotransmisores se clasifican en excitatorios e inhibidores; los primeros capaces de ejercer un aumento en la probabilidad de que la neurona genere un potencial de acción, como son el glutamato, la epinefrina y norepinefrina; mientras que los inhibitorios ejercen disminución en la probabilidad que la neurona genere un potencial de acción, dentro de ellos están el GABA, glicina, y la serotonina².

Así mismo cabe mencionar que a nivel del sistema nervioso pueden actuar sustancias que provocan el aumento de la actividad de neurotransmisores inhibitorios como el GABA, llamándose depresoras, las cuales desencadenan disminución de la actividad cerebral proporcionando efectos calmantes y de somnolencia, dentro de ellas se encuentran algunos medicamentos como las drogas depresoras del sistema nervioso central que son sustancias que pueden disminuir la actividad cerebral³. En algunos casos también se conocen con el nombre de “sedantes” o “tranquilizantes” y se utilizan tanto en ámbitos sanitarios como en ámbitos recreacionales⁴. En el ámbito sanitario, encontramos distintos medicamentos que realizan

actividades depresoras. Por ejemplo, los ansiolíticos, medicamentos para dormir y los tranquilizantes son los más conocidos⁴.

Los ansiolíticos son fármacos que reducen la ansiedad, cualquiera que sea la causa de esta, reduciendo la activación de circuitos cerebrales septohipocámpicos, cuya actividad se incrementa ante señales de peligro, su grupo representativo son los benzodiazepinas, se trata de sustancias psicotrópicas más utilizadas por su gran eficacia, rápido inicio de efectos terapéuticos⁵. Los benzodiazepinas (BZD) son fármacos depresores del SNC, consideradas ansioselectivas, es decir disminuyen la ansiedad en dosis que producen poca sedación y sueño, por lo que son considerados fármacos de elección en el trastorno de ansiedad, además de poseer propiedades hipnóticas, anticonvulsivantes y miorelajantes⁶. Las BZD actúan a nivel de sistema nervioso central, uniéndose de manera selectiva sobre subtipos específicos de receptores de tipo A del ácido gamma amino butírico (GABA A), que intervienen en la transmisión sináptica inhibitoria rápida de todo el SNC⁷. La actividad farmacológica de los receptores benzodiazepínicos varía de acuerdo con la subunidad α expresada. La acción ansiolítica de estos derivados parece estar mediada por receptores que contienen la subunidad α_2 . Las benzodiazepinas potencian la respuesta al GABA, facilitando la apertura de los canales de cloro activados por éste, lo que produce la hiperpolarización de la neurona. Como consecuencia, esta se vuelve menos susceptible a los estímulos activadores por lo que se produce un estado de inhibición neuronal⁷.

La utilización continuada de las BZD puede producir dependencia y conlleva el riesgo de aparición de un fenómeno de rebote al suspender el tratamiento, además de ello se suman los efectos secundarios que comprenden somnolencia, confusión, amnesia y trastornos de la coordinación motora, con un notable deterioro de las habilidades manuales⁸. Por ello se está

buscando una forma natural de remplazar estos medicamentos y una alternativa son las plantas medicinales⁹.

Una de las plantas poco conocida, pero que estudios previos la muestran con alto nivel ansiolítico, es la *Passiflora tripartita var. mollissima*. Riofrío K después de la administración 0.2 mL del extracto de la planta en estudio (*Passiflora tripartita var. mollissima*) en diferentes concentraciones (40, 70 y 100%) y evaluada mediante los Test de Laberinto elevado, actividad exploratoria, chimenea, miorelajante y de curiosidad, confirmó que la planta estudiada presenta un efecto ansiolítico¹⁰. Asimismo, en una investigación realizada anteriormente por los autores de esta investigación, se determinó el efecto ansiolítico del extracto etanólico de *Passiflora tripartita var. mollissima*, a la dosis de 200 y 100 mg/Kg en *Mus musculus var. albinus* evaluado por el método “Marble burying”¹¹.

Sin embargo, no solo es necesario que una planta tenga efecto ansiolítico a ciertas dosis, sino que debe analizarse su efecto depresor, ya que el grado de depresión del SNC causado por una droga sedante debe ser mínimo a dosis terapéutica, afectando poco o nada las funciones motoras y mentales del ser humano¹².

Para poder estudiar el efecto de una planta o un fármaco en el SNC como parte de sus aspectos de seguridad como es el caso de aquellos con poder hipnóticos, ansiolíticos, antidepresores, opiáceos entre otros, se debe realizar un perfil Neurofarmacológico. El perfil Neurofarmacológico es un conjunto de evaluaciones farmacológicas conductuales que permite identificar de manera preliminar la actividad en el SNC que tienen compuestos nuevos sintetizado¹³. Este perfil se hace de una manera obligatoria antes de exponer al hombre en las fases clínicas de investigación, por lo cual La ICH (International Committee for Harmonization) recomienda como una de las pruebas para la evaluación de seguridad farmacológica al Test de Irwin¹⁴.

Por lo expuesto se planteó el siguiente **Problema:**

¿El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* tendrá efecto depresor en *Mus musculus var. albinus* evaluado por el test de Irwin?

Hipótesis

Se formuló la siguiente hipótesis:

El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* posee efecto depresor en *Mus musculus var. albinus* al ser evaluado por el test de Irwin”

De acuerdo a lo expuesto el trabajo estuvo orientado a cumplir los siguientes objetivos:

Objetivos:

General:

- ✓ Determinar el efecto depresor del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* en *Mus musculus var. albinus*.

Específicos:

- ✓ Evaluar el efecto depresor del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* a la dosis de 100 mg/kg en *Mus musculus var albinus*.
- ✓ Evaluar el efecto depresor del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* a la dosis de 200 mg/kg en *Mus musculus var albinus*.
- ✓ Comparar el efecto depresor del extracto etanólico de la *Passiflora tripartita* y Diazepam.

II. MATERIAL Y MÉTODO

2.1. MATERIAL:

2.1.1 Material biológico:

- 24 animales de experimentación *Mus musculus var. albinus*, machos, adultos, aparentemente sanos, con un peso corporal promedio de 24 - 31 g procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Salud.

2.1.2 Material Botánico:

- Hojas de *Passiflora tripartita*, obtenida en las laderas del cerro la botica distrito de Cachicadán –Santiago de chuco -La Libertad. Altura: Media, 2884 m s. n. m.

2.1.3 Material de laboratorio:

- El de uso común en el laboratorio
- Algodón
- Agujas N° 23
- Jeringa descartable de 1 y 5mL
- Jaulas para ratones
- Recipiente color ámbar 1750 ml

2.1.4 Material químico y/o farmacológico:

- Diazepam MEDIFARMA. Lote: 1050345
- Solución salina fisiológica 0.9%

2.1.5 Instrumentos y equipos de laboratorio:

- Estufa THELCO H. W. Kessel Model 17
- Rotavapor LABCONCO
- Balanza Electrónica Henkel 5 kg

2.1.6 Reactivos:

- Violeta de genciana

- Etanol 96° G.L
- Agua destilada

2.2 MÉTODO:

2.2.1 METODOLOGÍA DEL TRABAJO

2.2.1.1 Recolección, identificación y tratamiento de la planta

a. Recolección, identificación taxonómica.

La planta se recolectó desde las 9 de la mañana hasta las 3 de la tarde en las laderas del cerro la Botica del distrito de Cachicadán Provincia de Santiago de Chuco.

Luego se identificó en el Herbario Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo confirmando que si era *Passiflora tripartita* var. *mollissima*. Asignándole el código de registro: 58465¹¹. (ANEXO 01)

b. Tratamiento de la planta

Las hojas fueron seleccionadas luego deshidratadas en el estado natural bajo sombra por un tiempo de 96 horas. Posteriormente fueron sometidas a una molienda utilizando un molino mecánico, se procedió a tamizar para igualar el tamaño de partículas, se almacenó en recipientes color ámbar¹⁵.

2.2.1.2 Elaboración del extracto y análisis fitoquímico de la planta

a. Elaboración del extracto etanólico.

Se realizó una maceración de 38,8 g de muestra seca pulverizada con 0.8 L de alcohol al 45% por 7 días a temperatura ambiente agitando ocasionalmente¹¹.

Luego la muestra se llevó a un tratamiento con rota evaporador para eliminar el solvente (alcohol) y se obtuvo un extracto blando más concentrado. Este extracto se

distribuyó en placas Petri aproximadamente con 20 mL de extracto cada placa que posteriormente se llevó a la estufa a 37°C ¹¹.

b. Análisis fitoquímico:

El análisis fitoquímico fue proporcionado por el proyecto financiado por el canon minero denominado “Etnobotánica, taxonomía, farmacología, fitoquímica y valorización de plantas con aplicación biomédica de Cachicadán. La Libertad” Universidad Nacional de Trujillo.PIC:320213201.2013. (ANEXO N°02)

2.2.1.3 Obtención y adaptación de animales de experimentación

Se utilizaron 24 animales de experimentación *Mus musculus var. albinus*, machos, adultos, aparentemente sanos, con un peso corporal promedio de 24 a 31 g procedentes del bioterio del Instituto Nacional De Salud – INS (Lima-Perú). Fueron acondicionados en las instalaciones del Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNT por un periodo de 5 días previos a la experimentación¹⁶. (ANEXO N°03)

Todos fueron tratados en las mismas condiciones. En todo momento se trabajó en el marco de las normas éticas internacionales para el manejo de animales¹⁶.

2.2.1.4 Cálculo y preparación de las Dosis

a. Cálculo y preparación de la dosis de *Passiflora tripartita var. mollisima*

Se trabajó con la dosis de 100 mg/kg *Passiflora*, en donde el grupo seleccionado de ratones pesaban un promedio de $x = 27.17g$, se utilizó la regla de tres simple (se multiplicó $x 100mg/kg$ de la dosis a emplear y se dividió entre los 1000 g de peso corporal estándar). La cantidad resultante es la dosis perteneciente a un ratón, se calculó para 10 ratones entonces se multiplicó por 10, esta cantidad obtenida en mg se

pesó del extracto etanólico seco y se vació en un vial, luego se agregó 2 gotas de agua purificada y 1mL de solución salina fisiológica y se comenzó agitar, se cargó en una jeringa de 1mL, del cual se aplicó 0.1mL de extracto V.I.P¹⁷.

De forma similar, se trabajó con la dosis de 200 mg/kg *Passiflora*. En donde el grupo seleccionado de ratones pesaban un promedio $x = 27.67$ g de peso corporal, se utilizó la regla de tres simple (se multiplicó $\times 100$ mg/kg de la dosis a emplear y se dividió entre los 1000 g de peso corporal estándar). La cantidad resultante es la dosis perteneciente a un ratón, pero se calculó para 10 ratones entonces se multiplicó por 10, esta cantidad saliente en mg se pesó del extracto etanólico seco y se vació en un vial, luego se agregó 2 gotas de agua purificada y 1mL de solución salina fisiológica y se comenzó a agitar, finalmente se cargó en una jeringa de 1mL del cual se aplicó 0.1mL de extracto V.I.P¹⁷. (ANEXO N°04)

b. Cálculo y preparación de la dosis de Diazepam:

Se trabajó con la dosis de 1mg/kg Diazepam. En donde el grupo seleccionado de ratones pesaban un promedio $x = 27$ g, igualmente se utilizó la regla de tres simple (se multiplicó por 1mg de la dosis a emplear y se dividió entre los 1000 g de peso corporal estándar). La cantidad resultante es la dosis de un ratón, pero se calculó para 10 ratones entonces se multiplicó por 10, el resultado nuevamente se llevó la regla de tres simple: se multiplicó por 2mL y se dividió entre 10mg (diazepam 10mg/2mL), la cantidad resultante se midió en una jeringa y el resto se completó 1mL con solución salina fisiológico, del cual se aplicó 0.1mL de esta solución V.I.P¹⁷. (ANEXO N°04).

2.2.1.5 Fase experimental: Método “Test de Irwin”

a. Distribución de grupos de trabajo:

Los ratones fueron asignados aleatoriamente en grupos de 5. Grupo blanco (G1), Grupo Diazepam (G2), Grupo *Passiflora* 100mg/Kg (G3), Grupo *Passiflora* 200mg/Kg (G4). que recibirán uno de los siguientes tratamientos¹⁷.

- ✓ G1: se administró por vía intraperitoneal suero fisiológico a la dosis de 1mL/kg. Después de la administración fueron separados a una nueva jaula de alojamiento¹⁷.
- ✓ G2: se administró por vía intraperitoneal diazepam, diluido en solución salina fisiologica (0.9%), en una dosis de 1 mg/kg. Se realizó en el bioterio. Después de la administración fueron separados a una nueva jaula de alojamiento¹⁷.
- ✓ G3: Se administró por vía intraperitoneal extracto etanólico de *Passiflora tripartita* diluido en solución salina fisiológica (0.9%), en una dosis de 100 mg/kg. Después de la administración fueron separados a una nueva jaula de alojamiento¹⁷.
- ✓ G4: Se administró vía intraperitoneal extracto etanólico de *Passiflora tripartita* diluido en solución salina fisiológica (0.9%), en una dosis de 200 mg/kg. Después de la administración fueron separados a una nueva jaula de alojamiento¹⁷.

b. Preparación para la fase experimental

Para la administración de las dosis descritas, se tomó 1 ratón de cada grupo y se le administró la dosis correspondiente, se le separó de la jaula, luego se controló un tiempo de 25 min y se procedió a evaluar cada una de las 12 pruebas consideradas del test de irwin, posteriormente se tomó un segundo ratón de cada grupo para la administración de las dosis y control del tiempo, y así sucesivamente hasta completar todos los grupos¹⁸.

c. Pruebas “Test de Irwin”

Consistió en la observación de manifestaciones neurológicas en el ratón, 25 min después de la administración de las sustancias descritas. Los ítems analizados, fueron los siguientes:¹⁹.

1. Actividad locomotora: desplazamiento espontáneo del ratón. Para apreciar correctamente esta manifestación, se tomó simultáneamente al animal control y al tratado y se depositaron sobre la superficie de la mesa¹⁹.
2. Base de sustentación: inmovilidad o desplazamiento con las extremidades en posición anormal. En casos extremos se arrastra o descansa sobre el abdomen¹⁹.
3. Marcha tambaleante: se observó un desplazamiento irregular y mal coordinado en el ratón¹⁹.
4. Inmovilidad: es la permanencia sin movimientos corporales, en el mismo sitio. Para apreciar correctamente esta manifestación, se tomó al ratón de la cola y se depositó suavemente en otra parte de la mesa¹⁹.
5. Escape: se observó el movimiento de huida al intentar tomar al animal por el dorso¹⁹.
6. Facilidad de manejo: se observa a través del grado de dificultad o resistencia que presenta un animal para ser manipulado¹⁹.
7. Fuerza muscular: resistencia que opone un animal a la tracción. Para esta maniobra se colocó al animal sobre la rejilla, se tomó de la punta de la cola y se tiró hacia atrás suavemente¹⁹.
8. Cuerda tirante o prueba del alambre: permanencia y desplazamiento. Consistió en sujetar al animal de la cola y colocar las patas delanteras en una cuerda ubicado a 20 cm de altura, tan pronto el animal se agarró del alambre se suelta, para registrar

el tiempo en que el animal se agarra con las patas traseras. Los animales no afectados pueden permanecer por más de 5 seg. Este experimento evalúa la relajación muscular que puede aparecer como signo de neurotoxicidad luego de la administración de ciertos fármacos¹⁹.

9. Plano inclinado: desplazamiento a lo largo de una superficie inclinada a 45°. Se colocó al animal en el centro de la superficie inclinada y se observó su conducta. Los animales no afectados pueden caminar fácilmente sobre este dispositivo. Si el animal está afectado permanecerá inmóvil o se deslizará¹⁹.
10. Catatonía: inmovilidad en posición forzada. Se tomó al ratón por el dorso y por la cola y se trató de que descansara una de sus patas delanteras sobre un cubo de 3 a 5 cm; si permanece en esa posición más de 5 seg. Se toma nota como catatonía¹⁹.
11. Reflejo Nociceptivo: movimiento brusco del animal habitualmente acompañado de chillidos, en respuesta a la aplicación de un estímulo nociceptivo. Se colocó al animal sobre el contenedor y se hizo tracción jalándolo de la cola. Se aplicó la pinza a 1 cm. de la base y se retiró rápidamente de las manos. La respuesta es positiva cuando el animal muerde la pinza en un periodo de 10 segundos¹⁹.
12. Muerte: ausencia de signos vitales del animal de experimentación por más de 5 minutos¹⁹.

De ellos se catalogó con un “Sí” (Presencia de actividad depresora) y con un “No” (Ausencia de actividad depresora) ANEXO N°05 y 06

d. Ambiente experimental

Se evaluó que el ambiente más propicio para realizar las pruebas era el bioterio de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, en horas de la tarde (13 – 19 h), debido a que los animales estaban adaptados a ese tipo de lugares,

por ello se intentó lo mayor posible evitar el ruido de los alumnos y del personal encargado del bioterio tratando que los ratones no sean perturbados durante la prueba.²⁰

2.2.1.6. Fase de procesamiento de datos.

Método estadístico.

Los datos cualitativos obtenidos del Test de Irwin, se validaron, a través de la prueba de Chi cuadrado y la prueba exacta de Fisher. Con un intervalo de confianza del 95%. Para lo cual se empleó el programa estadístico Epidat versión 3.1 ²¹.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

III. RESULTADOS

TABLA N° 1:

Tamizaje fitoquímico de los extractos etanólicos de hojas *Passiflora Tripartita*

Tipo de Extracto	Extracto Etanólico										
Pruebas Evaluadas	Catequinas	Resinas	Fehling	Ballet	Fecul3	Bortranger	Shinoda	Dragendorff	Mayer	Wagner	Hager
<i>Passiflora Tripartita</i> (Cachicadán)	-	-	+	-	+	-	+	+++	++	+	-

Fuente: Tomado de “Etnobotánica, taxonomía, farmacología, fitoquímica y valorización de plantas con aplicación biomédica de Cachicadán. PIC:320213201.2013.

Legenda

+++ : Alta concentración del metabolito secundario.

++ : Mediana concentración del metabolito secundario.

+ : Presencia de Metabolitos secundarios.

- : Ausencia de Metabolitos secundarios.

TABLA N° 2:

Efecto depresor del extracto etanólico de hojas *Passiflora tripartita* en *Mus musculus var. albinus*, según el test de Irwin. UNT 2018.

Efecto Depresor	Blanco		Diazepam		<i>Passiflora</i> 100 mg.		<i>Passiflora</i> 200 mg	
	n	%	N	%	n	%	n	%
SI	0	0.00	6	100	2	33.3	1	16.7
NO	6	100	0	0.00	4	66.7	5	83.3
Total	6	100	6	100	6	100	6	100

$\chi^2 = 14.756$

$p = 0.002037$

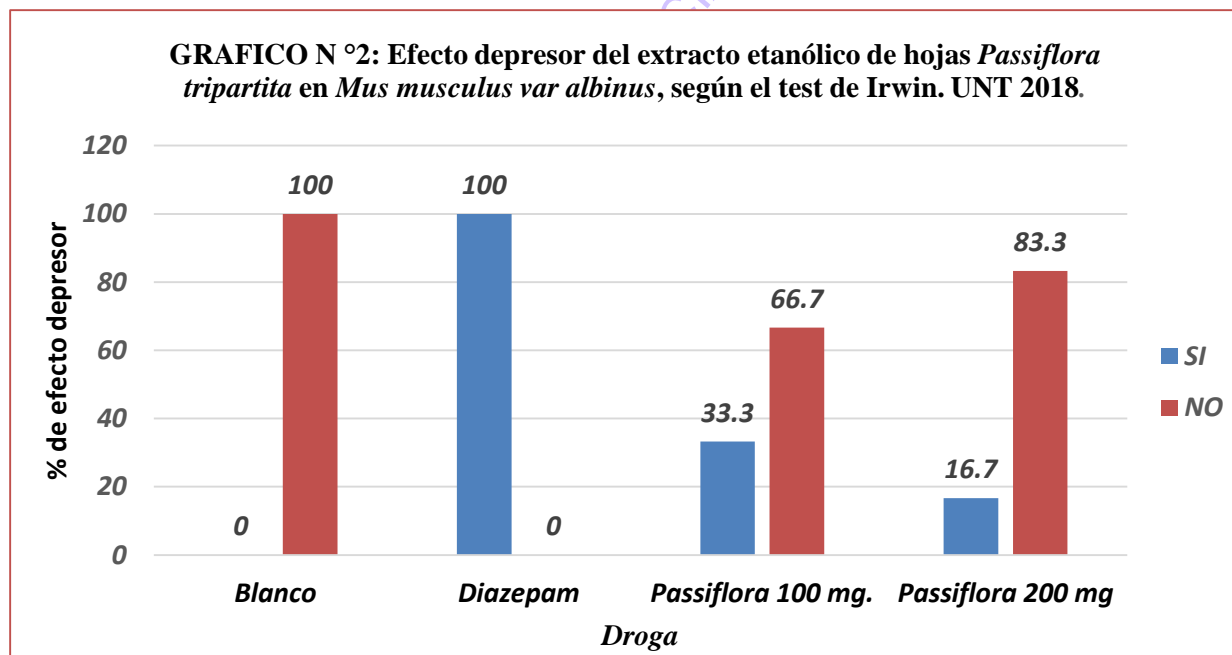


TABLA N° 3:

Comparación del efecto depresor en *Mus musculus var. albinus*, según el test de Irwin.
UNT 2018.

Drogas		Prueba Exacta de Fisher		
Blanco	Diazepam			
0	6	p = 0.001	p<0.05	Estadísticamente significativo
Blanco	Passiflora 100mg			
0	2	p = 0.2273	p>0.05	Estadísticamente no significativo
Blanco	Passiflora 200mg			
0	1	p = 0.5	p>0.05	Estadísticamente no significativo
Diazepam	Passiflora 100 mg.			
6	2	p = 0.0303	p<0.05	Estadísticamente significativo
Diazepam	Passiflora 200 mg.			
6	1	p = 0.0076	p<0.05	Estadísticamente significativo
Passiflora 100 mg.	Passiflora 200 mg.			
2	1	p = 0.5	p>0.05	Estadísticamente no significativo

IV. DISCUSIÓN

La presente investigación evaluó el efecto depresor del extracto etanólico de *Passiflora tripartita*, a dosis de 100mg/kg y 200mg/kg, con el test de Irwin. Los ítems analizados fueron los siguientes: actividad locomotora, base de sustentación, marcha tambaleante, inmovilidad, escape, facilidad de manejo, fuerza muscular, cuerda tirante, plano inclinado, catatonía, reflejo nociceptivo y muerte. El test de Irwin nos permitió evaluar los efectos generales de la diazepam y las dosis de *Passiflora tripartita* sobre la actividad del sistema nervioso central y las funciones biológicas¹⁸. (ANEXO N°05)

Los ratones evaluados fueron seis para cada grupo experimental. Las pruebas evaluadas fueron doce, lo cual según criterios del investigador se consideró efecto depresivo si los ratones pasaban por lo menos seis de las pruebas y no depresivo si se encontraban entre el rango de cero a cinco de las pruebas aprobadas¹⁸.

En la tabla N°1: se observa que el extracto dio positivo para el ensayo de Shinoda, éste resultado indica que el extracto posee flavonoides que tengan en su estructura un núcleo benzopirona como las flavonas, flavonoles, flavanonas, etc ²². Asimismo, dio positivo para los ensayos de Dragendorff, Mayer y Wagner indican presencia de alcaloides. No se sabe exactamente cuál o cuáles son los compuestos responsables del efecto ansiolítico y depresor del SNC. En su momento se creía q se debe a los alcaloides presentes en la *Passiflora*, al presentar una acción inhibitoria de la MAO-A. Sin embargo, la fracción de alcaloides demostró poseer actividad estimulante in vitro. Entonces ha recaído todo el efecto en los flavonoides específicamente la crisina, como el causante del efecto depresor y ansiolítico. Respecto a esto, en recientes estudios in vitro e in vivo se afirma que dichos flavonoides son solo profármacos de los verdaderos principios activos de esta planta: los ácidos hidroxifenilacéticos resultantes del metabolismo intestinal de los mismos. Esta

afirmación explicaría la actividad biológica dependiente de la vía de administración, careciendo por ello, como quedó demostrado con el kaempferol y la quercitina, de efectos ansiolíticos cuando es administrada por vía intraperitoneal. Posiblemente la actividad de la droga sea un efecto sinérgico entre diversos componentes de la misma²³.

En la tabla y gráfico N°2: se puede observar que el total de ratones pertenecientes al grupo diazepam pasaron más de las seis pruebas mínimas exigidas para considerar que poseen efecto depresor, esto indica que el fármaco posee un significativo efecto depresor, con respecto al grupo blanco, consolidando así el efecto depresor del SNC ya conocido por este medicamento, esto concuerda con lo encontrado por Fernández J en la investigación: Estudio de los efectos del diazepam sobre la actividad psicomotora en ratones; este estudio demostró que el diazepam afecta a la función motora y psíquica disminuyendo estas funciones²⁴. Asimismo, con lo encontrado por Miranda A y col. sobre el perfil neurofarmacológico del diazepam en donde se observó que posee efecto miorelajante, pérdida de coordinación y actividad motora, y se ve aumentados al subir las dosis de diazepam²⁵.

En los resultados de extracto etanólico de *Passiflora tripartita* a dosis de 100mL/kg y 200 ml/kg, se observa que en la primera dosis, solo dos ratones pasaron las seis pruebas mínimas exigidas para ser considerados efecto depresor; mientras que para la segunda dosis se puede observar que solo un ratón paso las seis pruebas; representando el 33,3% y 16,7% respectivamente. Éste resultado se evaluó con el análisis estadístico Chi cuadrado donde se obtiene $x^2 = 14.756$ y un ($p = 0.0020$), demostrando así un mínimo efecto depresor con respecto al grupo diazepam, recordemos que en una investigación pasada, realizada por los mismos autores titulada: Efecto del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* (tumbo serrano) en la ansiedad, en *mus musculus var. albinus*; se pudo comprobar que esta planta posee poder ansiolítico. Éstos resultados se ajustan a lo encontrado por investigadores Coleta M y col, en la evaluación Neurofarmacológica

de los supuestos efectos ansiolíticos de *Passiflora edulis* Sims, sus subfracciones y componentes flavonoides, en donde dan como resultado que la fracción de la *Passiflora* rica en flavonoides total (TFF) presenta una actividad de tipo ansiolítico pero compromete la actividad motora levemente²⁶. También concuerdan con lo encontrado por Rea V y col, en la investigación titulada: Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*) en el cual evidencia que en el extracto de *Passiflora quadrangularis* al 100% hubo menos actividad exploratoria y locomotora por parte de este grupo²⁷.

En la tabla N°3: en la comparación entre el grupo Diazepam y Blanco, el total de ratones del grupo diazepam pasan las 6 pruebas mínimas exigidas para poder afirmar que posee efecto depresor a diferencia del grupo blanco que ninguno pasa las 6 pruebas mínimas ($p=0.001$). Este resultado es esperado ya que el diazepam es un fármaco ansiolítico depresor comprobado perteneciente al grupo de las benzodiazepinas (BZD). Las BZD potencian el efecto del neurotransmisor GABA sobre sus receptores ionotrópicos, lo que permite una mayor entrada del ión cloro a las neuronas favoreciendo la hiperpolarización de su potencial de membrana; la neurona se vuelve menos susceptible a los estímulos activadores (menos excitable) y se produce un estado de inhibición neuronal. La acción farmacológica que llevan a cabo las BZD depende del tipo de subunidad α que contenga el receptor GABA A. El sitio receptor a BZD de la subunidad $\alpha 1$ es el más abundante en el sistema nervioso central, y regula las acciones anticonvulsivas, hipnóticas y sedantes de las BZD; esta subunidad se expresa principalmente en las cortezas del cerebro y del cerebelo²⁸. El sitio receptor a BZD de la subunidad $\alpha 2$ regula las acciones ansiolíticas y su expresión predomina en la amígdala del lóbulo temporal (particularmente en el núcleo central), el hipocampo y el cuerpo estriado. El sitio benzodiazepínico de la subunidad $\alpha 3$ se conoce también como receptor periférico, la acción farmacológica de las BZD sobre esta subunidad está

relacionada con el efecto relajante muscular. Las BZD clásicas como es el diazepam van actuar en estas tres sub unidades provocando el efecto ansiolítico ²⁹.

En la comparación entre el grupo Diazepam y *Passiflora tripartita* a dosis de 100mg/kg y 200 mg/kg los ratones del grupo diazepam presentan un marcado efecto depresor con un nivel de significancia ($p=0.0303$) respecto de la *Passiflora* de dosis 100mg/kg y una significancia de ($p=0.0076$) respecto de la *Passiflora* de 200 mg/kg. De lo cual se infiere que entre Diazepam y los extractos de *Passiflora* existe diferencia significativa, demostrando que ésta planta si bien presenta efecto ansiolítico a determinadas dosis como lo indican diversos estudios; el grado de depresión a nivel del SNC es mínimo a estas dosis³⁰.

En los resultados de extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* a dosis de 100 mg/kg y la de 200 mg/kg, se observa un valor de ($p= 0.5$), indicando que no existe diferencia significativa entre ambos grupos; de lo cual se puede deducir que los efectos mínimos depresores son prácticamente iguales. Estudios llevados a cabo en esta planta a diferentes dosis se enfocan principalmente en el efecto ansiolítico de esta, no señalan una significativa depresión en el SNC.

Respecto a la actividad de ésta planta en el sistema nervioso central aún es controversial. Algunos estudios demuestran efecto depresor no específico del sistema nervioso central, otros efecto sedante, ansiolítico, tipo ansiolítico sin alterar la actividad motora, tipo ansiolítico sin alterar el proceso de memoria y calmante tipo tranquilizante mayor; aunque, otros investigadores afirman que no posee efecto ansiolítico, ni efecto hipnótico-sedante ³⁰.

A pesar de la incertidumbre en torno a sus efectos en el SNC una investigación realizada en el 2012 en humanos, la cual se trata de un estudio doble ciego sobre una muestra de 60 pacientes de entre 25 y 55 años que iban a ser sometidos a una anestesia epidural, se evaluó la eficacia de la administración de 700 mg/mL de un extracto acuoso de *Passiflora* frente al placebo administrado

al grupo control. Se observó que la *Passiflora* suprimía significativamente el incremento de ansiedad previa a esta sin afectar al nivel de sedación ni a la función hemodinámica y psicomotora del paciente, esto se corrobora con los dos resultados obtenidos por los investigadores en donde se pudo comprobar su efecto ansiolítico y ahora su mínimo o nulo efecto depresor de esta planta

31.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

V. CONCLUSIONES

- ✓ Se determinó el efecto depresor del extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima*, en *Mus musculus* var. *albinus* evaluado por el el test de Irwin
- ✓ El extracto etanólico de *Passiflora tripartita* a las dosis de 100 demostró poseer efecto depresor en *Mus musculus* var. *albinus*.
- ✓ El extracto etanólico de *Passiflora tripartita* a las dosis de 200 mg/Kg demostró poseer efecto depresor en *Mus musculus* var. *albinus*
- ✓ Se determinó que el fármaco diazepam tiene un significativo efecto depresor en comparación con el extracto etanólico de *Passiflora tripartita* en *Mus musculus* var. *albinus* al ser evaluado por la prueba de Irwin

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIQUIMICA

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ambrosiani J. Neuroanatomía. Departamento de Anatomía y Embriología Humana. Universidad de Sevilla. España. 2007.[Internet][Fecha de acceso: 05 de Septiembre del 2018] URL Disponible en: https://personal.us.es/ambrosiani/Neuroanatomia_2007/intro2.htm.
2. Cárdenas O. Biología celular y humana. 1ª ed. Colombia: Digiprint. 2014.p: 222
3. Sherman C. Efectos de las drogas sobre la neurotransmisión. National Institute on Drug Abuse. EE.UU. 2017. [Internet][Fecha de acceso: 05 de Septiembre del 2018] URL Disponible en: <https://www.drugabuse.gov/es/news-events/nidanotes/2017efectos-de-las-drogas-sobre-la-neurotransmisión>
4. Hájos N y col. “Cannabinoids inhibit hippocampal GABAergic transmission and network oscillations”. 12ª. *European Journal of Neuroscience*. 2000. pp:3239–3249.
5. Soriano C y col. Fundamentos de Neurociencia. 1ª ed. México: UOC. 2010.p:277
6. Bozzo G. “Estudio cualitativo del uso de ansiolíticos en pacientes de farmacias comunitarias salcobrand de la ciudad de Valdivia”. Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos para optar al Título de Químico Farmacéutico. Universidad Austral de Chile: 2010.p:10
7. Humbert M y col. Psicofarmacología. Introducción a la psicopatología y la psiquiatría. 4ª ed Barcelona: Masson.2012.
8. Torrent J. Agencia Española del Medicamento. Alertas sobre la seguridad de medicamentos. España. 2000.
9. Muñoz F. Plantas Medicinales y Aromáticas. 1ª ed. España: Mundi-Prensa.2002. pp: 15-16.
10. Riofrio K. Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de taxo (*Passiflora tripartita var. mollissima*) en ratones (*Mus musculus*). [Internet] [Fecha de

acceso: 07 de Septiembre del 2018] URL: Disponible en:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3198/1/56T00436.pdf>

11. Gil J. Efecto del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* (tumbo serrano) en la ansiedad, en *Mus musculus* var. *albinus*.". Informe de tesis tipo I. Universidad Nacional de Trujillo. Perú 2016.
12. Katzung B. Farmacología Básica y Clínica. 11^oed.España:Mc Graw Hill.2010.p:671.
13. Miranda A y col. Perfil Neurofarmacológico de Diazepam.2010.[internet][Fecha de acceso: 09 de septiembre del 2018] URL: Disponible en: <https://es.scribd.com/presentation/348288082/Prac-Farma-2>.
14. Vogel H y col. Safety and Pharmacokinetic Assays. Sprienger-Verlag,Berlin. Heidelberg New York 2006. p:327.
15. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 2^oed. España: Acribia. Zaragoza.2001.
16. Fuentes F y col. Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Raton. Instituto Nacional de Salud 1^oed. Perú:2008.
17. Marín C .CONCYTEC. Informe de Pasantía Post doctoral: Efecto biológico de metabolitos secundarios de *Passiflora tripartita*, *Passiflora incarnata* y *Myrcianthes myrsinoides* en ratones. Universidad de Limoges. Francia.2016.
18. Tobón F. Evaluación del perfil neurofarmacológico del aceite de Ulumoides dermestoides (Coleoptera: Tenebrionidae) Revista Colombiana de Entomología 37^o ed. Colombia. 2011.
19. Cancino G, y col. Manual de prácticas de farmacología y toxicología veterinaria. Universidad de Juárez Autónoma de Tabasco. México 2010.
20. Rejón Y, Placer D, Roland G. Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de Plantas. Univ. Medicina. Bogotá Colombia. 2011.

21. Santiago M. y col. El programa epidat: usos y perspectivas. Rev Panam Salud Pública Vol.27 Brasil. 2010.
22. Rengifo R. Cuantificación de Flavonoides en el Extracto Etanólico de Propóleos Universidad de Trujillo-Trujillo. Perú 2010.
23. Mourenza L. *Passiflora* en el tratamiento de la ansiedad y el insomnio. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid-España 2017.
24. Fernández J. Estudio de los efectos del diazepam sobre la actividad psicomotora en ratones Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. España.2011.
25. Miranda A y col. Perfil neurofarmacológico de Diazepam.2010.[Internet][Fecha de acceso: 12 de Septiembre del 2017] URL Disponible en: <https://es.scribd.com/presentation/348288082/Prac-Farma-2>.
26. Coleta M. Neuropharmacological evaluation of the putative anxiolytic effects of *Passiflora edulis* Sims, its sub-fractions and flavonoid constituents. *Phytother* Vol.12. EEUU.2006.
27. Rea L.y col. Evaluación del efecto ansiolítico del extracto Hidroalcohólico de flor de Badea (*Passiflora Quadrangularis*) En Ratones (*Mus Musculus*).Tesis de grado Bioquímico Farmacéutico.Ecuador.2014.
28. Gutiérrez I y col. Mecanismo celular y molecular de la adicción a benzodiazepinas. *Salud Ment* vol.36 no.4 México. 2013
29. Lorenzo P y col et al. Farmacología básica y clínica. 17ª edición. Madrid: Editorial Medica Panamericana; 2005.
30. Rojas J. Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas. *An Fac med*.Vol 3.Lima 2009.
31. Aslanargun P y col. *Passiflora incarnata* Linneaus as an anxiolytic before spinal anesthesia. *J Anesth* vol.36 no.4 Turkey.2012.

ANEXOS



ANEXO N° 01. Recolección e Identificación de la Droga vegetal

1. Recolección



2. Identificación



ANEXO N° 02. Análisis fitoquímico de la planta

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO - FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
LABORATORIO DE MÉTODOS INSTRUMENTALES**

REGISTRO DE ANÁLISIS FITOQUÍMICO N° _____

Analista Responsable: Elvira Main / Molagros R. Fecha y Hora de Inicio: 18-Enero-2016 10:00 h
 Fecha y Hora de Término: 18-Enero-2016

N°	Código Especie Vegetal	Extracto Diclorometano					Extracto Etanólico					Extracto acuoso																	
		L i b u e n e t n .	D r a M a g n e r f	W a g n e r f	H a g n e r	B o r t e n n e r	C a t e q u i n a s	slo. pp	F B e e h i j e t	F e e h i j e t	B o r t e n n e r	S h e e n n e r	D r a M a g n e r f	W a g n e r f	H a g n e r	B o r t e n n e r	C a t e q u i n a s	slo. pp	M u e s e p c i a m s	F e e h i j e t	R o s e n n e i n	S h e e n n e r	D r a M a g n e r f	W a g n e r	H a g n e r				
1	TRUJILLO	+VO	-	-	-	-	-	-	+VO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+VI	-	+VI	-	-	-	-	-	-	-	-
2	CARILLAGU	+VO	-	-	-	-	-	-	+VO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+VI	-	+VI	-	-	-	-	-	-	-	-
3																													
4																													
5																													
6																													
7																													
8																													
9																													
10																													

Leyenda:
 +++ Alta concentración del metabolito secundario.
 ++ Mediana concentración del metabolito secundario.
 + Baja concentración del metabolito secundario.
 - Ausencia.

coloración:
 B:+ (Presencia: R)
 LB: +(Presencia: R, A, VI,VO,N)
 F: +(Presencia: R)
 CF: +(Presencia:R, VI, A)
 + c

S: (Presencia: A,AN,V,R)
 C: Carmelita?
 S: Alcaloides
 Opatocianina +
 +
 +
 +
 +
 +
 +

VºBº Supervisor Zho Nils Coadi.

Revisión: Febrero 2015 LMI-RE003.1

ANEXO N° 03. Obtención y adaptación de animales de experimentación



ANEXO N° 04. Cálculo de la dosis administrada

1.1 Obtención de la dosis de: Diazepam 10mg/2mL

-Dosis: 1mg /2mL

- \bar{X} de peso animales: 27 g

$$1\text{mg} \text{ ----- } 1000\text{g}$$

$$x \text{ ----- } 27\text{g}$$

$$X = 0.027\text{mg}$$

$$0.027 \text{ mg} \text{ ----- } 1 \text{ ratón}$$

$$x \text{ ----- } 10 \text{ ratones}$$

$$X = 0.27\text{mg}$$

$$10 \text{ mg} \text{ ----- } 2\text{mL}$$

$$0.27\text{mg} \text{ ----- } x$$

$$X = 0.054 \text{ mL de diazepam}$$

-Para 10 ratones se utilizó 0.054 mL de diazepam

-Se Disolvió con 1mL suero fisiológico y se cargó en jeringa de 1ml.

-Se Administró 0.1 mL vía intraperitoneal a cada animal

1.2 Obtención de la dosis de *Passiflora tripartita*.

Passiflora tripartita. 100 mg

-Dosis: 100 mg/kg

- \bar{X} De peso los animales: 27.17 g

$$100 \text{ mg} \text{ ----- } 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ ----- } 27.17 \text{ g}$$

$$X = 2.717 \text{ mg}$$

-Para un ratón se utilizó 2.717 mg de extracto etanolico seco de *Passiflora tripartita*

-Para 10 ratones se utilizó 27.17 mg de extracto etanolico seco de *Passiflora tripartita*

-Se Pasó a un vial y se disolvió con 1mL de suero fisiológico.

-Se Administró 0.1 mL vía intraperitoneal a cada animal

Passiflora tripartita. 200 mg

-Dosis: 200 mg/kg

- \bar{X} De peso de los animales: 27,67 g

$$200 \text{ mg} \text{ ----- } 1000 \text{ g}$$

$$x \text{ ----- } 27.67 \text{ g}$$

$$X = 5.534 \text{ mg}$$

-Para un ratón se utilizó 5.534 mg de extracto etanolico (seco) de *Passiflora tripartita*

-Para 10 ratones se utilizó 55.34 mg de extracto etanolico (seco) de *Passiflora tripartita*

-Se Pasó a un vial y se disolvió con 1mL de suero fisiológico.

-Se Administró 0.1 mL vía intraperitoneal a cada animal.

ANEXO N° 05. Resultados de las pruebas evaluadas según su efecto depresor aplicado a ratones para cada grupo experimental

	Blanco						Diazepam						Passiflora 100 mg						Passiflora 200 mg					
EFEECTO DEPRESOR	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Actividad Locomotora	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	NO	NO	NO	SI	SI	NO	NO	NO
Base de Sustentación	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	SI	SI	NO	SI	NO	SI	NO	NO
Marcha Tambaleante	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	NO	SI	NO	NO	SI	NO	NO	NO	SI	SI	NO	NO	NO	NO	SI	SI
Inmovilidad	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO
Escape	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	NO	SI	NO	SI	NO	NO	SI	NO	SI	SI	NO	SI	NO	NO	SI	SI
Facilidad de manejo	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	SI	NO	SI	NO	NO	SI	NO	SI	SI	NO	SI	NO	SI	NO	NO
Fuerza muscular	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	SI	SI	NO	SI	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO
Cuerda tirante	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	NO	SI	SI	SI	NO	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO
Plano inclinado	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	NO	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	SI
Catatonía	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO
Reflejo nociceptivo	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	SI	NO	SI	NO
Muerte	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO

ANEXO N° 06. Condición para ser considerado efecto depresivo

N° de Pruebas Evaluadas	Efecto	N° de pruebas
12	DEPRESIVO	De 6 a 12 pruebas
	NO DEPRESIVO	De 0 a 5 pruebas

ANEXO N° 07. Cuadro resumen del efecto depresor en pruebas evaluadas

RATON	BLANCO	DIAZEPAM	PASSIFLORA 100mg	PASSIFLORA 200mg
R1	NO	SI	NO	NO
R2	NO	SI	NO	SI
R3	NO	SI	SI	NO
R4	NO	SI	NO	NO
R5	NO	SI	NO	NO
R6	NO	SI	SI	NO

ANEXO N° 08. Pruebas evaluadas

a. Reflejo nociceptivo



b. Base de sustentación



c. Actividad Locomotora



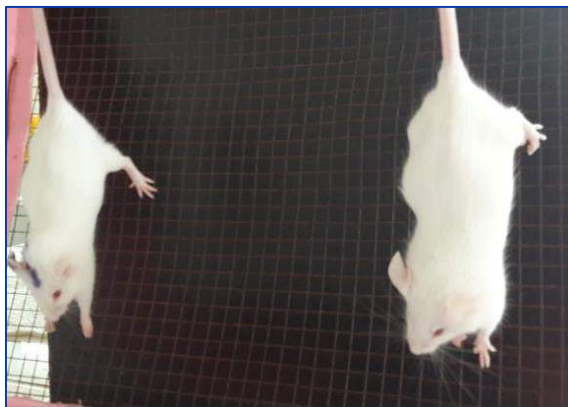
d. Inmovilidad



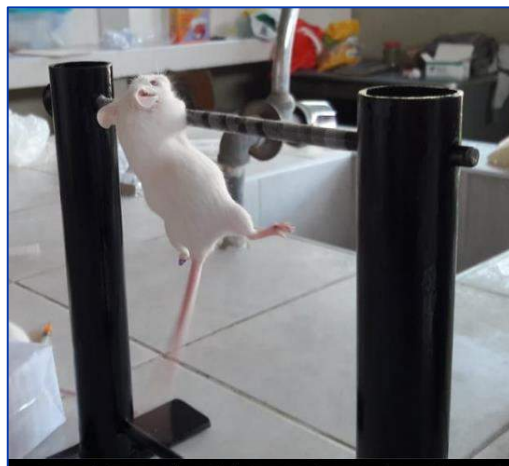
e. Facilidad de manejo



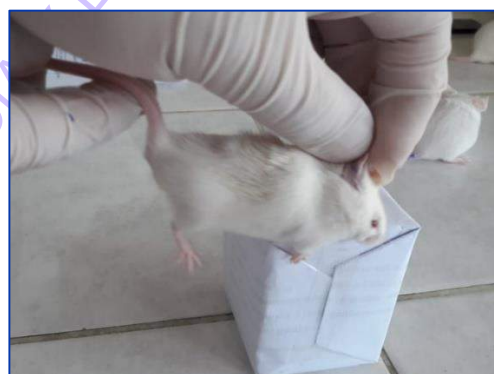
f. Fuerza muscular



g. Cuerda Tirante



h. Catatonia



i. Plano inclinado

