

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



**TESIS I**

“Efecto del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita var. mollissima* en ansiedad de *Mus musculus var. albinus*, evaluada por el método Luz - Oscuridad”

**AUTORES:**

CALDAS ABURTO, Damian Abrahan  
CASTILLO OLIVARES, Emerson Manuel

**ASESORA:**

Dra. MARÍN TELLO, Carmen Luisa

**Trujillo- Perú**

**2018**

## DEDICATORIA

### ***A DIOS***

*Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.*

### ***MIS PADRES Y HERMANOS***

*Quienes me dieron vida, educación, apoyo y consejos. Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.*

Damian Abrahan Caldas Aburto

BIBLIOTECA DE FARMACIA

## **A DIOS NUESTRO GUÍA**

*Gracias Dios por ser nuestro guía y habernos acompañado y poder terminar nuestro informe de investigación, tu eres el camino y la luz para poder salir de las dificultades que hemos tenido en el desarrollo de nuestro informe.*

## **A MIS QUERIDOS PADRES**

*Por guiarme y enseñarme que todo se logra con perseverancia, humildad, por sus consejos y ejemplos de trabajo y amor en familia.*

## **A MI HERMANA**

*Eres mi hermana menor de un corazón grande y te llenas de paciencia, siempre me apoyas y me llenas de alegría mi corazón y mi vida.*

Emerson Manuel Castillo Olivares

## AGRADECIMIENTO

A la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo y sus docentes por el trabajo, dedicación y entrega en la parte académica para formarnos como Q.F. de calidad al servicio de la salud.

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

Se agradece a la Dra. Carmen Luisa Marín Tello por haber sido nuestra guía y habernos brindado su confianza, el respeto, enseñanzas y orientación para el desarrollo de nuestra tesis.

A los señores miembros del jurado del presente informe; Dra. Ana María Guevara Vásquez; Dra. Marilú Roxana Soto Vásquez y Dra. Carmen Luisa Marín Tello por sus correcciones, comentarios y sugerencias para la realización de este trabajo.



## **JURADO DICTAMINADOR**

---

**Dra. Ana María Guevara Vásquez**

**PRESIDENTE**

---

**Dra. Marilú Roxana Soto Vásquez**

**SECRETARIO**

---

**Dra. Carmen Luisa Marín Tello**

**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, sometemos a vuestra honorable consideración y elevado criterio profesional el presente informe final de tesis I:

**Efecto del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* en ansiedad , de *Mus musculus* var. *albinus* , evaluada por el método Luz – Oscuridad.**

Es propicia la oportunidad para manifestar nuestro sincero reconocimiento a nuestra alma mater y toda su plana docente que con su capacidad, buena voluntad y enseñanza que se imparte día a día contribuyen positivamente a nuestra formación profesional.

Dejo a vuestro criterio señores miembros del jurado, invocando su comprensión a los errores que involuntariamente se haya cometido, esperando su veredicto en la calificación del presente informe.

---

Caldas Aburto Damian Abrahan

---

Castillo Olivares Emerson Manuel

Trujillo, abril del 2018

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo serrano) en un modelo de ansiedad, en *Mus musculus* var. *albinus*. Se trabajó con 24 especímenes distribuidos aleatoriamente en 4 grupos a quienes se les administró por vía intraperitoneal (v.i.p): G1: grupo blanco 0.1mL Cloruro de sodio al 0.9%, G2: grupo control dosis de Diazepam 1mg/Kg/pc. G3 y G4: grupos problema dosis de 50 mg/Kg/p.c y 100 mg/Kg/p.c de extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima*, cuya concentración fue de 13 mg de extracto seco/mL. Posteriormente se determinó los niveles de ansiedad usando la prueba de la caja luz-oscuridad o Light/dark transition test for mice. Los resultados mostraron que los animales del grupo G3 y G4 aumentaron notoriamente el número de transiciones, con una media de  $11 \pm 2$  y  $21 \pm 2$  respectivamente, a comparación del G1 que fue de  $2 \pm 1$  con una  $p < 0.05$ , al mismo tiempo los grupos muestran diferencia significativa entre los mismos con una  $p < 0.05$ , mostrando que el G2 presenta mayor efecto con una media de  $33 \pm 2$  con una  $p < 0.05$ . Asimismo se mostró un aumento del tiempo total de permanencia en G3 y G4 con una media de  $70 \pm 8$  y  $113 \pm 8$  respectivamente, a comparación del G1 que fue de  $8 \pm 1$  con una  $p < 0.05$ , los grupos muestran diferencia significativa entre los mismos con un  $p < 0.05$ . Se concluye que la dosis de 50mg/Kg/p.c y 100 mg/Kg/p.c de extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* disminuyen los niveles de ansiedad de manera significativa con una  $p < 0.05$ .

**PALABRAS CLAVES:** *Passiflora tripartita*, Diazepam, ansiolítico, Light/dark transition test for mice.

## ABSTRACT

The objective of this work was to determine the effect of the ethanolic extract of leaves of *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo serrano) in an anxiety model, in *Mus musculus* var. *albinus*. We worked with 24 specimens randomly distributed in 4 groups to whom they were administered intraperitoneally (v.i.p): G1: white group 0.1mL 0.9% sodium chloride, G2: control group dose of Diazepam 1mg / Kg / pc. G3 and G4: problem groups dose of 50 mg / kg / p.c and 100 mg / kg / p.c of ethanolic extract of leaves of *Passiflora tripartita* var. *mollissima*, whose concentration was 13 mg of dry extract / mL. Subsequently, the anxiety levels were determined using the light-dark box test or Light / dark transition test for mice. The results showed that the animals of group G3 and G4 increased notoriously the number of transitions, with a mean of  $11 \pm 2$  and  $21 \pm 2$  respectively, compared to G1 that was  $2 \pm 1$  with a  $p < 0.05$ , at the same time the groups show a significant difference between them with a  $p < 0.05$ , showing that G2 has a greater effect with a mean of  $33 \pm 2$  with a  $p < 0.05$ . Likewise, there was an increase of the total time of stay in G3 and G4 with a mean of  $70 \pm 8$  and  $113 \pm 8$  respectively, compared to G1 that was  $8 \pm 1$  with a  $p < 0.05$ , the groups show significant difference between same with  $p < 0.05$ . It is concluded that the dose of 50mg / Kg / p.c and 100 mg / Kg / p.c of ethanolic extract of the leaves of *Passiflora tripartita* decrease anxiety levels significantly with  $p < 0.05$ .

**KEYWORDS:** *Passiflora tripartita*, Diazepam, anxiolytic, Light / dark transition test for mice.



## ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA -----	i
AGRADECIMIENTO -----	iii
JURADO DICTAMINADOR -----	iv
PRESENTACIÓN -----	v
RESUMEN -----	vi
ABSTRACT -----	vii
I. INTRODUCCIÓN-----	01
II. MATERIAL Y MÉTODO -----	06
III. RESULTADOS -----	13
IV. DISCUSIÓN -----	15
V. CONCLUSIONES -----	19
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	20
ANEXOS-----	24

## I. INTRODUCCIÓN

Toda enfermedad y el mismo hecho de enfermar tienen aspectos psicológicos y sociales que influyen en la aparición, manifestación, curso y pronóstico, por lo que es muy importante tratar de establecer relaciones entre aspectos psicológicos, sociales y biológicos como desencadenantes de una enfermedad, más que una relación única de causa-efecto. Los pacientes experimentan un número importante de reacciones emocionales antes y después de procedimientos médicos, que pueden ser de ansiedad (producida por un miedo al dolor o incertidumbre ante el futuro), o de depresión o problemas de adaptación (según las expectativas que tuviera cada individuo) o de rebeldía (frente a un destino no deseado). Lo más común es que se tenga miedo a lo desconocido, al dolor, a la posibilidad de tener una enfermedad incurable, a la destrucción del cuerpo o a la pérdida de autonomía o miedo a la muerte<sup>1</sup>.

La ansiedad es muy antigua. Sus orígenes filogenéticos se remontan a los del propio reino animal, y los filósofos y pensadores han escrito largo y tendido sobre la importancia capital de la ansiedad para la vida y la experiencia humana. La experiencia de la ansiedad es ubicua y universal, y trasciende épocas y culturas<sup>1</sup>.

Proviene del latín *anxietas*, refiriendo un estado de agitación, inquietud o zozobra del ánimo, y suponiendo una de las sensaciones más frecuentes del ser humano, siendo ésta una emoción complicada y displacentera que se manifiesta mediante una tensión emocional acompañada de un correlato somático. En general, el término ansiedad alude a la combinación de distintas manifestaciones físicas y mentales que no son atribuibles a peligros reales, sino que se manifiestan ya sea en forma de crisis o bien como un estado persistente y difuso, pudiendo llegar al pánico; no obstante, pueden estar presentes otras características neuróticas tales como síntomas obsesivos o histéricos que no dominan el cuadro clínico. Hoy día, los trastornos de ansiedad constituyen el problema psicopatológico de mayor prevalencia en los países de nuestro entorno<sup>2,3</sup>.

Entre 1990 y 2013, el número de personas con depresión o ansiedad ha aumentado en cerca de un 50%, de 416 millones a 615 millones. Cerca de un 10% de la población mundial está afectado, y los trastornos mentales representan un 30% de la carga mundial de enfermedad no mortal. Las emergencias humanitarias y los conflictos aumentan la necesidad de ampliar las opciones terapéuticas. La OMS estima que durante las emergencias 1 de cada 5 personas se ve afectada por la depresión y la ansiedad<sup>4</sup>.

En el Perú 1,2 millones de peruanos sufren de algún trastorno de ansiedad, provocado por un fuerte cuadro de estrés. De acuerdo con los últimos reporte del Ministerio de Salud (MINSA, 2014), esta cifra equivale al 5,9 % de los adultos mayores de 18 años que padecen de algún nivel de angustia por estrés. Es decir, casi el equivalente a toda la población de Ancash. Esto hace de la ansiedad una enfermedad limitante para el desempeño de su vida laboral y familiar<sup>5</sup>.

La ansiedad puede incrementarse con un sentimiento de vergüenza: “los otros se darán cuenta de que estoy nervioso”. La ansiedad afecta a los procesos del pensamiento y del aprendizaje. Tiende a producir confusión y distorsiones de la percepción, no sólo en cuanto al tiempo y al espacio, sino respecto a la gente y al sentido de los diferentes sucesos. Estas distorsiones pueden interferir con el aprendizaje, con la concentración, la memoria y la capacidad de hacer asociaciones. Siempre que se sospeche de un trastorno de ansiedad deben descartarse otras enfermedades médicas como las alteraciones de la tiroides, de la glicemia (azúcar en la sangre), del oído, del cerebro, del corazón y de la respiración, principalmente. Se diagnostica ansiedad generalizada cuando predominan una ansiedad o preocupación excesivas, persistentes y relacionadas con situaciones que se viven cotidianamente<sup>6</sup>.

Tal vez el problema central en el abordaje clínico de los trastornos de ansiedad sea el encontrar un modelo teórico comprehensivo y una metodología de investigación rigurosa que permita conectar el estudio de la ansiedad patológica con el estudio experimental de los procesos emocionales y afectivos normales. Sin duda, los avances en la investigación reciente sobre la emoción, fundamentalmente desde las perspectivas psicobiológica y psicofisiológica, están abriendo nuevas vías de comprensión de los mecanismos que subyacen a los procesos emocionales normales y patológicos, incluyendo los trastornos de ansiedad, necesarios para orientar las intervenciones clínicas<sup>2,3</sup>.

Las Benzodiazepinas (BZD) son los psicofármacos más prescritos. Surgieron en la década de los 60 como medicamentos más eficaces y con mejor perfil de seguridad que sus antecesores, los barbitúricos. Con las BZD pareció iniciarse (y de hecho lo fue) una nueva era en relación a los barbitúricos. Las BZD comenzaron a usarse ampliamente por presentar un mejor perfil de seguridad, y fueron los primeros medicamentos en establecer una brecha cualitativa entre su efecto ansiolítico e hipnosedante, base para posteriores avances terapéuticos<sup>7,8</sup>.

El uso y prescripción de las BZD se ha relacionado con un alto riesgo de abuso y dependencia debido a su manejo inadecuado ya que, aun administradas regularmente a niveles terapéuticos, poseen un

potencial de dependencia mayor que otros fármacos de acción ansiolítica. Es un trastorno conductual en el cual, como resultado de los efectos biológicos de una determinada sustancia, una persona tiene disminuido el control sobre el consumo de esta. Los psicofármacos, usados para tratar los problemas mentales, son los más susceptibles de causar farmacodependencia. Las benzodiazepinas (BZD) son usadas en la práctica médica y estomatológica como terapia para la ansiedad, el insomnio y otros estados afectivos. Los individuos que abusan de drogas estimulantes se administran con frecuencia este medicamento para calmar su estado anímico. Los datos sobre la prevalencia de su consumo muestran variabilidad entre los países, en general reflejan una tasa elevada de consumo. Por ejemplo, en el último año, en los países occidentales, entre 10 y 20% de la población reconoce el consumo de BZD y entre 1 y 3% las ha consumido diariamente por más de un año<sup>9</sup>.

El uso terapéutico de plantas medicinales, como sustitutas de las medicinas farmacéuticas, se aplica desde la antigüedad para curar o aliviar las enfermedades, dando lugar a los fitofármacos, y es apreciada por su costo bajo y por los reducidos índices de toxicidad, en comparación con los productos de síntesis<sup>10</sup>.

En la actualidad existe gran interés por la medicina tradicional y, dentro de esta, la medicina herbaria, que ha generado numerosos estudios, divulgados en prestigiosas publicaciones. Pero, hay poco uso de medicamentos de origen vegetal por parte de los profesionales de la salud; sus tratamientos están basados únicamente en fármacos sintéticos, incluso, en el tratamiento de problemas de salud diagnosticados como enfermedad leve<sup>10</sup>.

*Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo serrano), es una planta con origen del continente Americano, se distribuye en zonas frías de los Andes de Sur América. El taxo se produce en Colombia, Venezuela, Bolivia y Perú. Se ha convertido en una de las frutas tropicales más apreciadas. La variabilidad genética en esta especie es muy alta, por lo que se encuentra una gran heterogeneidad de plantas y frutas<sup>9</sup>.

Planta tipo enredadera, pubescente, con tricomas rectos u ondulados, amarillo verdoso o incoloros, con promedio de 40cm de largo, raíces son superficiales y muy ramificadas, tallos cilindricos, estriados del color gris<sup>11</sup>.

Las hojas son alternas, presentan dos formas, trilobuladas o enteras, pubescentes o glabras, ovadas u oblongas, de bordes aserrados, su textura va de coriáceas a membranosas, el tamaño puede variar de pequeñas a grandes; su longitud va de 7 a 10 cms de largo y de 6 a 12 cm de ancho. La flor presenta una bráctea cilíndrica de color verde, veloso por fuera y con tres lóbulos. El cáliz es

tubuloso, glabro exteriormente, de unos 8 cm de longitud, blanquísimo por dentro y verde exteriormente, la porción libre es oblonga, verde, con los bordes rojizos y una línea saliente en el envés que termina debajo del ápice de un pequeño filamento. Los pétalos son rojos, oblongos, con el ápice obtuso, cinco estambres soldados en casi toda su longitud, anteras oblongas, cremas, con polen amarillo, ovario verde, oblongo, tomentoso, tres estilos amarillos crema y tres estigmas verdes<sup>12</sup>.

La parte de la planta del género *Passiflora* que contiene los principios activos que ejercen el efecto ansiolítico es la parte aérea. Las flores contienen trazas de alcaloides indólicos (harmano), derivados flavónicos (quercetol, luteolol), flavonoides (crisina, vitexina,) cumarinas, ácidos fenólicos y aceites esenciales. Los compuestos que supuestamente tienen la responsabilidad de la actividad ansiolítica son alcaloides indólicos (harmano) y el flavonoide (crisina). La crisina es un flavonoide que se encuentra en la familia Passifloracea. En la medicina tradicional estas plantas se han usado como sedantes y ansiolíticos naturales<sup>11</sup>.

La ansiedad ha sido estudiada extensamente en modelos animales y existen más de treinta utilizados. Algunos recurren a respuestas condicionadas y otros modelos utilizan respuestas más naturales de la especie por lo cual son considerados modelos etológicos o de respuestas no condicionadas. Las primeras requieren necesariamente del entrenamiento exhaustivo de los animales, que son expuestos a estímulos no habituales para determinar efectos sobre la memoria/ aprendizaje, el apetito o la función perceptual. Por el contrario, las pruebas no condicionadas no requieren de entrenamiento, por lo que son menos sensibles a procesos motivacionales y se basan en respuestas espontáneas de la conducta del ratón; éstas han permitido el desarrollo de una serie de paradigmas basados en la observación de una variedad de conductas del roedor y la mayoría de los procedimientos conductuales para el estudio farmacológico de la ansiedad se basan en este tipo de pruebas. Entre las pruebas de mayor uso se encuentran: la de campo abierto, del laberinto elevado, de la caja luz/oscuridad, de choque/enterramiento, de enterramiento de canicas y del plataforma agujereada. Estas pruebas no requieren de un alto costo económico para su implementación y están al alcance de cualquier laboratorio universitario de investigación<sup>15, 16</sup>.

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

¿Cuál es el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* en la ansiedad de *Mus musculus* var *albinus* al ser evaluada por el método de “luz oscuridad”?

### **Hipótesis**

Se formuló la siguiente hipótesis:

El extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* posee efecto ansiolítico en *Mus musculus* var *albinus* al ser evaluada por el método de “luz oscuridad”

### **Objetivos:**

#### General

- Determinar el efecto del extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* en la ansiedad en *Mus musculus* var. *albinus* evaluada por el método de “luz-oscuridad”

#### Específico

- Evaluar el efecto del extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* a la dosis de 50 y 100 mg/kg en la ansiedad de *Mus musculus* var. *albinus*.
- Comparar el efecto del extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* y de Diazepam en ansiedad de *Mus musculus* var. *albinus*.

## II. MATERIAL Y MÉTODO

### 2.1. MATERIAL:

#### 2.1.1 Material botánico:

El material botánico se encuentra dentro del grupo de plantas estudiadas por el PIC 2013 financiado por el Fondo Canon Minero “Etnobotánica, taxonomía, farmacología, fitoquímica y valorización de plantas con aplicación biomédica de Cachicadán La Libertad”. Se recolectó en una de las actividades programadas para este fin en el cerro Botica de Cachicadán.

#### 2.1.2 Material biológico:

24 animales de experimentación *Mus musculus* var. *albinus*, machos, adultos, sanos, con un peso corporal promedio de 20 a 30 g, procedentes del bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo-La Libertad.

Todos los animales fueron sometidos a un mismo tipo de alimentación. En todo momento se siguió los Principios Éticos Internacionales para Investigación Biomédica con Animales recomendados por CIOMS.

CIOMS es una organización científica (internacional y no gubernamental) establecida por la Unesco y la OMS en 1949<sup>17</sup>.

#### 2.1.3 Material de Laboratorio:

- El de uso común en el laboratorio
- Algodón
- Agujas N° 23
- Jeringas descartables de 1 y 5 mL
- Placas petri
- Jaula para ratones

#### **2.1.4 Material químico y/o farmacológico:**

- Diazepam en ampolla 10mg/2ml .MEDIFARMA. Lote : 1050345
- Cloruro de sodio al 0.9%

#### **2.1.5 Instrumentos y equipos de laboratorio:**

- Rotavapor " HEIDOLPH"
- Estufa de laboratorio "MEMMERT"
- Balanza de plástico "CAMRY"
- Caja de melamine (46X27X30 cm de alto)
- Cámara digital "CANON"

#### **2.1.6 Reactivos:**

- Violeta de genciana BREMER. Lote: 125-22014
- Etanol 96° G.L. MIFARMA. Lote: R1070606
- Agua destilada. LABOT. Lote: 140542

## **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 en el mes de enero del 2016, desde las 9:00 am a 3:00 pm. En las laderas del cerro Botica del distrito de Cachicadán. Provincia de Santiago de Chuco; con coordenadas de latitud sur 8° 5'28,75" y latitud oeste 78° 8' 32,68", con altitud de 3080 m.s.n.m.

Luego se identificó en el Herbario Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo confirmando que si era *Passiflora tripartita* var. *mollisima*. Asignándole el código de registro: 58465



**b. Tratamiento de la planta<sup>18</sup>.**

Las hojas fueron seleccionadas, luego secado a temperatura ambiente 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 y se almacenará en un recipiente color ámbar.

**2.2.1.2 Elaboración del extracto y análisis fitoquímico de la planta:**

**a. Elaboración del extracto etanólico<sup>5</sup>.**

Se realizó una maceración de 97g de muestra seca pulverizada con 2L de etanol al 45 % por 7 días a temperatura ambiente agitándose ocasionalmente.

Luego la muestra se llevó a un tratamiento con rota evaporador para eliminar el solvente (alcohol) y se obtuvo un extracto blando más concentrado. Se distribuyó 20 ml del extracto en la placa Petri que posteriormente se llevó a estufa a 37° C durante 48 horas para eliminar la humedad restante, obteniéndose un peso de 260 mg de extracto seco, el cual se almacenó en las mismas placas en un ambiente estéril, oscuro y seco para su conservación. La concentración fue de 13 mg de extracto seco/mL.

**b. Análisis fitoquímico:**

El análisis fitoquímico fue realizado en el laboratorio de métodos instrumentales de la facultad de Ingeniería química de la Universidad Nacional de Trujillo, financiado por el canon minero denominado “Etnobotánica, taxonomía, farmacología, fitoquímica y valorización de plantas con aplicación biomédica de Cachicadán. La Libertad “

Universidad Nacional de Tujillo.PIC: 320213201. (ANEXO 06)

**2.2.1.3 Administración Vía intraperitoneal <sup>5,19</sup>:**

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

Se trabajó con la dosis de 100 mg/ kg *Passiflora*, el grupo seleccionado de ratones tuvo un peso promedio de  $x=23.1$  g, p.c. Se utilizó la regla de tres simple (se multiplicó x 100 mg/ kg de la dosis a emplear y se dividió entre los 1000g de peso corporal estándar). La cantidad resultante es la dosis perteneciente a un ratón, se calculó para 10 ratones,

esta cantidad en mg se pesó del extracto etanólico seco y se vació en un vial, luego se agregó 2 gotas de etanol al 45% y 1 ml de suero fisiológico, se agitó y finalmente se cargó en una jeringa de 1ml del cual se aplicó 0.1 mL de extracto v.i.p a cada espécimen. Se trabajó con la dosis de 50 mg/ kg *Passiflora*, el grupo seleccionado de ratones tuvo un peso promedio  $x = 22.8$  g, p.c. Se utilizó la regla de tres simple (se multiplicó x 100 mg/ kg de la dosis a emplear y se dividió entre los 1000g de peso corporal estándar). La cantidad resultante es la dosis perteneciente a un ratón, se calculó para 10 ratones, esta cantidad saliente en mg. se pesó del extracto etanólico seco y se vació en un vial, luego se agregó 2 gotas de etanol al 45% y 1 ml de suero, se agitó y finalmente se cargó en una jeringa de 1ml del cual se aplicó 0.1 mL de extracto v.i.p.

**b. Cálculo y preparación de la dosis de Diazepam:**

Se trabajó con la dosis de 1mg/kg Diazepam, el grupo seleccionado de ratones tuvo un peso promedio  $x = 22.3$  g p.c. Se utilizó la regla de tres simple (se multiplicó por 1mg de la dosis a emplear y se dividió entre los 1000g de peso corporal estándar). La cantidad resultante es la dosis de un ratón, se calculó para 10, el resultado nuevamente se llevó a regla de tres simple: se multiplicó por 2 ml y se dividió entre 10 mg (diazepam 10 mg/2ml), la cantidad resultante se midió en una jeringa y el resto se completó 1ml con suero fisiológico, del cual se aplicó 0.1 mL de esta solución v.ip.

**2.2.1.4. Valoración de la ansiedad<sup>20</sup>:**

El aparato utilizado consistió en una caja rectangular abierta por la parte superior (46X27X30 cm de alto) dividido en un área pequeña (18X27 cm) y una grande (27X27 cm), con una puerta de apertura (7.5 a 7.5 cm) situado en el centro de la partición a nivel del suelo. Los ratones se alojaron de seis en seis por jaula con acceso a comida y agua. Por separado G1: grupo blanco, G2: grupo control Diazepam, G3 y G4: grupo *Passiflora* de 50 mg/Kg/p.c y 100 mg/Kg/p.c. respectivamente. Las pruebas conductuales se realizó entre las 9:00 de la mañana y 6:00 p.m. Todas las jaulas conteniendo los ratones se llevaron a la sala de pruebas de comportamiento.

El compartimento pequeño de color negro e iluminado por una tenue luz roja 60 W, mientras que el compartimento grande de color blanco y brillante con un sistema de iluminación de 100 W fuente de luz. Los ratones se colocaron en el compartimento

oscuro, permitiendo que se muevan libremente entre los dos compartimentos con la puerta abierta durante 5 minutos.

En el presente experimento determinamos:

- Número de transiciones: Que es el paso del compartimento oscuro al blanco y viceversa.
- El tiempo total de permanencia

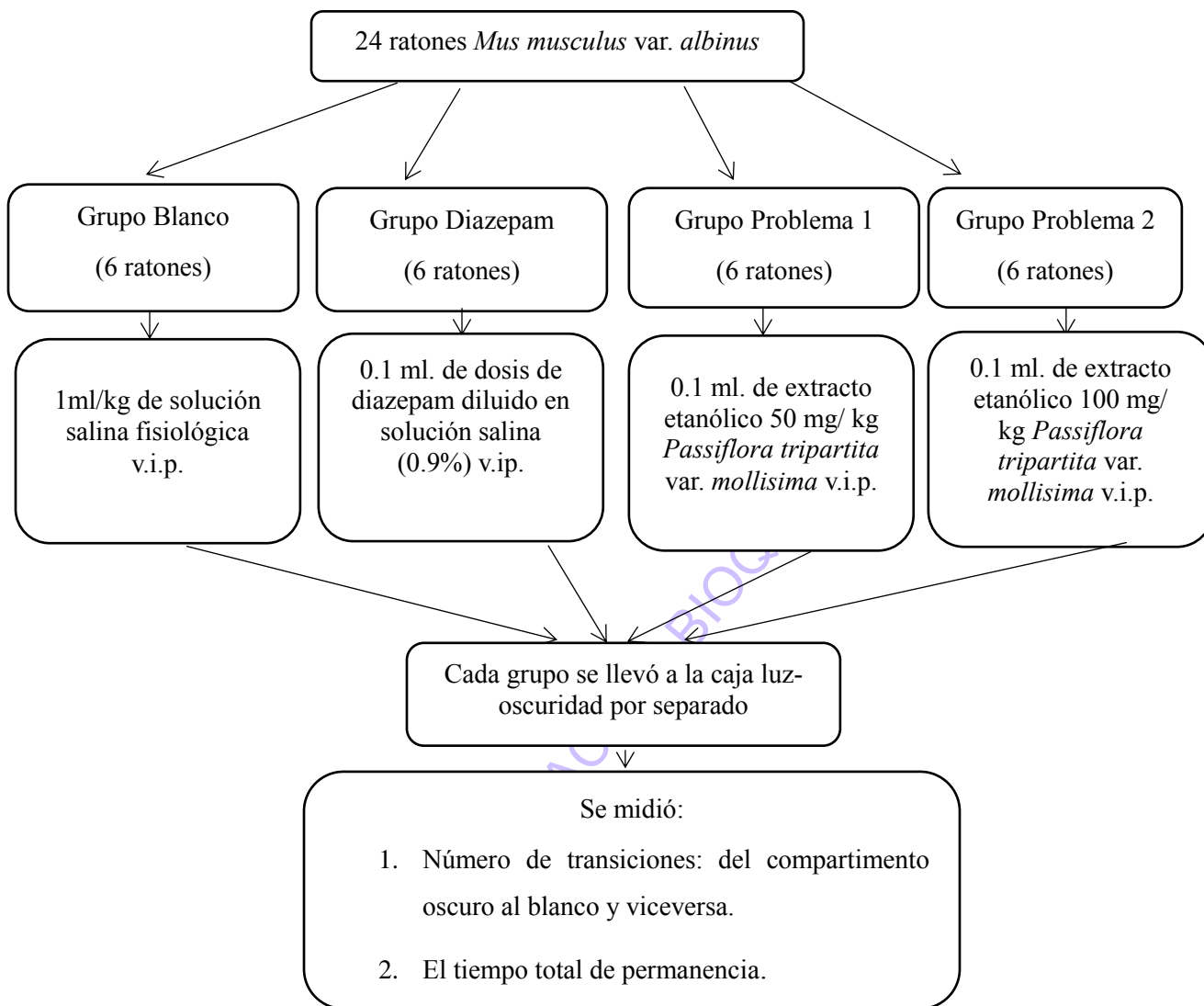
Se registró estos datos mediante una cámara digital.

Después de cada ensayo, todos los compartimentos se limpiaron con alcohol de 96° para evitar un sesgo basado en señales olfativas.

#### **2.2.1.5. Número de transiciones y tiempo total de permanencia <sup>21</sup>:**

La prueba de exploración de luz y oscuridad se basa en la aversión innata de roedores a lugares con luz brillante. Durante una sesión de 5 minutos, se permitió a los animales explorar libremente un nuevo ambiente compuesto de dos compartimentos diferentes: protegido (oscuro) y desprotegido (iluminado).

El incremento en el número de transiciones entre el compartimento oscuro y brillante, y el aumento en el tiempo de permanencia en el lado iluminado, se consideró como un indicativo de la reducción de la ansiedad. Aunque los roedores pueden explorar con libertad ambos compartimentos, muestran una clara preferencia a permanecer en el lado oscuro. Los agentes ansiolíticos, incrementan la exploración del área iluminada, así como las transiciones entre ambos compartimientos.



#### 2.2.1.6. Instrumentos de Recolección de datos

##### a. Observación analítica

La observación del comportamiento se grabó con cámara digital, y se realizó un análisis minucioso del comportamiento del animal en los dos parámetros seleccionados: el tiempo total de permanencia y el número de transiciones.

##### b. Dispositivos mecánicos

Videocámara: mediante este dispositivo se grabó la actuación e incidencias del espécimen al someterlo al experimento.

### 2.2.1.7 Fase de procesamiento de datos

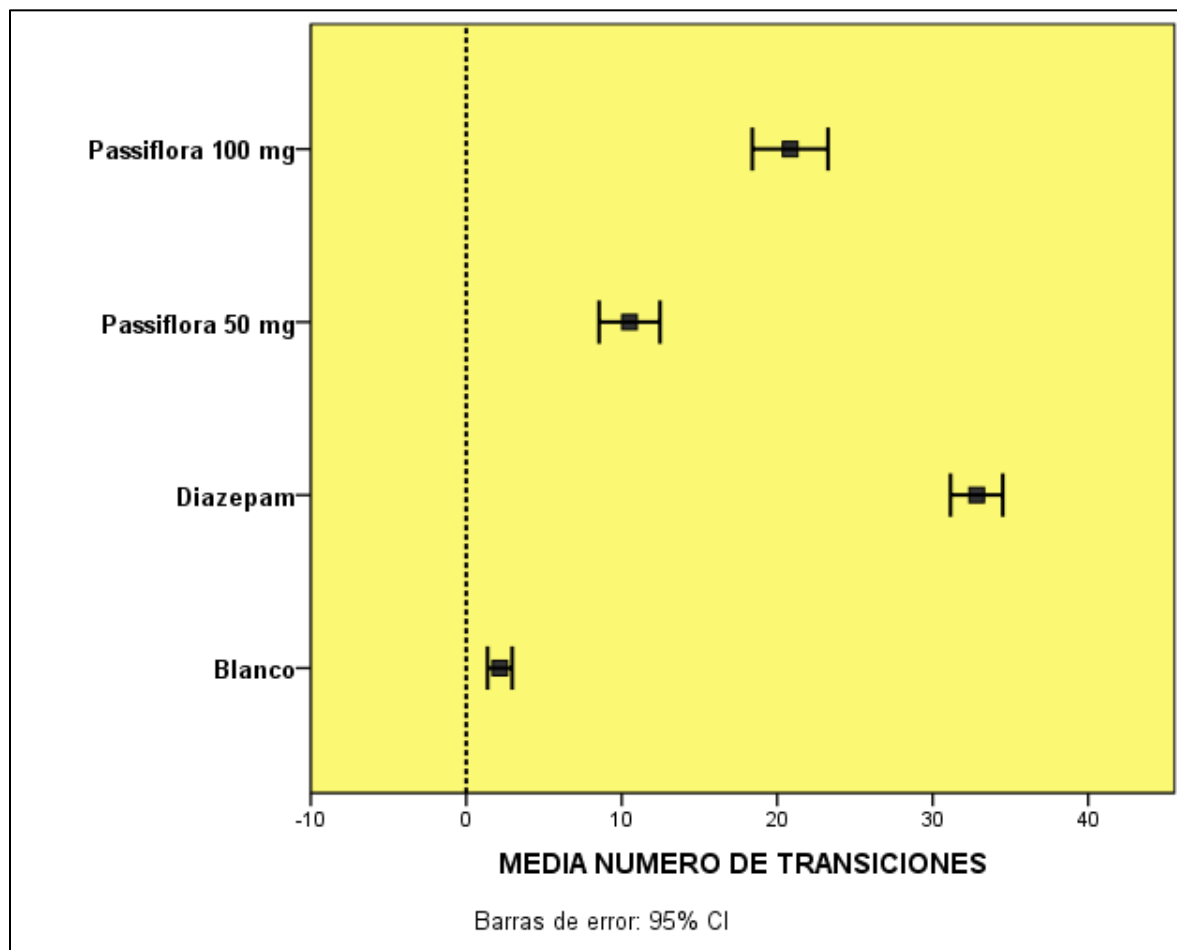
#### **Método estadístico**

Con los resultados obtenidos, del Test para la evaluación de actividad ansiolítica, se procedió al análisis estadístico utilizando el análisis de varianza ANOVA un factor con datos agrupados, con el objetivo de encontrar diferencias estadísticas entre los grupos experimentales y el control, después se realizó la prueba de comparaciones múltiples a un intervalo de confianza del 95% empleando la prueba de Tuckey HSD, lo que permitió evaluar que grupos son similares y diferentes con respecto a los tratamientos y evaluar si existe o no actividad ansiolítica de la planta en estudio, y si resulta ser igual o no al medicamento de control.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

### III. RESULTADOS

**GRÁFICO 1: COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS EN RELACIÓN AL NÚMERO DE TRANSICIONES**

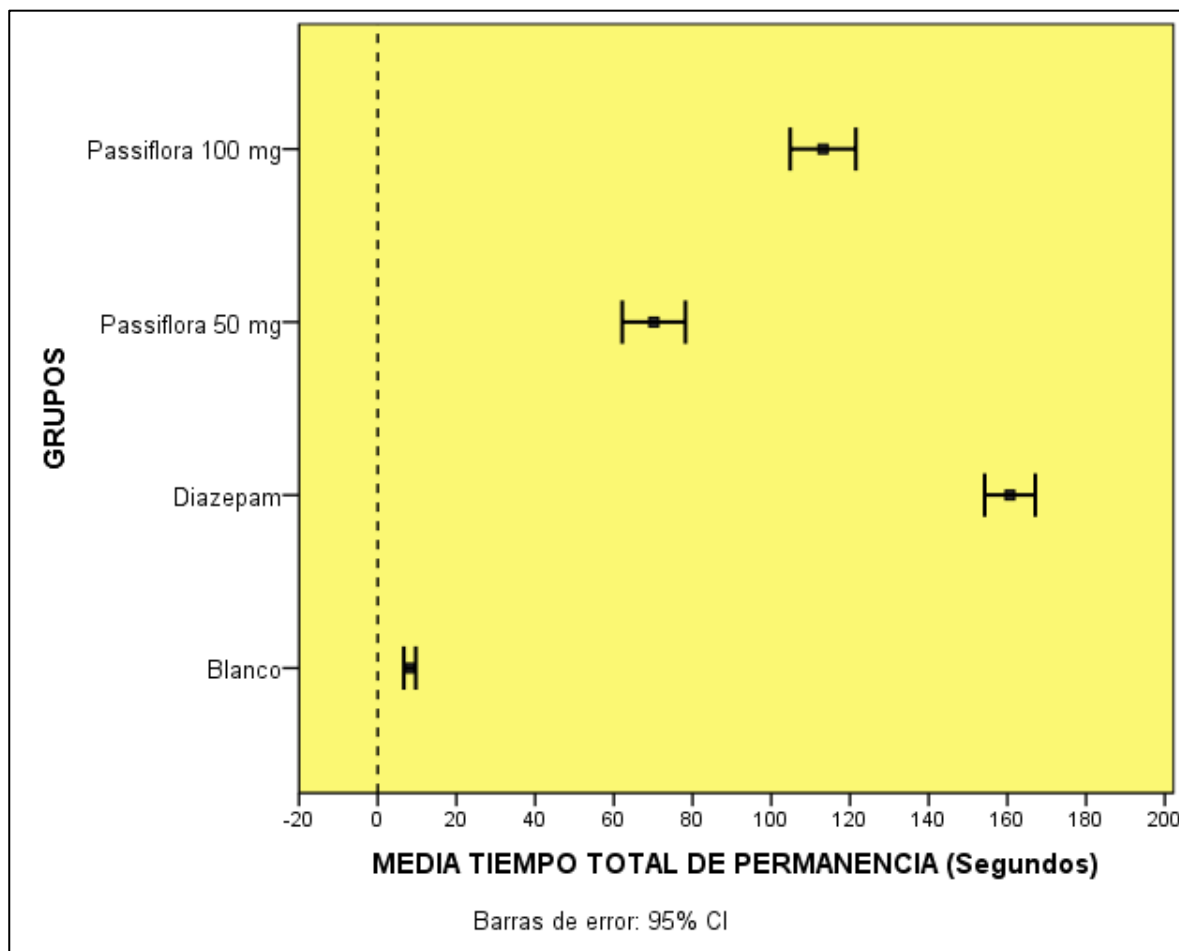


Interpretación: Al menos un grupo es diferente ( $p < 0.05$ )

Interpretación post hoc: los grupos diazepam, *Passiflora* 50 mg y *Passiflora* 100 mg aumentan el número de transiciones significativamente ( $p < 0.05$ ) en relación al grupo Blanco, al mismo tiempo los grupos muestran diferencia significativa entre los mismos, mostrando que el Diazepam presenta mayor efecto.

Se trabajó con 6 especímenes *Mus musculus* var. *albinus* por grupo: cloruro de sodio 0.9% diazepam, *Passiflora* 50 mg y *Passiflora* 100 mg.

## GRÁFICO 2: COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS EN RELACIÓN AL TIEMPO TOTAL DE PERMANENCIA



Interpretación: Al menos un grupo es diferente ( $p < 0.05$ )

Interpretación post hoc: los grupos diazepam, *Passiflora* 50 mg y *Passiflora* 100 mg aumentan el tiempo total de permanencia significativamente ( $p < 0.05$ ) en relación al grupo Blanco, al mismo tiempo los grupos muestran diferencia significativa entre los mismos, mostrando que el Diazepam presenta mayor efecto.

Se trabajó con 6 especímenes *Mus musculus* var. *albinus* por grupo: cloruro de sodio 0.9% diazepam, *Passiflora* 50 mg y *Passiflora* 100 mg.

#### IV. DISCUSIÓN

La presente investigación evaluó el efecto del extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima*, a dosis de 50mg/kg y 100mg/kg con el modelo de luz-oscuridad en ratones, el cual es un modelo no condicionado que analiza la parte conductual a distintas dosis de los extractos que fueron comparadas con el diazepam (medicamento ansiolítico controlado).

En el gráfico N°1 Se observó que el grupo diazepam aumentó de manera significativa el número total de transiciones de compartimento iluminado a oscuro ( $p < 0.005$ ) en ratones con respecto al grupo blanco, verificándose el efecto ansiolítico del fármaco lo cual concuerda con lo encontrado por Crawley y Goodwin. El test de luz-oscuridad, también denominado blanco-negro, fue ideado originariamente por Crawley y Goodwin, desde entonces se han introducido algunas variaciones, tanto estructurales, de diseño, como nuevos parámetros conductuales a evaluar. El principio etológico en el que se basa esta prueba es que los roedores, por ser animales nocturnos y predadores presentan una aversión natural a la luz, con lo que normalmente pasarán más tiempo en el compartimento oscuro que en el iluminado. Por otra parte, su motivación exploratoria los lleva a intentar conocer el medio no familiar al que son expuestos, lo cual hace que el animal transite de un compartimento a otro<sup>22</sup>.

Roman E. describe que, al parecer, las hembras tienen la tendencia natural a explorar y a moverse con mayor libertad en espacios nuevos en comparación con los machos, razón por la cual las hembras presentan perfiles comportamentales menos asociados a ansiedad. Adicionalmente, para los machos los espacios abiertos y nuevos resultan más aversivos que para las hembras<sup>23</sup>.

Para obtener una mejor comprensión en cuanto a si determinada variable de comportamiento puede estar relacionado con "rasgo" o "estado" de ansiedad. Muchos estudios con animales utilizando cepas puras han informado las diferencias en ansiedad relacionada con el comportamiento, lo que sugiere que los factores genéticos podrían estar asociados con fenotipos ansiosos. Recientemente hemos informado de las diferencias de comportamiento en el test luz-oscuridad estudiando dos cepas puras de ratones: C57BL/6ByJ (B6) y SPA / Le (ABP), observando que el SPA está ansioso en comparación con B6. Los ratones B6 han sido a menudo utilizado por los científicos en la conducta y los estudios farmacológicos, pero no hay suficiente conocimiento de la cepa SPA<sup>24</sup>.



En el resultado de extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* en dosis de 50mL/kg (G3). Se observa que aumenta el número total de transiciones ( $p < 0.005$ ) con respecto al grupo blanco (G1), pero al comparar con el fármaco diazepam (G2) se logró observar que su efecto ansiolítico es menor, al igual que el grupo pasiflora a 100mL/kg (G4).

Los resultados obtenidos con ambas dosis de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* demuestran el poder ansiolítico que posee esta planta esto se puede observar en el promedio aritmético y su desviación estándar de tiempo total de permanencia (segundos) tanto del grupo blanco (G1) que fue de 2 segundos con una desviación estándar 1. El grupo diazepam (G2) que fue de 33 segundos con una desviación estándar 2. El grupo *Passiflora tripartita* var. *mollissima* 50mg/Kg (G3) que fue de 11 segundos con una desviación estándar de 2 y finalmente el grupo pasiflora 100 mg/Kg (G4) que fue de 21 segundos con una desviación estándar de 2.

Lo cual concuerda con lo encontrado por Gil Velásquez, el cual evaluó el efecto del extracto etanólico de *Passiflora tripartita*, a dosis de 200mg/kg y 100mg/kg, con el modelo de Marble burying, que es un modelo no condicionado que analiza la parte conductual en ratones, disminuyendo significativamente la ansiedad con una  $p < 0.05$  en *Mus musculus* var. *albinus*<sup>5</sup>.

Los grupos diazepam, *Passiflora* 50 mg y *Passiflora* 100 mg aumentan el número total de transiciones significativamente ( $p < 0.05$ ) con un nivel de confianza del 95% en relación al grupo Blanco, al mismo tiempo los grupos muestran diferencia significativa entre los mismos, mostrando que el Diazepam presenta mayor efecto.

En el gráfico N°2 Se observó que el grupo diazepam aumentó de manera significativa el tiempo de permanencia en el compartimento iluminado ( $p < 0.005$ ) en ratones con respecto al grupo blanco, verificándose el efecto ansiolítico del fármaco lo cual concuerda con lo encontrado por Nymphaea alba Linn. En ratones como modelos experimentales de ansiedad; La prueba se basa en la aversión natural de los ratones a las zonas de iluminación brillante y en su comportamiento exploratorio espontáneo en entornos novedosos, en el cual encontramos que el grupo diazepam aumentó significativamente el tiempo que pasó en la caja de luz en comparación con el grupo tratado con el vehículo<sup>25</sup>.

Este resultado probable es debido a la acción farmacológica que llevan a cabo las BZD depende del tipo de subunidad  $\alpha$  que contenga el receptor GABA<sub>A</sub>. El sitio receptor a benzodiazepinas 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 cerebelo. 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. La localización de las subunidades  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\alpha 3$  son principalmente sinápticas, mientras que la subunidad  $\alpha 5$  (relacionada también con el efecto relajante muscular) tiene una localización predominantemente extrasináptica<sup>26</sup>.

En el resultado de extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* en dosis de 100mL/kg se observó que aumento de manera significativa el tiempo de permanencia en el compartimento iluminado ( $p < 0.005$ ) en ratones con respecto al grupo blanco. Esto se debe al flavonoide crisina, el cual es reconocido en varios estudios en la actualidad, que poseen afinidad por el receptor GABA, por lo tanto armonizan la actividad de los canales de Cl<sup>-</sup> en las neuronas ejerciendo efectos ansiolíticos. Algunos estudios también dan a conocer que este flavonoide, a diferencia del Diazepam, no produce efectos amnésicos sobre la ganancia o detención de tres diferentes conductas aprendidas en las ratas, incluso en dosis altas<sup>11</sup>.

En el resultado de extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* en dosis de 50mL/kg. Se observa que aumenta el tiempo de permanencia ( $p < 0.005$ ) con respecto al grupo blanco (G1), pero al comparar con el fármaco diazepam (G2) se logró observar que su efecto ansiolítico es menor.

Al compararlo con la dosis del fármaco diazepam (G2) se logró observar que la *Passiflora* a 100mL/kg (G4) tuvo un menor resultado esto se debe a que la concentración de la *Passiflora* a 100mL/kg es muy baja y produce que todos los compuesto crisinano tengan una mayor actividad con sus receptores notándose un menor efecto ansiolítico.

Los resultados obtenidos con ambas dosis de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* demuestran el poder ansiolítico que posee esta planta, esto se puede observar en su valor p que fue de  $1.84 \times 10^{-17}$ . Los grupos diazepam, *Passiflora* 50 mg y *Passiflora* 100 mg aumentan el tiempo de permanencia significativamente ( $p < 0.05$ ) con un nivel de confianza del 95% en relación al grupo Blanco, al mismo tiempo los grupos muestran diferencia significativa entre los mismos, mostrando

que el Diazepam presenta mayor efecto.

German L, valúa el efecto ansiolítico de los tratamientos sobre la ansiedad experimental en las ratas macho utilizamos como herramienta el laberinto de brazos elevados, el cual es un modelo animal para evaluar sustancias con potencial ansiolítico o ansiogénico encontrando que la dosis aguda de crisina 1 mg/Kg ejerce un efecto ansiolítico semejante a lo que ocurre con el diazepam, un ansiolítico clínicamente eficaz. El efecto ansiolítico es debido a la afinidad de la crisina por los receptores GABA<sub>A</sub>.<sup>13</sup>

El flavonoide crisina, administrado por vía intraperitoneal a ratones, ejerce un efecto tipo ansiolítico mediante acciones sobre el sitio de reconocimiento de las benzodiazepinas, puesto que el pretratamiento con el antagonista de este sitio, el Ro 15-1788 (flumazenil), cancela el efecto ansiolítico de la crisina. El flavonoide tiene una menor afinidad sobre el receptor GABA<sub>A</sub> que el propio diazepam, pero que mantiene su acción ansiolítica sin los efectos indeseables de las benzodiazepinas.<sup>14</sup>

La administración de crisina (0.5µg/0.3µl) en ratas con declive hormonal (ovariectomizadas) implantadas en el hipocampo, reproduce el efecto ansiolítico observado en metaestro-diestro, lo que confirma la relación entre las concentraciones hormonales y los efectos ansiolíticos del flavonoide.<sup>14</sup>

## V. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* presenta efecto ansiolítico, en *Mus musculus* var. *albinus* evaluado por el método luz-oscuridad.
- El extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* a la dosis de 100 mg/kg presenta mayor efecto ansiolítico en comparación a la dosis 50 mg/kg en *Mus musculus* var. *albinus* evaluado por el método luz-oscuridad.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. López M. Ansiedad y depresión, reacciones emocionales frente a la enfermedad. An Med Interna [Internet]. 2007 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 24(5): 209-211. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-71992007000500001](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992007000500001)
2. Sierra J. Ansiedad, angustia y estrés: tres conceptos a diferenciar. Revista Mal-estar E Subjetividade [Internet]. 2003 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 3(1): 10-59. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/271/27130102.pdf>
3. Viedma M. Mecanismos Psicofisiológicos de la Ansiedad Patológica: Implicaciones Clínicas. [Tesis Doctoral]. Universidad de Granada: Editorial de la Universidad de Granada; 2008. Fecha de acceso: [10 de Junio 2017]. Disponible en: <http://hera.ugr.es/tesisugr/17626791.pdf>
4. Chan, M. La inversión en el tratamiento de la depresión y la ansiedad tiene un rendimiento del 400%. Organización Mundial de la Salud; 2016. [Fecha de acceso de Junio del 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/es/>
5. Gil J. “Efecto del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* (tumbo serrano) en la ansiedad, en *Mus musculus var. albinus*”. [Tesis]. Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica de Trujillo; 2016. [Fecha de acceso de Junio del 2017]. Disponible en: <http://dspace.uni-tru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5848/Gil%20Velasquez%20Jen-ner%20Omar%202016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Montelongo R, Lara A, Morales G, Villaseñor S. Los Trastornos de Ansiedad. Revista Digital Universitaria [Internet]. 2005 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 6(11): 1-11. Disponible en: [http://www.revista.unam.mx/vol.6/num11/art109/nov\\_art109.pdf](http://www.revista.unam.mx/vol.6/num11/art109/nov_art109.pdf)
7. Danza A, Cristiani F, Tamosiunas G. Riesgos Asociados al Uso de Benzodiazepinas. Arch Med interna [Internet]. 2009 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 31(4): 103-107. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/ami/v31n4/v31n4a05.pdf>
8. Riquelme P. “Uso de benzodiazepinas y su relación con la incidencia de reacciones adversas en pacientes adultos mayores de tratamiento crónico ambulatorio en establecimientos dependientes del servicio de salud valdivia”. [Tesis para optar al grado de Químico Farmacéutico]. Universidad Austral de Chile; 2008. [Fecha de acceso de Junio del 2017]. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/fcr594u/doc/fcr594u.pdf>

9. López A, Aroche A, Bestard J, Ocaña N. Uso y abuso de las benzodiazepinas. MEDISAN. [Internet]. 2010 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 14(4): 555-566. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v14n4/san17410.pdf>
10. Tres J. Interacción entre fármacos y plantas medicinales. An Sist Sanit Navar. [Internet]. 2006 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 29(2): 233-252. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/asisna/v29n2/revision3.pdf>
11. Riofrío K. “Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de taxo (*Passiflora tripartita* var. *Mollissima*) en ratones (*Mus musculus*)”. [Tesis para optar al grado de Bioquímico Farmacéutico]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2014. [Fecha de acceso de Junio del 2017]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3198/1/56T00436.pdf>
12. Ocampo O. El cultivo de Curuba larga (*Passiflora mollissima*) en el departamento de Antioquia, y su manejo agronómico en la vereda Yarumal del Municipio de Sonsón; 2014. [Fecha de acceso de Junio del 2017]. Disponible en: <http://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/2782/3/1047966600.pdf>
13. German L. “Estudio neurofarmacológico del flavonoide crisina sobre la ansiedad experimental en la rata Wistar: efectos del tratamiento a corto y largo plazo”. [Tesis]. Instituto de Neuroetología; 2015. [Fecha de acceso de abril del 2018]. Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/GermanPoncianoLeon.pdf>
14. López F. Participación del hipocampo dorsal en el efecto ansiolítico del flavonoide crisina: Interacción con el ciclo estral. [Tesis]. Universidad Veracruzana; 2015. [Fecha de acceso de abril del 2018]. Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/42549/1/HernandezLopezFabiola.pdf>
15. Polanco L, Vargas C, Góngora M. Modelos animales: Una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad. Suma Psicológica. [Internet]. 2011 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 18(2): 141-148. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/sumps/v18n2/v18n2a11.pdf>
16. Rejón J, Placer D, Roldán G. Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas. Universitas Médica. [Internet]. 2011 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 52(1): 78-89. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231019866006>

17. Afife M. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. *Revista Colombiana de Bioética*. [Internet]. 2006 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 1(1): 163-183. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1892/189217283010.pdf>
18. Bruneton J. *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales*. (2º ed). Ed. Acrribia. Zaragoza. España. 2001.
19. Marín C. CONCYTEC. Informe de Pasantia post doctoral: Efecto biológico de metabolitos secundarios de *Passiflora tripartita*, *Passiflora incarnata* y *Myrcianthes myrsinoides* en ratones en Universidad de Limoges. Francia. 2016.
20. Bourin M, Hascoet M. The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*. [Internet]. 2002 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 463(2003): 55-65. Disponible en: <http://www.uonbi.ac.ke/projects/ibro/images/documents/workshops2005/the-mouse-light-dark-test.pdf>
21. Campos A, Fogaca M, Aguiar D, Guimaraes F. Modelos animales de trastornos de ansiedad y estrés. *Rev Bras Psiquiatr*. [Internet]. 2013 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 35(2): 101-111. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-44462013000600006](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462013000600006)
22. Cárdenas J, Navarro J. Modelos animales de ansiedad incondicionada (I). *Psiquiatr Biol*. [Internet]. 2002 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 9(1): 18-32. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-psiquiatria-biologica-46-articulo-modelos-animales-ansiedad-incondicionada-i--13028119>
23. Riveros I, Dueñas Z. Efecto de la alopregnanolona sobre la ansiedad en ratas con separación materna durante la lactancia. *Rev Fac Med*. [Internet]. 2014 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 62(2): 229-236. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v62n2/v62n2a09.pdf>
24. Clément Y, Joubert CH, Kopp C et al. La ansiedad en ratones: Un análisis de componentes principales de estudios. *Neural Plasticity*. [Internet]. 2007 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 2007(3): 54-57. Disponible en: [http://viaclinica.com/article.php?pmc\\_id=1847470](http://viaclinica.com/article.php?pmc_id=1847470)
25. Thippeswamy B, Mishra B, Veerapur V, Gupta G. Actividad ansiolítica de *Nymphaea alba* Linn. en ratones como modelos experimentales de ansiedad. *Indian J Pharmacol*. [Internet]. 2011 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 43(1): 50-55. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3062121/>

26. Rosas I, Simón K, Mercado F. Mecanismo celular y molecular de la adicción a benzodiazepinas. Salud Mental. [Internet]. 2013 [Fecha de acceso de Junio del 2017]; 36(4): 325-329. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/sm/v36n4/v36n4a7.pdf>

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



# ANEXOS

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

## ANEXO N°01.

## Cálculo de la dosis administrada

## 1.1 Obtención de la dosis de: Diazepam 10mg /2ml

- Dosis: 1mg/ ml
- X de peso animales: 22.3 g

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

$$X \text{ ----- } 22.3\text{g}$$

$$X = 0.022\text{mg}$$

$$0.022 \text{ mg} \text{ ----- } 1 \text{ ratón}$$

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

$$X = 0.22\text{mg}$$

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

$$0.22 \text{ mg} \text{ ----- } x$$

$$X = 0.04\text{ml}$$

- ✓ Para 10 ratones se utilizó 0.04ml de diazepam
- ✓ Se disolvió con 1 mL 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* var. *mollisima*.**Passiflora tripartita.100 mg**

- Dosis: 100 mg *Passiflora tripartita* var. *mollisima*
- X de peso los animales : 23.1 g

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

$$X \text{ ----- } 23.1 \text{ g}$$

$$X = 2.3\text{mg}$$

- ✓ Para un ratón se utilizó 2.31mg de extracto etanólico seco de *Passiflora tripartita*
- ✓ Para 10 ratones se utilizó 23.1mg de extracto etanólico 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.50 mg**

- Dosis: 50 mg *Passiflora tripartita* var. *mollisima*.
- X de peso los animales : 22.8 g

$$50\text{mg} \text{-----} 1000\text{g}$$

$$X \text{-----} 22.8 \text{ g}$$

$$X = 1.1 \text{ mg}$$

- ✓ Para un ratón se utilizó 1.14mg de extracto etanólico seco de *Passiflora tripartita*
- ✓ Para 10 ratones se utilizó 11.4mg de extracto etanólico 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° 02.****Prueba de comparaciones múltiples Post-hoc entre los grupos Blanco, Diazepam, *Passiflora* 50 mg y *Passiflora* 100mg**

Variable dependiente				Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
							Límite inferior	Límite superior
NÚMERO DE TRANSICIONES	HSD Tukey	Blanco	Diazepam	-30,667*	1,000	,000	-33,47	-27,87
			<i>Passiflora</i> 50 mg	-8,333*	1,000	,000	-11,13	-5,53
			<i>Passiflora</i> 100 mg	-18,667*	1,000	,000	-21,47	-15,87
		Diazepam	Blanco	30,667*	1,000	,000	27,87	33,47
			<i>Passiflora</i> 50 mg	22,333*	1,000	,000	19,53	25,13
			<i>Passiflora</i> 100 mg	12,000*	1,000	,000	9,20	14,80
		<i>Passiflora</i> 50 mg	Blanco	8,333*	1,000	,000	5,53	11,13
			Diazepam	-22,333*	1,000	,000	-25,13	-19,53
			<i>Passiflora</i> 100 mg	-10,333*	1,000	,000	-13,13	-7,53
		<i>Passiflora</i> 100 mg	Blanco	18,667*	1,000	,000	15,87	21,47
	Diazepam		-12,000*	1,000	,000	-14,80	-9,20	
	<i>Passiflora</i> 50 mg		10,333*	1,000	,000	7,53	13,13	
	Bonferroni	Blanco	Diazepam	-30,667*	1,000	,000	-33,59	-27,74
			<i>Passiflora</i> 50 mg	-8,333*	1,000	,000	-11,26	-5,41
			<i>Passiflora</i> 100 mg	-18,667*	1,000	,000	-21,59	-15,74
		Diazepam	Blanco	30,667*	1,000	,000	27,74	33,59
			<i>Passiflora</i> 50 mg	22,333*	1,000	,000	19,41	25,26

			<i>Passiflora</i> 100 mg	12,000*	1,000	,000	9,07	14,93	
		<i>Passiflora</i> 50 mg	Blanco	8,333*	1,000	,000	5,41	11,26	
			Diazepam	-22,333*	1,000	,000	-25,26	-19,41	
			<i>Passiflora</i> 100 mg	-10,333*	1,000	,000	-13,26	-7,41	
		<i>Passiflora</i> 100 mg	Blanco	18,667*	1,000	,000	15,74	21,59	
			Diazepam	-12,000*	1,000	,000	-14,93	-9,07	
			<i>Passiflora</i> 50 mg	10,333*	1,000	,000	7,41	13,26	
TIEMPO TOTAL DE PERMANENCIA	HSD Tukey	Blanco	Diazepam	-152,500*	3,674	,000	-	162,78	-142,22
			<i>Passiflora</i> 50 mg	-62,000*	3,674	,000	-72,28	-51,72	
			<i>Passiflora</i> 100 mg	-105,000*	3,674	,000	-	115,28	-94,72
		Diazepam	Blanco	152,500*	3,674	,000	142,22	162,78	
			<i>Passiflora</i> 50 mg	90,500*	3,674	,000	80,22	100,78	
			<i>Passiflora</i> 100 mg	47,500*	3,674	,000	37,22	57,78	
		<i>Passiflora</i> 50 mg	Blanco	62,000*	3,674	,000	51,72	72,28	
			Diazepam	-90,500*	3,674	,000	-	100,78	-80,22
			<i>Passiflora</i> 100 mg	-43,000*	3,674	,000	-53,28	-32,72	
		<i>Passiflora</i> 100 mg	Blanco	105,000*	3,674	,000	94,72	115,28	
			Diazepam	-47,500*	3,674	,000	-57,78	-37,22	
			<i>Passiflora</i> 50 mg	43,000*	3,674	,000	32,72	53,28	
	Bonferroni	Blanco	Diazepam	-152,500*	3,674	,000	-	163,25	-141,75
			<i>Passiflora</i> 50 mg	-62,000*	3,674	,000	-72,75	-51,25	
			<i>Passiflora</i> 100 mg	-105,000*	3,674	,000	-	115,75	-94,25
		Diazepam	Blanco	152,500*	3,674	,000	141,75	163,25	
			<i>Passiflora</i> 50 mg	90,500*	3,674	,000	79,75	101,25	
			<i>Passiflora</i> 100 mg	47,500*	3,674	,000	36,75	58,25	
		<i>Passiflora</i> 50 mg	Blanco	62,000*	3,674	,000	51,25	72,75	
			Diazepam	-90,500*	3,674	,000	-	101,25	-79,75
			<i>Passiflora</i> 100 mg	-43,000*	3,674	,000	-53,75	-32,25	
		<i>Passiflora</i> 100 mg	Blanco	105,000*	3,674	,000	94,25	115,75	
			Diazepam	-47,500*	3,674	,000	-58,25	-36,75	
			<i>Passiflora</i> 50 mg	43,000*	3,674	,000	32,25	53,75	
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.									

## ANEXO N° 03.

**Parámetros estadístico descriptivo y de dispersión para los grupos Blanco, Diazepam, Passiflora 50 mg y Passiflora 100**

Descriptivos				
		Estadístico	Error estándar	
<b>TIEMPO TOTAL DE PERMANENCIA</b>	Media		88.04	11.768
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	63.70	
		Límite superior	112.39	
	Media recortada al 5%		88.07	
	Mediana		90.50	
	Varianza		3323.520	
	Desviación estándar		57.650	
	Mínimo		6	
	Máximo		170	
	Rango		164	
	Rango intercuartil		124	
	Asimetría		-.161	.472
	Curtosis		-1.276	.918
	<b>NUMERO DE TRANSICIONES</b>	Media		16.58
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	11.59	
		Límite superior	21.58	
Media recortada al 5%		16.47		
Mediana		15.50		
Varianza		140.080		
Desviación estándar		11.836		
Mínimo		1		
Máximo		34		
Rango		33		
Rango intercuartil		24		
Asimetría		.212	.472	
Curtosis		-1.370	.918	

## ANEXO N° 04.

### Recolección e identificación de la Droga Vegetal

#### 1. Recolección



#### 2. Identificación



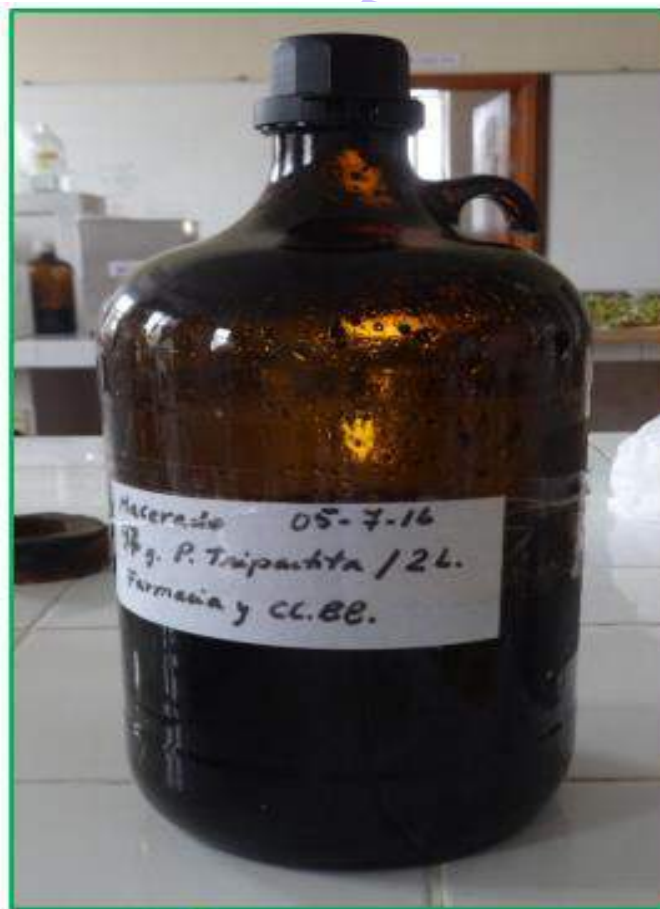
## ANEXO N° 05.

### Secado y Maceración de la Droga Vegetal

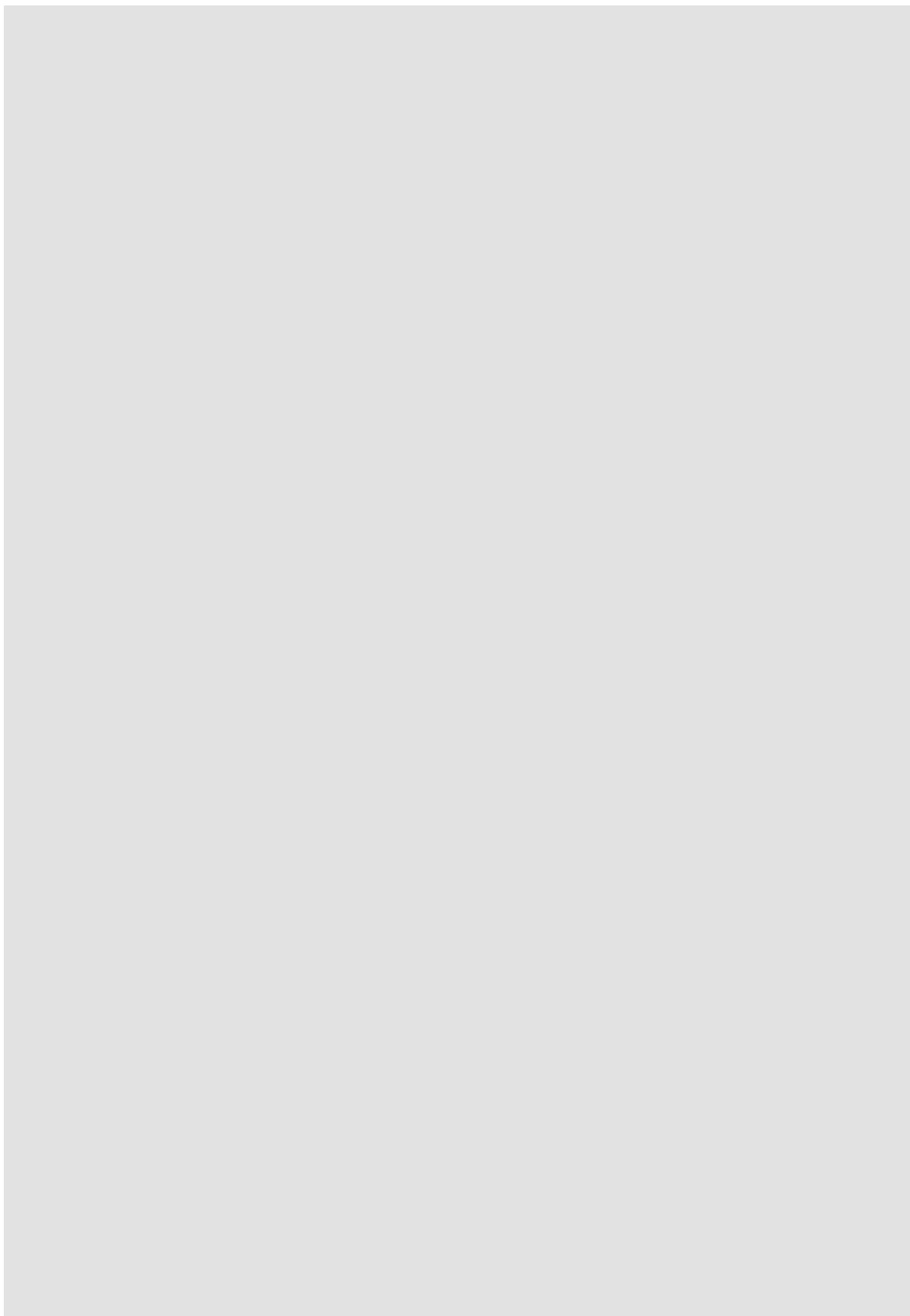
#### 1. Secado de la Droga Vegetal



#### 2. Maceración de la Droga Vegetal



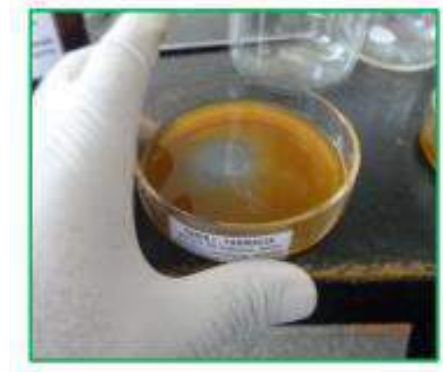
## **ANEXO N° 06. Marcha Fotoquímica**



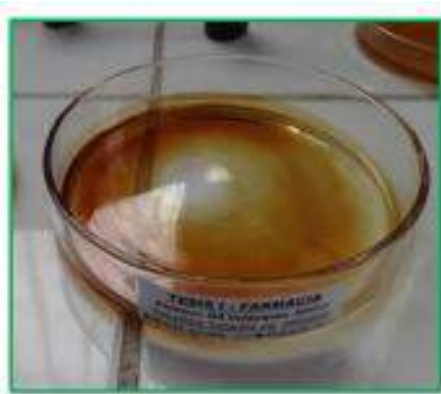


## ANEXO N° 07. Preparación del extracto

### 1. Tratamiento con rota evaporador



### 2. Obtención del extracto seco



### 3. Tarando las dosis del extracto etanólico de *Passiflora*



#### 4. Extracto etanólico de *Passiflora tripartita* a dosis de 50mg y 100mg.



#### ANEXO N° 08. Grupos de experimentación



#### ANEXO N° 09. Preparando equipo para el test luz-oscuridad



**ANEXO N° 10. Pesando a cada ratón para los respectivos cálculos.**



**ANEXO N° 11. Prueba de test luz-oscuridad**



**ANEXO N° 12. Se filmó con cámara digital y se hizo el análisis ANOVA**



## ANEXO N°13.

**TABLA 1: COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS EN RELACIÓN AL NÚMERO DE TRANSICIONES**

GRUPOS	N	Media	Desviación Estándar	valor P
Blanco	6	2	1	1.84 x 10 <sup>-17</sup>
Diazepam	6	33	2	
<i>Passiflora</i> 50 mg	6	11	2	
<i>Passiflora</i> 100 mg	6	21	2	

**TABLA 2: COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS EN RELACIÓN AL TIEMPO DE PERMANENCIA**

GRUPOS	N	Media (seg)	Desviación Estándar	valor P
Blanco	6	8	1	6.55 x 10 <sup>-20</sup>
Diazepam	6	161	6	
<i>Passiflora</i> 50 mg	6	70	8	
<i>Passiflora</i> 100 mg	6	113	8	