



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DEL  
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE  
LAVANDA (*Lavandula officinalis*) EN RATONES (*Mus musculus*)”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL**

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: ERIKA NATALY INCA BALDEÓN**

**TUTORA: BQF. GISELA ALEXANDRA PILCO BONILLA MS.c**

Riobamba - Ecuador

2019

©2019, Erika Nataly Inca Baldeón

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo experimental: “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE LAVANDA (*Lavandula officinalis*) EN RATONES (*Mus musculus*)”, de responsabilidad de la señorita Erika Nataly Inca Baldeón, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

**NOMBRE:**

**FIRMA**

**FECHA**

BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla MS.c

**DIRECTORA DE TRABAJO**

**DE TITULACIÓN**

BQF. Diego Renato Vinuesa Tapia MS.c

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Erika Nataly Inca Baldeón soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Erika Nataly Inca Baldeón

060410917-3

## **DERECHOS DE AUTORIAS**

El trabajo de grado que presento es original y basado en el proceso de investigación y/o adaptación tecnológica establecido en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. En tal virtud los fundamentos teóricos -científicos son de exclusiva responsabilidad de la autora. El patrimonio intelectual le pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

---

Erika Nataly Inca Baldeón

060410917-3

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a Lolito por guiarme en cada paso que doy en mi vida, por darme fuerza para seguir cumpliendo cada sueño, cada meta que me propongo.

A mis padres Martha Baldeón y Marco Inca por ser el motor de mi vida, por todo el amor, confianza, y apoyo incondicional que me han dado durante todo el trayecto para cumplir esta meta a pesar de las dificultades.

A mis tíos, primos, abuelitos y amigos por brindarme su apoyo y compañía en esta etapa de mi vida.

**Erika**

## AGRADECIMIENTO

A Dios, a la Santísima Virgen del Quinche y a ti Lolito por ser parte fundamental en mi vida, por darme sabiduría para manejar cualquier situación que se presente, y por todas las bendiciones que derraman sobre mí.

A mis padres que son el pilar indispensable de mi vida, les agradezco cada sacrificio, cada palabra de aliento que me dieron durante toda esta etapa, y por su puesto por su amor incondicional a pesar de las dificultades.

A toda mi familia que de una u otra manera supieron brindarme su apoyo a lo largo de mis estudios.

A Andrés Merino, por estar a mi lado cuando le he necesitado sin importar la distancia, aminándome, ayudándome y sobre todo apoyándome en cada momento.

A mi tutora BQF. Gissela Pilco por su guía y ayuda impartida durante en la realización de este trabajo de titulación.

Al BDF. Diego Vinueza por compartir conmigo sus conocimientos y ayudarme a llevar a cabo este trabajo.

Al Ing David Moreno y Dr. Jorge Toapanta docente de la Facultad de Informática y Electrónica por su colaboración y guía en este proceso.

Y a todas aquellas personas que de alguna manera me brindaron su apoyo para la realización de esta investigación.

A todos muchas gracias.

**Erika**

## INDICE DE ABREVIATURAS

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**EA:** Enfermedad de Alzheimer

**SNC:** Sistema Nervioso Central

**GABA:** Ácido Gamma amino-butírico

**PET:** Tomografía por Emisión de Positrones

**CSF:** Fluido Cerebroespinal

**APA:** *American Psychological Association*

**g:** gramo

**mL:** mililitros

**nm:** nanómetros

**min:** minutos

**EMIS:** Aplicación para el equipo “Campo Abierto”

**ITOP:** Aplicación para los equipos “Cuarto Claro- Oscuro y Laberinto Cruz Elevado”



## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....	5
1.1. Marco referencial.....	5
1.1.2. <i>Antecedentes de la investigación</i> .....	5
1.2. Marco conceptual.....	6
1.2.1. <i>Salud mental</i> .....	6
1.1.1. <i>Ansiedad y Depresión</i> .....	6
1.1.2. <i>Ansiedad</i> .....	7
1.1.3. <i>Medicamentos: Benzodiazepinas</i> .....	9
1.1.4. <i>Fitoterapia en la ansiedad</i> .....	10
1.1.5. Biodiversidad de Ecuador .....	10
1.1.6. <i>Especies</i> .....	11
1.1.7. Usos Etnobotánicos .....	11
1.1.8. <i>Lavandula officinalis</i> .....	13
1.1.9. <i>Modelos animales para el estudio de la ansiedad</i> .....	14
<b>CAPÍTULO II</b>	
2. MARCO METODOLÓGICO.....	17
2.1. Tipo y diseño de investigación.....	17
2.2. Identificación de la materia vegetal.....	17
2.3. Recolección de la materia vegetal. ....	17
2.4. Materiales, equipos y reactivos .....	18
2.4.1. <i>Material vegetal</i> .....	18
2.4.2. <i>Material biológico</i> .....	18
2.4.3. <i>Lista de equipos, materiales y reactivos.</i> .....	18

<b>2.5. Métodos y Técnicas .....</b>	<b>20</b>
<b>2.5.1. Recolección, lavado y secado de la droga vegetal.....</b>	<b>20</b>
2.5.1.1. Secado .....	20
2.5.1.2. Molienda .....	21
<b>2.5.2. Parámetros de control de calidad en la droga vegetal.....</b>	<b>21</b>
2.5.2.1. Determinación de humedad .....	21
2.5.2.2. Determinación de cenizas totales.....	21
2.5.2.3. Determinación de cenizas solubles en agua. ....	22
2.5.2.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico. ....	22
<b>2.5.3. Tamizaje o screening fitoquímico .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5.4. Preparación del extracto hidroalcohólico.....</b>	<b>26</b>
<b>2.5.5. Control de calidad del extracto hidroalcohólico.....</b>	<b>26</b>
2.5.5.1. Requisitos organolépticos .....	26
<b>2.5.6. Determinación de flavonoides totales .....</b>	<b>28</b>
<b>2.5.7. Determinación de fenoles totales .....</b>	<b>28</b>
<b>2.5.8. Actividad ansiolítica.....</b>	<b>28</b>
2.5.8.1. Equipo electrónico de medición “Cuarto Claro-Oscuro” .....	29
2.5.8.2. Equipo electrónico de medición “Laberinto cruz elevado”. ....	31
2.5.8.3. Equipo electrónico de medición “Campo abierto”. ....	33
2.5.8.4. Procedimiento de la utilización de los equipos.....	35
<b>2.5.9. Análisis estadístico.....</b>	<b>36</b>
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS. ....</b>	<b>38</b>
<b>3.1. Resultados de control de calidad de la droga cruda de flores de <i>Lavandula officinalis</i> .....</b>	<b>38</b>
<b>3.2. Resultados del Tamiza .....</b>	<b>39</b>
<b>3.3. Resultado del control de calidad del extracto hidroalcohólico de las flores de lavanda (<i>Lavandula officinalis</i>) .....</b>	<b>41</b>
<b>3.4. Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu .....</b>	<b>42</b>
<b>3.5. Cuantificación de flavonoides totales por colorimetría .....</b>	<b>42</b>

<b>3.6. Actividad ansiolítica</b> .....	<b>43</b>
<b>3.6.1. Equipo electrónico de medición “Campo Claro-Oscuro”</b> .....	<b>43</b>
3.6.1.1 . <i>Tiempo en el Cuarto Claro, Mitad y Cuarto Oscuro</i> .....	43
3.6.1.2. <i>Número de cruces Cuarto Claro-Oscuro, Distancia recorrida y Velocidad media</i> .....	46
<b>3.6.2. Equipo electrónico de medición “Laberinto en elevado en cruz”</b> .....	<b>50</b>
3.6.2.1. <i>Tiempo en brazos abiertos y cerrados</i> .....	50
3.6.2.2. <i>Entradas en brazos abiertos y cerrados</i> .....	52
3.6.2.3. <i>Distancia recorrida y velocidad media</i> .....	55
<b>3.6.3. Equipo electrónico de medición “Campo Abierto”</b> .....	<b>58</b>
3.6.3.1. <i>Tiempo en el Centro, Interior, Laterales y Esquinas</i> .....	58
3.6.3.2. <i>Número de defecaciones y elevaciones</i> .....	61
3.6.3.3. <i>Distancia recorrida y Velocidad media</i> .....	64
<b>3.6.4. Discusión general de los resultados</b> .....	<b>67</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>69</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>70</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1</b> Clasificación de los síntomas de la ansiedad .....	8
<b>Tabla 2-1</b> Clasificación de las dosis de las Benzodicepinas.....	9
<b>Tabla 1-2</b> Lista de materiales, equipos y reactivos utilizados .....	8
<b>Tabla 2-2</b> Grupos y dosis para la determinación de la actividad ansiolítica de flores <i>Lavandula officinalis</i> .....	29
<b>Tabla 3-2</b> Interpretación de los resultados obtenidos en el Cuarto Claro-Oscuro.....	31
<b>Tabla 4-2</b> Interpretación de los resultados para cada uno de los parámetros medidos en el Laberinto cruz elevado.....	33
<b>Tabla 5-2</b> Interpretación de los resultados obtenidos en el Campo Abierto.....	35
<b>Tabla 1-3</b> Resultados obtenidos del Control de Calidad de droga cruda de flores de <i>L. officinalis</i> .....	38
<b>Tabla 2-3:</b> Resultados adquiridos del Tamizaje fitoquímico de las flores <i>L. officinalis</i> .....	39
<b>Tabla 3-3</b> Resultados del control de calidad del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>L. officinalis</i> ---	41
<b>Tabla 4-3</b> Resultados de la cantidad de Fenoles totales de las Flores de <i>L. officinalis</i> .....	42
<b>Tabla 5-3:</b> Resultados de la cantidad de flavonoides totales de las Flores de <i>L. officinalis</i> .....	42
<b>Tabla 6-3:</b> Resultados adquiridos del tiempo en cuarto claro y oscuro .....	43
<b>Tabla 7-3:</b> Test ANOVA para el Tiempo Cuarto Claro y Tiempo Cuarto Oscuro .....	44
<b>Tabla 8-3:</b> Test TUKEY para el Tiempo Cuarto Claro y Tiempo Cuarto Oscuro .....	45
<b>Tabla 9-3:</b> Resultados de número de cruces del cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y velocidad media .....	46
<b>Tabla 10-3:</b> Test ANOVA para cruces para cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y velocidad media.....	48
<b>Tabla 11-3:</b> Test TUKEY para cruces para cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y velocidad media.....	48
<b>Tabla 12-3</b> Resultados del tiempo en Brazos Abiertos y Brazos Cerrados.....	50
<b>Tabla 13-3:</b> Test ANOVA para el Tiempo en brazos abiertos, y brazos cerrados .....	51
<b>Tabla 14-3:</b> Test TUKEY para el Tiempo en brazos abiertos y brazos cerrados.....	51

<b>Tabla 15-3</b>	Resultados del número de Entradas a Brazos Abiertos y Brazos Cerrados .....	52
<b>Tabla 16-3:</b>	Test ANOVA del número de Entradas a Brazos Abiertos y Brazos Cerrados .....	53
<b>Tabla 17-3:</b>	Test TUKEY del número de Entradas a Brazos Abiertos y Brazos Cerrados.....	54
<b>Tabla 18-3:</b>	Resultados de la distancia Recorrida y Velocidad media.....	55
<b>Tabla 19-3:</b>	Test ANOVA de Distancia recorrida y Velocidad media- .....	56
<b>Tabla 20-3:</b>	Test TUKEY para Distancia recorrida y Velocidad media .....	57
<b>Tabla 21-3:</b>	Resultados del tiempo en el centro, interior, esquinas y laterales .....	58
<b>Tabla 22-3:</b>	Test ANOVA para el tiempo en el centro, interior, esquinas y laterales.....	59
<b>Tabla 23-3:</b>	Test TUKEY para el tiempo en el centro, interior, esquinas y laterales .....	60
<b>Tabla 24-3:</b>	Resultados del Número de Elevaciones y Defecaciones .....	61
<b>Tabla 25-3:</b>	Test ANOVA para el Número de Elevaciones y Defecaciones.....	62
<b>Tabla 26-3:</b>	Test TUKEY para el Número de Elevaciones y Defecaciones .....	63
<b>Tabla 27-3:</b>	Resultados de la Distancia Recorrida y Velocidad media.....	64
<b>Tabla 28-3:</b>	Test ANOVA para Distancia Recorrida y Velocidad media.....	65
<b>Tabla 29-3:</b>	Test TUKEY para Distancia Recorrida y Velocidad media .....	66

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-2:</b> Punto de Recolección de <i>Lavandula officinalis</i> .....	18
<b>Figura 2-2:</b> Esquema para el Tamizaje Fitoquímico. ....	24
<b>Figura 3-2:</b> Esquema para el Tamizaje Fitoquímico del extracto etéreo.....	25
<b>Figura 4-2:</b> Esquema para el Tamizaje Fitoquímico del extracto alcohólico. ....	25
<b>Figura 5-2:</b> Esquema para el Tamizaje Fitoquímico del extracto acuoso. ....	26
<b>Figura 6-2:</b> Flujograma para Determinar la Actividad Ansiolítica .....	36

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfica 1-2:</b> Aplicación ITOPI-“Cuarto Claro-Oscuro”	30
<b>Gráfica 2-2:</b> Aplicación ITOPI-“Laberinto Cruz Elevado”	32
<b>Gráfica 3-2:</b> Aplicación EMIS “Campo Abierto”	34
<b>Gráfica 1-3:</b> Tiempos de estancia en el Cuarto Claro y Oscuro en los diferentes tratamientos.	44
<b>Gráfica 2-3:</b> Número de cruces del Cuarto Claro y Oscuro en los diferentes tratamientos.	46
<b>Gráfica 3-3:</b> Distancia Recorrida en los diferentes tratamientos	47
<b>Gráfica 4-3:</b> Velocidad Media en los diferentes tratamientos.	47
<b>Gráfica 5-3:</b> Tiempo en brazos abierto y brazos cerrados en los diferentes tratamientos.	50
<b>Gráfica 6-3:</b> Entradas en brazos abiertos y brazos cerrados en los diferentes tratamientos	53
<b>Gráfica 7-3:</b> Distancia recorrida en los diferentes tratamientos.	55
<b>Gráfica 8-3:</b> Velocidad media en los diferentes tratamientos	55
<b>Gráfica 9-3:</b> Tiempos de estancia en el centro, interior, laterales y esquina en los diferentes tratamientos.	58
<b>Gráfica 10-3:</b> Número de elevaciones y defecaciones en los diferentes tratamientos	62
<b>Gráfica 11-3:</b> Distancia Recorrida en los diferentes tratamientos	64
<b>Gráfica 12-3:</b> Velocidad media en los diferentes tratamientos	65

## ÍNDICE DE ANEXOS

**ANEXO A:** Preparación de la droga cruda

**ANEXO B:** Control de calidad de la droga cruda

**ANEXO C:** Tamizaje Fitoquímico

**ANEXO D:** Control de calidad del Extracto Hidroalcohólico

**ANEXO E:** Concentración del Extracto

**ANEXO F:** Cuantificación de Fenoles Totales y Flavonoides Totales

**ANEXO G:** Animales de experimentación (*Mus musculus*)

**ANEXO H:** Reconstitución del extracto seco con propilenglicol al 15%

**ANEXO I:** Manipulación y administración de los extractos en animales de experimentación.

**ANEXO J:** Equipos utilizados para Evaluar la actividad ansiolítica



## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar la actividad ansiolítica del extracto hidroalcohólico de la flores de *Lavandula officinalis* en ratones (*Mus musculus*). La materia vegetal fue recolectada, seca, triturada y macerada con etanol al 70% en una proporción 1:10 durante tres días con agitaciones constantes, a través del tamizaje fitoquímico se reconoció metabolitos secundarios de manera cualitativa como los alcaloides, terpenos, esteroides, compuestos fenólicos y flavonoides de gran interés; posteriormente, el extracto se concentró hasta eliminar el alcohol hasta dejarlo completamente seco. Para evaluar la actividad ansiolítica se utilizaron 30 ratones, con peso de 25-30 g y con una edad de 2 – 3 meses, fueron agrupados de acuerdo a los tratamientos administrados. Se usó propilenglicol al 15% como control negativo y los extractos a concentraciones de 25, 100 y 200 mg/kg, y como control positivo Clonazepam. Se hicieron pruebas exploratorias con los 3 equipos: Cuarto Claro-Oscuro, Campo Abierto y Laberinto en Cruz Elevado, los datos fueron captados en videos que después fueron procesados mediante software: ITOPI para “Cuarto Claro-Oscuro” y “Laberinto Cruz Elevado” y EMIS para “Campo Abierto”. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente determinando que presentó actividad ansiolítica la dosis de 200mg/kg en los dos equipos de más relevancia, además de actividad sedante no afectan a la actividad motora. Se recomienda realizar nuevo estudios para comprobar la actividad ansiolítica de *Lavandula officinalis* con dosis mayores a las utilizadas para confirmar su efecto.

**PALABRAS CLAVE:** <BIOQUÍMICA>, < FARMACIA>, <ACTIVIDAD ANSIOLITICA>, <LAVANDA (*Lavandula officinalis*)>, <RATONES (*Mus musculus*)>, <LABERINTO EN CRUZ ELEVADO>, <CUARTO CLARO OSCURO >, <CAMPO ABIERTO >, <ITOP (SOFTWARE) >, <EMIS (SOFTWARE) >

## ABSTRACT

The objective of this research work was to determine the anxiolytic activity of the *Lavandula officinalis* flowers hydroalcoholic extract in mice (*Mus musculus*). The vegetable matter was collected, dried, crushed and macerated with 70% ethanol in a 1:10 ratio for three days with constant agitations, through phytochemical screening, secondary metabolites were recognized qualitatively, such as alkaloids, terpenes, spheroids, phenolic compounds and flavonoids of great interest. Subsequently, the extract was concentrated until the alcohol was eliminated until it was completely dry. To evaluate the anxiolytic activity, 30 mice were used, weighing 25-30 g and with an age of 2 - 3 months, they were grouped according to the treatments administered. 15% propylene glycol was used as a negative control and the extracts at concentrations of 25, 100 and 200 mg/kg, and Clonazepam as a positive control. Exploratory tests were done with the 3 teams: Dark-light room, Open field and Elevated cross labyrinth. Data were captured on videos, which were then processed using software: ITOPI for "Dark-light room" and "Elevated cross labyrinth" and EMIS for "Open field". Data obtained were statistically analyzed, stating that the dose of 200mg/kg presented anxiolytic activity in the two most relevant teams. In addition to the sedative activity, they do not affect motor activity. It is recommended to carry out further studies to verify the anxiolytic activity of *Lavandula officinalis* with higher doses than those used to confirm its effect.

**KEYWORDS:** <BIOCHEMISTRY>, <PHARMACY>, <ANXIOLYTIC ACTIVITY>, <LAVENDER (*Lavandula officinalis*)>, <MICE (*Mus musculus*)>, <ELEVATED CROSS LABYRINTH>, <DARK-LIGHT ROOM>, <OPEN FIELD>, <ITOPI (SOFTWARE)>, <EMIS (SOFTWARE)>

## INTRODUCCIÓN

### JUSTIFICACIÓN

La Ansiedad es una de las cinco enfermedades más prevalentes en todo el mundo, según la OMS (Organización Mundial de la Salud) para el 2020 se espera que sea la segunda causa de discapacidad a nivel mundial. La ansiedad se presenta típicamente como bajo estado de ánimo, dificultad para pensar, pérdida de interés y quejas físicas tales como dolor de cabeza, sueño perturbado, pérdida de energía, entre otras (Batool Rahmati, 2017, p. 958–965).

La ansiedad combinada con la depresión predice malos resultados. Además, se informa que son más comunes en la enfermedad de Alzheimer (EA), está relacionada con la duración, mayor severidad de la demencia y niveles educativos más bajos; los desórdenes de ansiedad son un problema de salud mental frecuente en personas de edad avanzada con un gran impacto en la calidad de vida. Estudios indican que las personas mayores que sufren trastornos de ansiedad tienen un alto riesgo de recaída y persistencia junto a la progresión a depresión y estados de depresión ansiedad (Batool Rahmati, 2017, p. 958–965).

El aumento en las cifras de personas afectadas con esta patología en el país, hace indispensable la búsqueda de posibles alternativas naturales que puedan contrarrestar este tipo de enfermedades.

Si bien hay muchos factores precipitantes, actualmente, se cree que la ansiedad es el resultado de alteraciones bioquímicas en el cerebro. El tratamientos farmacéutico incluye los inhibidores selectivos de la receptación de serotonina (ISRS) y benzodiazepinas de alta potencia; sin embargo, estos causan alteraciones en la química cerebral a través de la amplificación y regulación de señales que pueden afectar de manera significativa a largo plazo al sujeto que los ingiera (Batool Rahmati, 2017, p. 958–965).

Asimismo, el uso de fármacos ansiolíticos ha desencadenado una serie de reacciones adversas como náuseas, estreñimiento, hipotensión ortostática, arritmias, aumento de peso y disfunción sexual entre las más conocidas.

Estudios recientes han descubierto un nuevo tipo de célula llamada "neurona de rosa mosqueta" estas células tienen la forma del fruto de los rosales; dos laboratorios diferentes, uno en la

Universidad de Szeged en Hungría y otro en el Instituto Allen para la Ciencia del Cerebro en Seattle, identificaron lo que parecía ser un nuevo tipo de célula cerebral. El estudio lo realizaron usando dos cerebros donados a la ciencia de hombres fallecidos a mediados de los cincuenta, los laboratorios utilizaron diferentes técnicas para investigar las neuronas (Eszter Boldog, 2018, pp. 1185-1199).

El neurocientífico a cargo de la investigación señala que la mayoría de las neuronas tienen dendritas largas, ramificadas que llevan señales eléctricas. La nueva neurona, sin embargo, es un poco diferente. "Es muy espesa" son compactas, con muchos puntos de ramificación, por lo que se parece un poco a una *rosahip* (Eszter Boldog, 2018, pp. 1185-1199).

Este tipo de neurona solo existe en humanos y no en roedores, los cuales se usan frecuentemente como especies modelo en neurociencia. Por lo tanto, la existencia de la neurona de rosa mosqueta puede explicar por qué tantos tratamientos para los trastornos cerebrales parecen funcionar en modelos de ratón, pero fallan cuando se aplican a los humanos (Eszter Boldog, 2018, pp. 1185-1199).

Por lo tanto, existe la necesidad de buscar nuevos compuestos y estrategias de tratamiento que mejoren la calidad de vida del paciente. En este contexto, la investigación de productos naturales ha sido considerada como una opción para el desarrollo de medicamentos innovadores.

La fitoterapia es una alternativa sobre todo porque no presentan tantos efectos adversos como los tratamientos químicos tradicionales. La OMS indica que alrededor del 80% de la población mundial utiliza plantas medicinales con fines terapéuticos siendo más efectivos en algunas patologías por ser más inocuos (Lacasa, 2014) (Salud, 2004).

*Lavandula officinalis* se ha utilizado durante mucho tiempo en la medicina tradicional para algunos trastornos nerviosos como Epilepsia y depresión. Los efectos biológicos comprobados de *L. officinalis* son sedante, ansiolítico, antidepresivo, antiespasmódico, antiflatulento, antiemético, diurético, anticonvulsivo, antibacteriano y analgésico (Batoool Rahmati, 2017, p. 958–965).

Ensayos clínicos han demostrado que los pacientes con síntomas de ansiedad e insomnio se benefician de la lavanda; otra investigación concluyó que la combinación de dos plantas *L. officinalis* y *L. angustifolia* es más efectiva; a su vez se informó que la exposición al olor a lavanda puede tener un leve efecto ansiolítico (Batoool Rahmati, 2017, p. 958–965).

En éste contexto, diferentes especies son usadas para tratar enfermedades, como es el caso de la

flor de lavanda que es valorada por sus propiedades medicinales en problemas de ansiedad, nerviosismo y daños en la piel. Sus flores crecen en forma de espiga, se distinguen de las demás por su color azul-violeta y su olor característico (Batoool Rahmati, 2017).

El aceite esencial de las flores de Lavanda presentan una actividad ansiolítica leve, sin embargo, de forma tradicional se menciona que al realizar una infusión la actividad aumenta notoriamente (Márquez & Vázquez, 2016).

Esta investigación está enfocada en determinar si la planta *Lavandula officinalis* presenta actividad ansiolítica en ratones (*Mus musculus*), utilizando equipos exploratorios de medición: Laberinto Cruz Elevado, Campo Abierto y Cuarto Claro-Oscuro, contribuyendo en caso de resultar positivo en una alterativa fitoterapéutica, respondiendo de esta manera al Plan del Buen Vivir.

## **OBJETIVOS:**

### **GENERAL:**

Determinar la actividad ansiolítica del extracto hidroalcohólico de las Flores de Lavanda (*Lavandula officinalis*) en ratones (*Mus musculus*).

### **ESPECÍFICOS:**

Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las Flores de Lavanda (*Lavandula officinalis*).

Cuantificar fenoles totales y flavonoides presentes en el extracto vegetal mediante espectrofotometría y el método de AICI3.

Evaluar la actividad ansiolítica del extracto de las Flores de Lavanda (*Lavandula officinalis*) a diferentes dosis en ratones (*Mus musculus*).

# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

### 1.1. Marco referencial

#### 1.1.2. Antecedentes de la investigación

El término ansiedad proviene del latín “*anxietas*”, que significa congoja o aflicción; es un estado de malestar psicofísico caracterizado por una sensación de inquietud, intranquilidad, inseguridad o desosiego ante amenazas urgentes y/o causas indefinidas. La diferencia entre ansiedad normal y patológica se basa en una valoración irreal o distorsionada de la amenaza (Virues, 2005, pp. 1-7).

La ansiedad es considerada como un trastorno mental prevalente en la actualidad, debido que engloba una serie de cuadros clínicos, se manifiesta en múltiples disfunciones y desajustes a nivel cognitivo, conductual y psicofisiológico (Virues, 2005, pp. 1-7).

Un análisis de la Organización Europea para la Salud en el Trabajo mencionó que en Norteamérica (Estados Unidos, Canadá y México) los trabajadores latinoamericanos presentan un cuadro en donde el 13% se queja de dolores de cabeza, un 17% dolores musculares, 30 % dolor de espalda, 20% fatiga y 28% diferentes componentes de ansiedad. Definitivamente, la ansiedad y sus efectos traen consigo un desgaste emocional y comportamental demasiado serio y complicado (Virues, 2005, pp. 1-7).

Las benzodiazepinas se usan como fármacos complementarios para el tratamiento de trastornos de ansiedad e insomnio su uso concomitante con agentes antidepresivos conduce a una mejor respuesta y disminuye la incidencia de interrupción del tratamiento en estos pacientes; sin embargo, este tratamiento debe usarse con precaución debido a la posibilidad de adicción (Masoud Nikfarjam, 2013, pp. 1-15).

Las hierbas medicinales tienen menos complicaciones y pueden administrarse solas o como terapia complementaria en estos pacientes; la eficacia de algunos remedios herbales ya se ha demostrado en el tratamiento de la ansiedad, como *Hypericum perforatum*, *Passiflora manicata*, *Passiflora edulis*, *Passiflora quadrangularis*, *Passiflora tripartita* y *Sonchus Oleraceus*. Por otra

parte, *Lavandula angustifolia* de la familia *Lamiaceae* también ha llamado la atención en la medicina tradicional y hierbas para el tratamiento de la ansiedad en su forma de aceite esencial (Masoud Nikfarjam, 2013, pp. 1-15).

La *lavandula* es conocida por ser efectiva en trastornos gástricos, dolores de cabeza, particularmente en dolores de cabeza por tensión. Esta hierba tiene algunas propiedades antiespasmódicas, analgésicas y relajantes (Masoud Nikfarjam, 2013, pp. 1-15).

## **1.2. Marco conceptual**

### **1.2.1. Salud mental**

La salud mental está relacionada con el bienestar mental, prevención de trastornos mentales, tratamiento y la rehabilitación; según la OMS la define como: “un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades” (OMS, s.f).

#### **1.1.1. Ansiedad y Depresión**

##### **1.1.1.1. Fisiopatología**

El neurocircuito de la ansiedad surge en la amígdala, el área del cerebro que registra la importancia emocional de los estímulos ambientales y donde almacena recuerdos emocionales, las vías eferentes van desde el núcleo central de la amígdala hacia a una diversidad de estructuras cerebrales críticas, incluido el núcleo parabraquial, el núcleo dorsomedial del nervio vago, el núcleo ambiguo que activa el sistema nervioso parasimpático, y el hipotálamo lateral que da como resultado la activación del SNC. A través de las vías neuronales recíprocas que conectan la amígdala con la corteza prefrontal medial, la experiencia cognitiva del trastorno de ansiedad específico difiere, aunque los síntomas de miedo pueden superponerse (Scott, 2011).

Los principales mediadores de los síntomas de los trastornos de ansiedad parecen ser la norepinefrina, la serotonina, la dopamina y el ácido gamma-aminobutírico (GABA), entre otros neurotransmisores y péptidos, como el factor liberador de corticotropina que puede estar involucrado (Nita V Bhatt, 2018).

A nivel clínico la exploración con tomografía por emisión de positrones (PET) ha demostrado un aumento del flujo en la región parahipocámpica derecha y una reducción del receptor de la serotonina tipo 1 A en el cíngulo anterior y posterior y en el rafe de los pacientes con trastorno de pánico. La resonancia magnética ha demostrado un volumen del lóbulo temporal más pequeño a



pesar del volumen hipocampal normal en estos pacientes. El Fluido Cerebroespinal (CSF) en estudios en humanos muestra niveles elevados de orexina, también conocida como hipocretina, que se cree juega un papel importante en la patogénesis del pánico en modelos de rata (Nita V Bhatt, 2018).

#### *1.1.1.2. Escaramujas*

Las nuevas neuronas denominadas Escaramujas, Rosa Mosqueta o *Rosehip*, presentan forma axonal y arborizada fueron descubiertas a través de dos cuerpos humanos que fueron donados para la ciencia.

Los recientes esfuerzos sistemáticos han proporcionado información sobre el tipo celular, la composición y organización de los circuitos neo corticales de roedores, sugiriendo la presencia de varias docenas de células inhibitorias y excitadoras. Sin embargo, la conservación de los principios celulares y de circuito en la corteza humana está asumida pero en gran parte no probada hasta la fecha. De hecho, la evidencia de las diferencias neuronales sustanciales entre roedores y humano son por ejemplo, las distintas membranas sinápticas, propiedades y complejidad dendrítica de las neuronas humanas que podrían contribuir al procesamiento de señales específicas del ser humano (Eszter Boldog, 2018, pp. 1185-1199).

#### *1.1.2. Ansiedad*

La *American Psychological Association* (APA) define la ansiedad como “una emoción caracterizada por sentimientos de tensión, pensamientos de preocupación y cambios físicos como aumento de la presión sanguínea” (APA, 2018).

La duración o severidad de una sensación de ansiedad a veces puede ser desproporcionada al desencadenante original o factor estresante. La APA describe a una persona con trastorno de ansiedad frecuentemente como una persona que “tiene pensamientos o preocupaciones intrusivas recurrentes”.

##### *1.1.2.1. Grupos susceptibles*

Las mujeres tienen más probabilidades de tener múltiples trastornos psiquiátricos durante su vida que los hombres, la diferencia radica en la química del cerebro que está involucrado en la respuesta de lucha o huida que se activa más fácilmente en las mujeres al contrario que los hombres, esto se da por la acción de los estrógenos y la progesterona (ADAA, 2018).

Algunos estudios señalan que el cerebro femenino no procesa la serotonina tan rápido como el cerebro masculino, siendo éste el responsable también de la respuesta al estrés y la ansiedad. La

edad de inicio de los trastornos de ansiedad es menor que la de los trastornos depresivos. Esto se debe que aparecen durante la niñez, adolescencia o primeros años de la vida adulta (ADAA, 2018).

### 1.1.2.2. Síntomas de la ansiedad

**Tabla 1-1** Clasificación de los síntomas de la ansiedad

<b>Tensión motora</b>	<b>Hiperactividad vegetativa</b>	<b>Hipervigilancia</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Temblor, contracciones o sensación de agitación</li> <li>• Tensión o dolor de los músculos</li> <li>• Inquietud</li> <li>• Fatigabilidad fácil.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dificultad para respirar o sensación de ahogo</li> <li>• Palpitaciones o taquicardia</li> <li>• Sudoración o manos frías y húmedas</li> <li>• Boca seca</li> <li>• Mareos o sensación de inestabilidad</li> <li>• Nauseas, diarrea u otras molestias abdominales</li> <li>• Sofocos o escalofríos</li> <li>• Micción frecuente</li> <li>• Dificultad para deglutir o sensación de “nudo en la garganta”</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sensación de que va a suceder algo</li> <li>• Respuesta de alarma exagerada</li> <li>• Dificultad para concentrarse o mente en blanco</li> <li>• Dificultad para conciliar el sueño</li> </ul>

**Fuente:** (Reyes-Ticas, S.F, p. 15) (Rodríguez-Landa & Contreras, s.f)

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

### 1.1.2.3. Tratamientos de la ansiedad

Existen muchas opciones de tratamiento altamente efectivos para la ansiedad y los trastornos relacionados con la ansiedad. Estos tratamientos se pueden categorizar ampliamente en: (Tanja Jovanovic & Sanne van Rooij, s.f, p. 4).

- Psicoterapia
- Medicamentos
- Terapias Complementarias y Alternativas

Los pacientes diagnosticados con ansiedad pueden beneficiarse de una o una combinación de estas diversas terapias.

### 1.1.3. Medicamentos: Benzodiazepinas

Poseen propiedades anti-ansiedad y pueden ser usadas para el control temporal de la ansiedad grave; los expertos en farmacoterapia de la ansiedad y la depresión definieron al uso de las benzodiazepinas, especialmente en combinación con antidepresivos, como las principales drogas en la terapia de los trastornos de la ansiedad. El uso prolongado de estos medicamentos puede causar dependencia, tolerancia y posibilidad de inducir síntomas de abstinencia (Vantour., 2010).

Las benzodiazepinas reducen la actividad de los nervios en el cerebro y la médula espinal, mejorando los efectos de GABA (Omudhome Ogbu, S.F).

**Tabla 2-1** Clasificación de las dosis de las Benzodiazepinas

<b>DOSIS DE LAS BENZODIAZEPINAS</b>			
	<b>INICIAL (mg)</b>	<b>MEDIA (mg)</b>	<b>EQUIVALENTE (mg)</b>
<b>ACCION CORTA</b>			
Alprazolam	0.25 TID	0.5 TID	0.5
Lorazepam	0.5 TID	1.0 TID	1.0
Bromazepam	1.5 TID	3.0 TID	3.0
<b>ACCION PROLONGADA</b>			
Diazepam	2.5 BID o 5.0 HS	5.0 BID o 10.0 HS	5.0
Clobazam	5.0 BID	10.0 BID	10.0
Clonazepam	0.25 HS	0.25 c/12 o 0.5 HS	0.25

**Fuente:** Dr. J. Américo Reyes-Ticas (Reyes-Ticas, S.F, p. 55)

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

#### *1.1.3.1. Mecanismos de acción de las benzodiazepinas*

Las benzodiazepinas actúan a nivel de la región límbica, talámica e hipotalámica del cerebro produciendo sedación, hipnosis, relajación muscular, actividad anticonvulsivante y coma. El GABA es el ácido gamma amino butírico (transmisor del SNC) genera potenciales postsinápticos inhibidores; estas actúan uniéndose al receptor GABA-érgico y la consecuencia es mayor afinidad del GABA lo que lleva a mayor frecuencia de apertura de los canales de Cl produciendo un aumento en la transmisión inhibitoria por el GABA (Vademecun, 2011).

#### *1.1.3.2. Efectos adversos*

Dificultad de la coordinación, somnolencia, mareo, fatiga, infecciones respiratorias altas, confusión, impotencia, disminución de la libido (MSP, 2014).

Reacciones adversas como efectos anticolinérgicos, gastrointestinales (náuseas y estreñimiento), hipotensión ortostática, arritmias, aumento de peso y disfunción sexual (MSP, 2014).

#### *1.1.4. Fitoterapia en la ansiedad*

La Fitoterapia consiste en el uso de medicamentos naturales para el tratamiento y prevención de enfermedades; desde la antigüedad el uso de plantas está ligado al conocimiento ancestral, debido que son proveedores de atención primaria en la comunidad (WHO, s.f).

Entre los preparados fitoterapéuticos que más se destacan están las hojas de ginkgo (*Ginkgo biloba*) que sirven para tratar trastornos cognitivos menores y trastornos del sistema nervioso central. De igual forma, las partes aéreas de la hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*) se usan en el tratamiento de formas leves a moderadas de la ansiedad y depresión. Las partes aéreas y las raíces de *Echinacea angustifolia* se utilizan en el tratamiento y la prevención del resfriado común y afecciones respiratorias; y partes de la garra del diablo africano (*Harpagophytum procumbens*), es decir, la raíz se usa para tratar el dolor lumbar crónico (Heinrich, s.f).

#### **1.1.5. Biodiversidad de Ecuador**

El país entero está atravesado longitudinalmente por la Cordillera de los Andes, la cual define a lo largo de todo el país una orografía y topografía muy marcadas y diferentes; sus costas están influenciadas por el paso de la corriente fría y seca de Humboldt. La combinación de todos estos factores hace posible que en el Ecuador existan una gran variedad de climas y tipos de vegetación,

que albergan 17 058 especies botánicas —16 000 excluyendo a las Pteridofitas (Ulloa Ulloa & Neill 2005, Jørgensen et al. 2006), (Muriel, 2008, pp. 28-38), (Henrik Balslev, 2008, pp. 1-322).

Probablemente Ecuador posea la mayor diversidad vegetal y animal del mundo. Su riqueza biológica se refleja en toda una gama de organismos, a saber: el 10% de las especies de plantas vasculares del mundo se encuentran en un área que apenas representa el 2% de la superficie total de la Tierra. Sus diversos ecosistemas han interactuado de múltiples formas a lo largo de la historia geológica. La característica más importante de la región es la existencia de una prolífica flora y fauna junto a extraordinarias variaciones de macro y micro-hábitats (MINTUR, s.f).

#### **1.1.6. Especies**

La utilización de las plantas con fines curativos, paliativos y preventivos ocupa un lugar preponderante; en el Ecuador el uso de plantas medicinales está inmerso en la cotidianidad de sus habitantes. La medicina popular se practica principalmente por habitantes de zonas rurales (Lucía de la Torre, 2008, pp. 105-114), (Henrik Balslev, 2008, p. 320).

Se encontraron 3118 especies pertenecientes a 206 familias de plantas usadas con fines medicinales en el Ecuador; el 75% de las especies medicinales son plantas nativas y el 5% de ellas son endémicas, mientras que el 11% son introducidas (Lucía de la Torre, 2008), (Henrik Balslev, 2008, p. 258).

Las familias que tuvieron un mayor número de especies de plantas medicinales fueron *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Rubiaceae*, *Laminacea*, *Solanaceae* *Gesneriaceae* *Malvaceae* y *Araceae*. Las especies que actúan sobre los desórdenes del sistema nervioso, es decir, como calmantes o sedantes son: toronjil (*Melissa officinalis*), especies de ortiga (*U. dioica*, *U. echinata*, *U. leptophylla*, *U. urens*) y de valeriana (*Valeriana decussata*, *V. interrupta*, *V. microphylla*, *V. officinalis*, *V. plantaginea*, *V. pyramidalis*, *V. sorbifolia*) (Henrik Balslev, 2008).

La diversidad de plantas y aplicaciones medicinales que tienen en el Ecuador es muy alta y representa una gran riqueza cultural y terapéutica. Por lo que es indispensable estar conscientes de que los generadores y propietarios de gran parte de este conocimiento, son las etnias o nacionalidades ecuatorianas considerando entonces que se las debe cuidar y respetar (Henrik Balslev, 2008).

#### **1.1.7. Usos Etnobotánicos**

Se ha generado gran cantidad de investigaciones científicas sobre la etnobotánica en los Andes ecuatorianos que reportan múltiples usos tradicionales de especies vegetales que pueden ser

usados en sistemas agroforestales, en reforestación o se enfocan en usos específicos de las plantas, como comestible o medicinal, información sobre sus propiedades, aplicaciones, nombres comunes y lugar o clima en que crecen (Macía, 2008, pp. 13-27).

Se han realizado estudios detallados de plantas medicinales, de especies culturalmente importantes como la valeriana utilizada como estimulante y antiespasmódico o el tipo (*Minthostachys mollis*) que es una planta nativa que crece en el callejón interandino y utilizada como emenagoga para combatir afecciones del aparato respiratorio, estimulante estomacal y para aliviar el dolor de cabeza; el frailejón (*Espeletia pycnophylla*) distribuida al norte de la región andina en el Páramo del Ángel y que se usa para aliviar el reumatismo y la parálisis histérica; la achicoria (*Hypochaeris sessiliflora*) de los páramos ecuatorianos se usa la decocción de sus raíces como diurético, purgante y para afecciones del sistema nervioso (Torre & Balslev, 2006, pp. 246-267).

Otras especies con propiedades estimulantes son: el yocó (*Paullinia yoco*) y la guayusa (*Ilex guayusa*); el yaje (*Banisteriopsis caapi*), San Pedro (*Echinopsis pachanoi*), wantuk (*Brugmansia sanguinea*) o vilca (*Anadenanthera colubrina*), que llegan alterar los estados de conciencia, ayudan a explorar el mundo metafísico para comunicarse con espíritus y dioses como parte de su cosmovisión (Torre & Balslev, 2006, pp. 346-267).

La *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* en recientes investigaciones publicó el uso de plantas medicinales en Ecuador y las que son usualmente utilizadas en Chimborazo. Algunas de estas plantas se usan contra el dolor de garganta o muscular, purificación corporal y eliminación de malas energías (la ruda y la hierba santa), dolores estomacales (manzanilla), cólico menstrual (hoja de higo), etc. Se dio a conocer que en Chimborazo se utilizan 153 diferentes tipos de plantas medicinales para 179 síntomas (Comercio, 2017, p. 2).

### 1.1.8. *Lavandula officinalis*



**Fotografía 1-1:** Planta de *Lavandula officinalis*  
**Realizado por:** Erika Inca, 2019

#### 1.1.8.1. Descripción de la planta

Las lavandas son plantas siempre verdes, arbustivas de 20 a 60 cm de altura, muestra una gama de formas de hojas y flores. Las hojas pueden ser lobuladas o desiguales y a veces están presentes solo en la base de los tallos. El color de las flores puede variar desde azul a violeta, se agrupan en espigas terminales cilíndricas en conjunto de 6 a 10 flores; el tallo brota en axilas de unas brácteas ovales situadas en el extremo de los tallos fértiles y forman varios anillos florales que desprenden un intenso aroma y las hojas pueden ir desde el gris azulado profundo al verde hasta marrón descolorido, son lineales, enteras, sésiles, opuestas, estrechas y algo coriáceas (Catherine J. Chu and Kathi J. Kemper, 2001, pp. 3-4), (Dueñas, s.f).

#### 1.1.8.2. Clasificación Taxonómica



**Fotografía 2-2:** Flores de *Lavandula officinalis*  
**Realizado por:** Erika Inca, 2019

**Reino:** Plantae

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Lamiales

**Familia:** Lamiaceae

**Género:** Lavandula

**Especie:** *Lavandula officinalis*

#### *1.1.8.3. Hábitat y Distribución*

Ecuador, de donde es conocida solamente como planta cultivada en las provincias de Azuay, Carchi, Tungurahua, El Oro.

#### *1.1.8.4. Composición química*

Las flores del extracto *L. officinalis* contiene flavonoides, linalool, acetato linalino, monotril, cezcoiterpen, luteolina, ácido ursólico, cumarina y umbeliferona (Masoud Nikfarjam, 2017, pp. 1-7).

#### *1.1.8.5. Usos comunes*

*L. officinalis* generalmente se ha considerado como un sedante, antidepresivo, antiespasmódico, antiflatulento, antiemético, diurético, anticonvulsivo, antibacteriano, analgésico y tónico. (Husseini & al, 2015, pp. 1-7).

El uso interno de la flor de lavanda (como infusión de té, extracto o aditivo para el baño) está actualmente aprobado por la *German Commission E* y la *German Standard License (GSL)* para la inquietud o el insomnio, las irritaciones nerviosas del estómago y las molestias nerviosas intestinales. También está aprobado para el tratamiento de trastornos circulatorios funcionales en Terapia de baño (Engels, 2007, pp. 1-5).

#### *1.1.9. Modelos animales para el estudio de la ansiedad*

La ansiedad es una respuesta difusa, caracterizada por la intranquilidad que desemboca en aprehensión y activación del sistema nervioso autónomo en un individuo en ausencia de un estímulo específico. En animales, concretamente en ratas y en ratones, las reacciones como la



hipervigilancia, la evitación y el escape, se consideran respuestas adaptativas normales, pero podrían convertirse en perjudiciales si se exacerban (Gómez, 2002, pp. 14-22) (Mora-Gallegos & Castillo, 2015, pp. 1-7).

Los modelos animales ha sido una herramienta fundamental en la investigación, ya que ha permitido esclarecer procesos fisiológicos, bioquímicos, conductuales, que se asemejan a los procesos respectivos en el ser humano. Lo que ha permitido alcanzar una mayor comprensión en gran variedad de campos, así como predicciones más acertadas en cuanto a respuestas del organismo ante diversos estímulos, ambientes y tratamientos (Hau, 2003) (Mora-Gallegos & Castillo, 2015, pp. 1-7).

#### *1.1.9.1. Pruebas condicionadas*

Se basan en la capacidad de responder ante un estímulo con una respuesta específica a otro estímulo. Generalmente, se presenta un estímulo aversivo, comúnmente un choque eléctrico, aplicado al animal quien debe emitir una respuesta determinada. Estos modelos permiten un control bastante preciso de los niveles de conducta basal por parte del experimentador, pero casi permanentemente requieren que los sujetos de experimentación sean entrenados y se incluyan en el diseño experimental varios grupos de sujetos control para descartar los efectos no específicos del tratamiento sobre aspectos como el aprendizaje, la memoria, apetito y las funciones motoras y perceptuales (Polanco, 2011).

#### *1.1.9.2. Pruebas no condicionadas*

Buscan medir la respuesta conductual o fisiológica ante estímulos estresantes o nuevos. Algunos evalúan el miedo ante situaciones novedosas, en donde el sujeto es expuesto a un espacio abierto, alto o luces brillantes. En estos modelos se evita hacer privación de agua o comida, así como la administración de choques eléctricos y no se requiere de periodos largos de entrenamiento (Cruz-Morales, et al., 2003, pp. 1-8).

##### *1.1.9.2.1. Campo Claro Oscuro*

El principal factor ansiolítico se fundamenta en el conflicto entre el comportamiento exploratorio del ratón y la aversión natural hacia el área abierta e iluminada (brillante) de esta prueba (IDROBO, 2016, pp. 1-89).

En esta prueba se utiliza una cámara oscura (pintada de negro sobre la superficie) con una abertura que separa la zona oscura de la zona clara, la cual esta iluminada por una lámpara fluorescente (IDROBO, 2016, pp. 1-89).

En la prueba se coloca al animal en el lado brillante de la caja y se observa su conducta, registrándola en un periodo de 5 minutos (IDROBO, 2016, pp. 1-89).

#### *1.1.9.2.2. Campo Abierto*

La prueba de campo abierto también ha sido una prueba ampliamente utilizada para medir ansiedad. Es un recinto generalmente cuadrado, rectangular o circular con paredes alrededor que impiden la salida o escape del animal (Gould, 2009, pp. 1-20) (Mora-Gallegos & Castillo, 2015, pp. 1-7).

En los diferentes laboratorios la prueba varía en cuanto a su duración que puede ir desde dos minutos hasta 30 minutos. En este periodo de tiempo, lo que se analiza es el comportamiento exploratorio y la respuesta ante ese ambiente “novedoso” (Gould, 2009, pp. 1-20) (Mora-Gallegos & Castillo, 2015, pp. 1-7).

#### *1.1.9.2.3. Laberinto en cruz elevado.*

El laberinto en cruz elevado (LCE) ha sido utilizado para medir el comportamiento incondicionado o espontáneo en roedores, creando un ambiente de aproximación y evitación. El LCE contiene dos brazos abiertos y dos brazos cerrados y se evalúa el tiempo y la frecuencia de entradas a ellos; además, se mide el “head-deeping” (que consiste en asomarse por debajo de los brazos abiertos), la postura de estiramiento, la exploración, la locomoción y el acicalamiento como indicadores del nivel de ansiedad y de la evaluación sobre la exploración en un ambiente desconocido (Walf, 2007, pp. 322-328) (Mora-Gallegos & Castillo, 2015, pp. 1-7).

El laberinto en cruz elevado ha sido ampliamente utilizado por sus ventajas en cuanto a la facilidad de la aplicación de la prueba, ya que en general se trata de una prueba simple que no requiere entrenamiento del animal (McNaughton, 2008, pp. 11-27) (Mora-Gallegos & Castillo, 2015, pp. 1-7).

Se ha validado el uso de esta prueba mediante el efecto de algunos fármacos ansiolíticos como es el caso del Diazepam en particular, y las benzodiacepinas en general; estos tipo de fármacos incrementan las entradas a brazos abiertos, mientras que fármacos ansiogénicos, como agonistas de receptores de 5-HT<sub>1B/2C</sub>, antagonistas de receptores de GABA, ocasionan el efecto contrario (Mora-Gallegos & Castillo, 2015, pp. 1-7).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

La investigación se basó en el estudio de la actividad ansiolítica del extracto de *Lavandula officinalis* en ratones (*Mus musculus*) en diferentes concentraciones, para lo que se utilizó equipos de medición exploratoria como: cuarto claro-oscuro, campo abierto y laberinto cruz elevado.

#### 2.1. Tipo y diseño de investigación.

La investigación se realizó en los laboratorios de: Productos Naturales, Análisis Instrumental y Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

#### 2.2. Identificación de la materia vegetal

Se recolectó el material vegetal y fue presentado en el Herbario Misael Acosta Solís de la Universidad Técnica de Ambato (AMAS) a cargo del curador PhD. José Homero Vargas López.

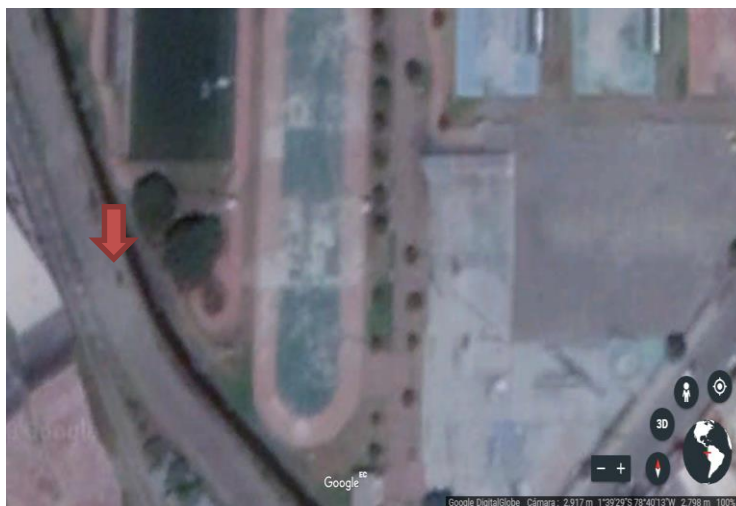
#### 2.3. Recolección de la materia vegetal.

Las muestras vegetales fueron recolectadas en el cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo, según las coordenadas geográficas emitidas por Google Earth los datos fueron:

Altitud: 2797 m.s.n.m.

Latitud: -1.658077777777778

Longitud: -78.6702972222223



**Figura 1-2:** Punto de Recolección de *Lavandula officinalis*

**Fuente:** Google earth

## 2.4. Materiales, equipos y reactivos

### 2.4.1. Material vegetal

Flores de *Lavandula officinalis*

### 2.4.2. Material biológico

Ratones (*Mus musculus*) de 2 a 3 meses, machos con un peso que oscile entre 25 a 30 g.

### 2.4.3. Lista de equipos, materiales y reactivos.

**Tabla 1-2** Lista de materiales, equipos y reactivos utilizados

Control de Calidad de materia prima		
Materiales	Equipos	Reactivos
Embudo	Balanza analítica	Ácido clorhídrico al 10%
Cápsulas	Mufla IVYMEN N-8LITROS 1100°C	Agua destilada
Pinzas para cápsulas	Molino Arthur H. Thomas C. O	Nitrato de Ag 0.1M
Vidrios reloj	Estufa Memmert SNB400	
Desecador	Sonicador	
Crisoles de porcelana		
Reverbero		
Papel filtro		
Vasos de Precipitación		

<b>Tamizaje Fitoquímico</b>		
<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Pipetas de 1mL, 5mL y 10mL Tubos de ensayo Pinzas para tubos de ensayo Frasco Ámbar 500mL Gradilla Papel filtro Vasos de precipitación de 250ml y 1000ml Pipetas pasteur Reverbero	Sorbona	Agua destilada Alcohol amílico Ácido clorhídrico al 1% Ácido clorhídrico concentrado Ácido sulfúrico concentrado Anhídrido sulfúrico concentrado Cloruro de sodio Cloroformo Cinta de magnesio metálico Cloruro Férrico Carbonato de sodio Etanol Éter Etílico Reactivo de Sudan III Reactivo de Mayer Reactivo de Dragendorff Reactivo de Wagner Reactivo de Borntrager Reactivo de FeCl3 Reactivo de Catequinas Reactivo de Fehling A y B Reactivo de Baljet Hidróxido de sodio al 5%
<b>Control de Calidad del Extracto Hidro alcohólico</b>		
<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Frasco ámbar 500mL Probeta 100mL Picnómetro 10mL Vasos de Precipitación 50ml, 250mL Cápsulas de porcelana Pinzas para cápsulas Pizeta Reverbero	pH-metro Refractómetro Estufa Memmert SNB400	Etanol 98% Agua destilada

<b>Obtención del extracto seco</b>		
<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Balón esmerilado 250mL Mangueras	Congelador Bomba de presión al vacío Rota vapor BUCHI R110 & B-465 Water Bath Sonicador Branson 2510	Agua destilada
<b>Cuantificación de Flavonoides y Fenoles</b>		
<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Balones de aforo de 25mL y 100ml Pipeta de 1ml 5mL y 10 ml Micropipeta de 250 µL Puntas amarillas Micropipeta Pizeta Papel aluminio Tubos de ensayo Cronómetro	Balanza analítica Vórtex mixer MRC S1-100 Espectrofotómetro Thermo Scientific Evolución 220	Agua destilada NaNO <sub>2</sub> al 5% NaOH AlCl <sub>3</sub> al 10% etanol Quercetina Ácido Gálico
<b>Evaluación de la Actividad Ansiolítica</b>		
<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Cajas de Plástico Rejillas Bebedores Frascos ámbar 50mL Jeringuilla 1mL Cánula pequeña	Balanza analítica Cámara D-link, acoplada a una estructura metálica Computadora	Propilenglicol Clonazepam 2.5 mg/mL vaselina Extracto 25, 100, y 200 mg/mL

Realizado por: Erika Inca, 2019

## 2.5. Métodos y Técnicas

### 2.5.1. Recolección, lavado y secado de la droga vegetal

#### 2.5.1.1. Secado

Las flores de *lavándula officinalis* fueron seleccionadas y secadas en la estufa de aire caliente a una temperatura que oscilaba entre 45° - 50°C.

### 2.5.1.2. Molienda

En el proceso de molienda de la droga vegetal se utilizó el molino de cuchillas giratorias, con trazas de 2-3 mm de espesor aproximadamente, cuyas dimensiones están óptimas para la realización de los parámetros de calidad de la droga vegetal, tamizaje fitoquímico y elaboración de extractos.

### 2.5.2. Parámetros de control de calidad en la droga vegetal

#### 2.5.2.1. Determinación de humedad

Se colocó en la cápsula previamente tarada 2- 3 g de droga vegetal molida a 105°C, se dejó en la estufa durante 3 h, para finalmente, trasladar al desecador y pesar.

#### Cálculo

$$\%H = \frac{m_2 - m_1}{m_2 - m} \times 100$$

Donde;

%H= Porcentaje de humedad

m= masa de la cápsula vacía (g)

m<sub>1</sub>= masa de la cápsula con la muestra desecada (g)

m<sub>2</sub>= masa de la cápsula con la muestra (g)

#### 2.5.2.2. Determinación de cenizas totales

Se colocó 2-3 g de muestra vegetal en el crisol previamente tarado, se procedió a carbonizar con ayuda del reverbero, posteriormente se incineró en la mufla a 700°C durante 2 horas, se colocó en el desecador para enfriar y se pesó.

#### Cálculo

$$\%C = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \times 100$$

Donde;

%C= contenido de cenizas en porcentaje de masa

m= masa del crisol vacío (g)

m<sub>1</sub>= masa del crisol con la muestra incinerada (g)

m<sub>2</sub>= masa del crisol con la muestra (g)

#### 2.5.2.3. *Determinación de cenizas solubles en agua.*

A partir de las cenizas totales, se añadió 15 ml de agua destilada, se cubrió con vidrio reloj y se calentó por 5 minutos. Posteriormente a la muestra se filtró, al papel filtro se colocó en el crisol y se procedió a carbonizar con ayuda del reverbero; para ser colocado en la mufla a 700°C por 2 horas para su incineración. Para finalizar el crisol fue colocado en el desecador y se pesó. (El ensayo se realizó por duplicado).

#### **Cálculo**

$$\%Ca = \frac{m_1 - m_a}{m_2 - m} \times 100$$

Donde;

%C= porcentaje de cenizas solubles en agua

m= masa del crisol vacío (g)

m<sub>a</sub>= masa del crisol con las cenizas solubles en agua (g)

m<sub>1</sub>= masa del crisol con la muestra incinerada (g)

m<sub>2</sub>= masa del crisol con la muestra (g)

#### 2.5.2.4. *Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.*

A las cenizas totales obtenidas, se añadió 2 ml de HCl 10%, se tapó con vidrio reloj y se procedió a calentar por 10 minutos en el reverbero. Se lavó el vidrio reloj con 5 ml de agua caliente para



retirar los residuos, el contenido se unió a la muestra del crisol. El contenido fue filtrado, se lavó por 3 ocasiones con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico (se colocó 2 gotas de nitrato de plata 0.1 mol) no presente cloruros. El filtrado con el residuo fue colocado en el crisol para ser carbonizado y llevado a la mufla a 700°C durante 2 horas. Finalmente, el crisol fue colocado en el desecador y se procedió a pesar.

### **Cálculo**

$$\%B = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

Donde;

%B= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

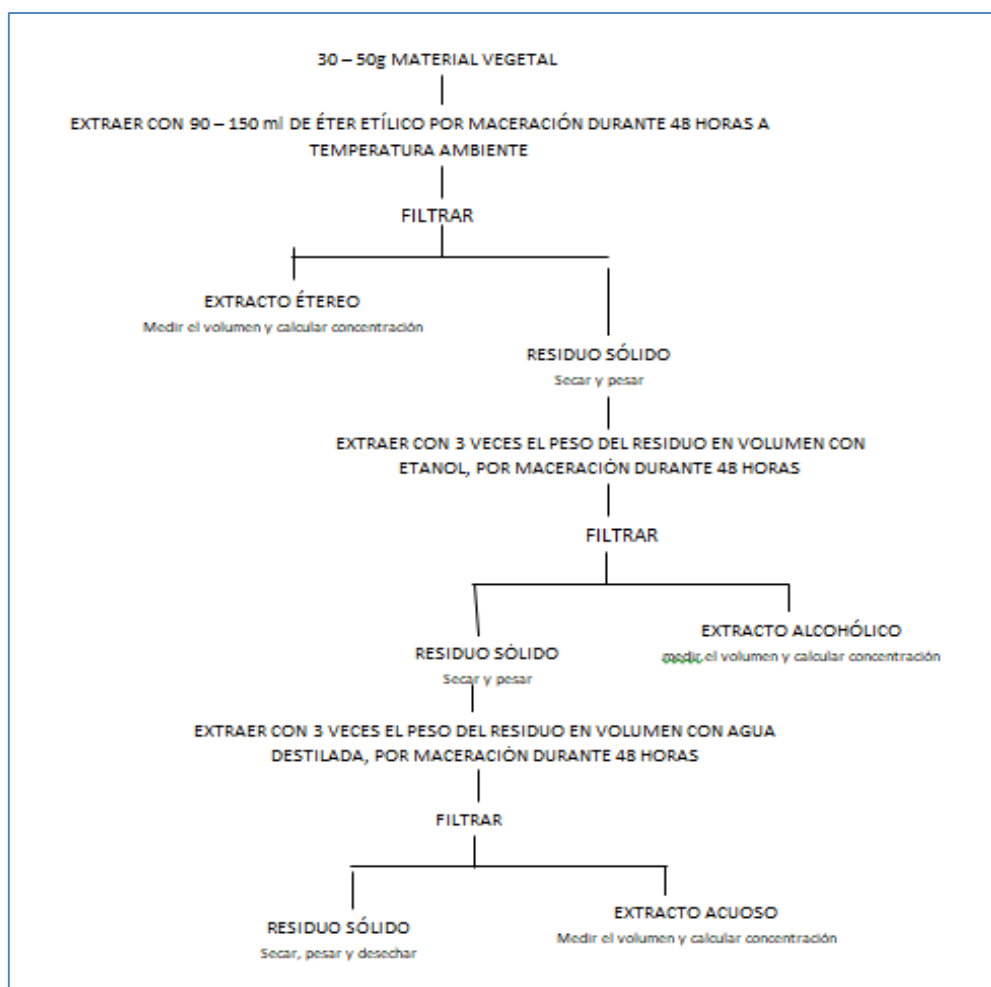
m= muestra utilizada (g)

m<sub>1</sub>= masa del crisol con la muestra (g)

m<sub>2</sub>= masa del crisol con la ceniza insolubles en ácido clorhídrico (g)

### ***2.5.3. Tamizaje o screening fitoquímico***

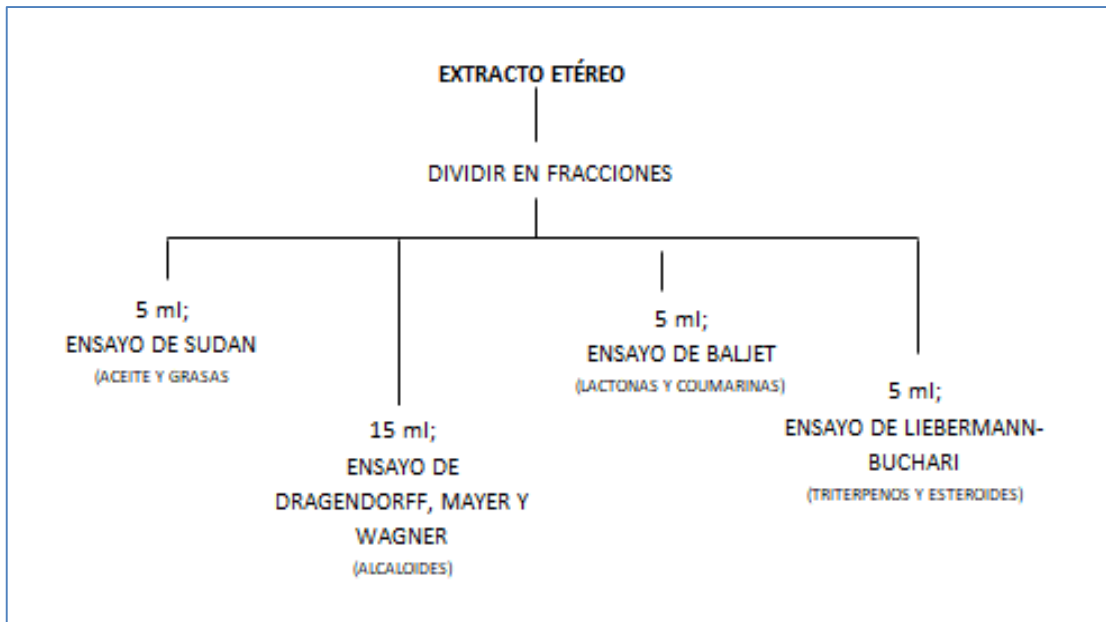
El tamizaje o *screening* fitoquímico es una etapa inicial de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los compuestos presentes en una planta. La extracción se realiza con solventes de polaridad creciente (éter de petróleo, etanol, agua) para garantizar la extracción.



**Figura 2-2:** Esquema para el Tamizaje Fitoquímico.

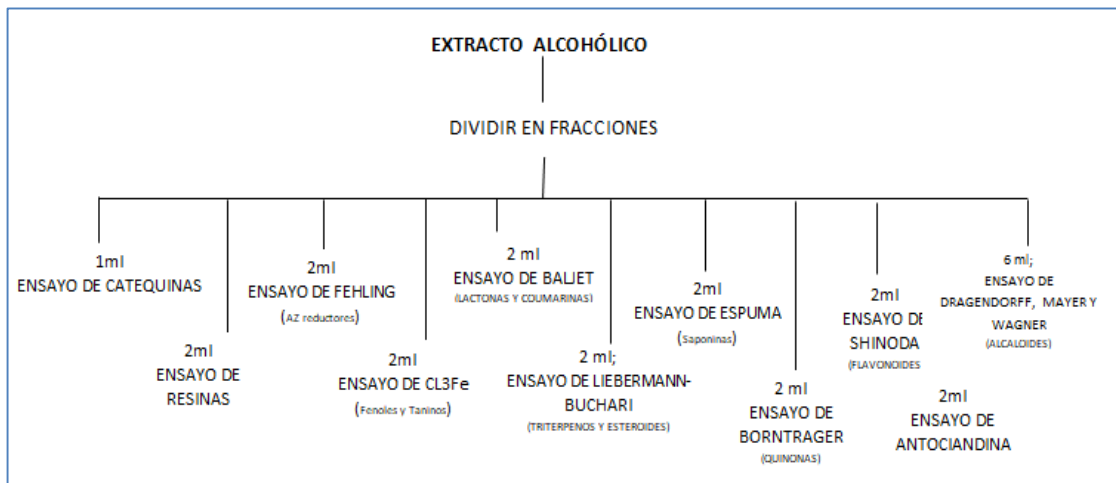
**Fuente:** Miranda M., 2006

Con los extractos obtenidos siguiendo el esquema de la Figura 2-2, se procedió a realizar los ensayos correspondientes para identificar los metabolitos secundarios y su afinidad a cada solvente. Los ensayos de cada extracto se encuentran a continuación.



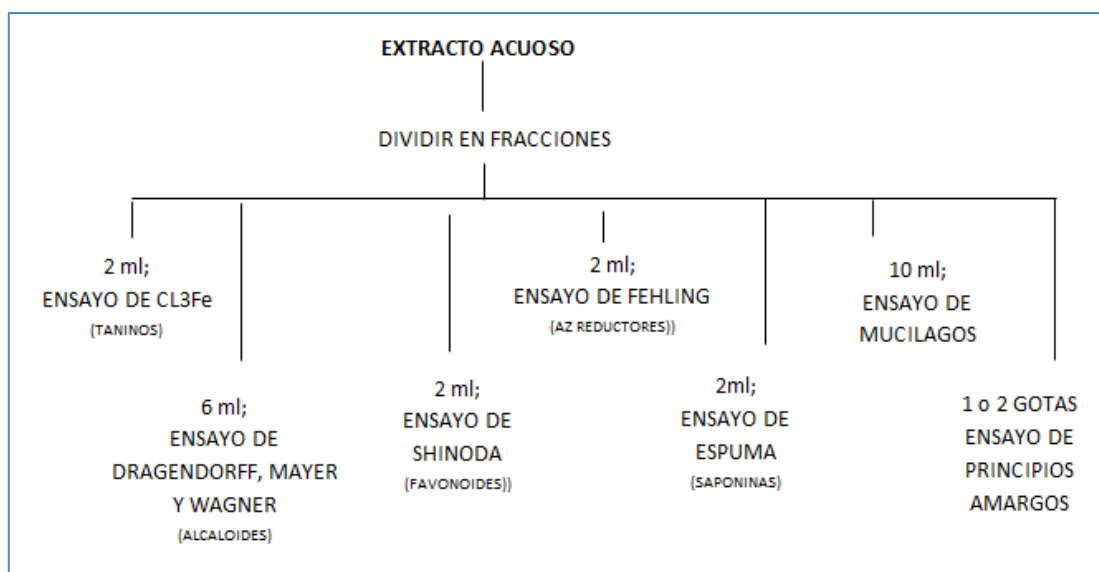
**Figura 3-2:** Esquema para el Tamizaje Fitoquímico del extracto etéreo

Fuente: Miranda M., 2006



**Figura 4-2:** Esquema para el Tamizaje Fitoquímico del extracto alcohólico.

Fuente: Miranda M., 2006



**Figura 5-2:** Esquema para el Tamizaje Fitoquímico del extracto acuoso.

**Fuente:** Miranda M., 2006

#### **2.5.4. Preparación del extracto hidroalcohólico**

Para la preparación del extracto hidroalcohólico, se pesó 50 g de la droga vegetal seca y molida de *Lavandula officinalis* y se colocó en un frasco ámbar con 500 mL de etanol al 70%, se dejó macerar por 72 horas con agitación constante en intervalos de tiempos cortos; el resultado se procede a filtrar, la solución resultante se concentró en el rotavapor, donde se obtuvo un extracto sin alcohol; posteriormente se procedió a congelar con nitrógeno y se liofilizó.

#### **2.5.5. Control de calidad del extracto hidroalcohólico**

##### **2.5.5.1. Requisitos organolépticos**

La evaluación de las características organolépticas se realizó a través de la visión, el olfato y el gusto; con este análisis se pretende determinar el color, olor, sabor y aspecto del extracto.

##### **2.5.5.2. Índice de refracción**

El ensayo se realizó en el refractómetro, donde se colocó dos gotas de la muestra sobre el prisma, se procede a cerrar el termoprismo y se enfoca la luz por medio del espejo, donde se visualizará la intersección del campo claro/oscuro y se procede a la lectura.

### 2.5.5.3. Medición de pH

En este ensayo se determinó mediante un pHmetro digital.

### 2.5.5.4. Determinación de densidad relativa

El ensayo se realizó con un picnómetro, donde se procedió a pesar para obtener la masa del picnómetro vacío, a continuación se llenó con el extracto a 25°C por 15 min y se pesó, se repite la operación con agua destilada a 25°C; para la obtención de los resultados se utilizó la siguiente fórmula:

$$D = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde;

D= densidad relativa (g/ml)

M= Peso del picnómetro vacío

M<sub>1</sub>= Peso del picnómetro con la muestra del extracto

M<sub>2</sub>= Peso del picnómetro con agua destilada

### 2.5.5.5. Determinación de sólidos totales

Para el ensayo se procedió a colocar 5 mL de extracto hidroalcohólico en la cápsula previamente tarada a 105°C y se evaporó a baño maría hasta que la muestra este aparentemente seca. Se colocó en la estufa por el lapso de 3 horas; luego fue colocado en el desecador hasta que alcance la temperatura ambiente y se pesa; para la obtención de los resultados se utilizó la siguiente fórmula:

$$ST = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

Donde;

ST= sólidos totales (%)

P= Peso de la cápsula vacía (g)

Pr= Peso de la cápsula con el residuo (g)

V= volumen de la porción del ensayo (ml)

100= factor matemático para el cálculo

#### ***2.5.6.Determinación de flavonoides totales***

Para el ensayo de flavonoides se tomó una alícuota de la muestra y de la solución patrón de quercetina, se añade 4 mL de agua destilada y 0.3 mL de NaNO<sub>2</sub> al 5%; se esperó 5 minutos y se añadió 0.3 mL de AlCl<sub>3</sub> al 10%; después de los 6 minutos se adicionarán 2 mL de NaOH 1M. Finalmente se mezclará y se dejará en reposo; la absorbancia se leyó a 510 nm en el espectrofotómetro.

#### ***2.5.7.Determinación de fenoles totales***

Para la determinación de fenoles totales se procedió a tomar alícuotas de la muestra y de las soluciones estándar de ácido gálico; se colocó 0.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu al 20%; se esperó 5 minutos y se añadió 0.5 mL de solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20% y 5 mL de agua destilada, se dejó reposar la mezcla durante dos horas, en un recipiente protegido de la luz y a temperatura ambiente. Finalmente, se procedió a realizar las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm.

#### ***2.5.8.Actividad ansiolítica***

Para la determinación de la actividad ansiolítica se empleó ratones machos de la especie *Mus musculus*, con un peso de 25g – 30g, cuya edad comprendía de 2 – 3 meses aproximadamente; fueron adquiridos en la Plataforma de Bioterios del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública “Dr. Leopoldo Izquieta Pérez” (INSPI); de la ciudad de Guayaquil.

Para el desarrollo de la investigación se utilizó las instalaciones del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia en la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo; los biomodelos fueron colocados en una habitación con macro-ambiente provisto de ventilación, temperatura que oscila de 21 – 23°C, poca iluminación (12h luz y 12h oscuridad), sin ruido. Los biomodelos fueron colocados aleatoriamente en cajas plásticas con rejillas, equipadas con tamo previamente esterilizado, comida y agua.

El extracto seco concentrado fue reconstituido con propilenglicol al 15%(vehículo); las dosis para la administración se detalla en la tabla 2-2 los biomodelos fueron sometidos a estrés, a cada uno

se administró 0,5 mL las concentraciones establecidas y se esperó 30 minutos para proceder al test de la actividad ansiolítica.

**Tabla 2-1** Grupos y dosis para la determinación de la actividad ansiolítica de flores *Lavandula officinalis*

	<b>Concentración</b>	<b>Número de ratones</b>	<b>Código</b>
<b>Propilenglicol</b>	15%	5	BLANCO
<b>Clonazepam</b>	0,5 mg/kg	5	CONTROL
<i>Lavandula officinalis</i>	25 mg/kg	5	D1-LO
	100 mg/kg	5	D3-LO
	200 mg/kg	5	D4-LO

Realizado por: Erika Inca, 2019

Se utilizaron tres equipos exploratorios que corresponden a las pruebas no condicionadas, los cuales ayudaron a determinar el comportamiento del biomodelo en cada una de las pruebas, con ayuda de un software que se basa en el procesamiento de imágenes para la obtención de datos siendo estos: EMIS para el campo abierto e ITOPI para cuarto claro oscuro y laberinto en cruz elevado.

#### 2.5.8.1. Equipo electrónico de medición “Cuarto Claro-Oscuro”.

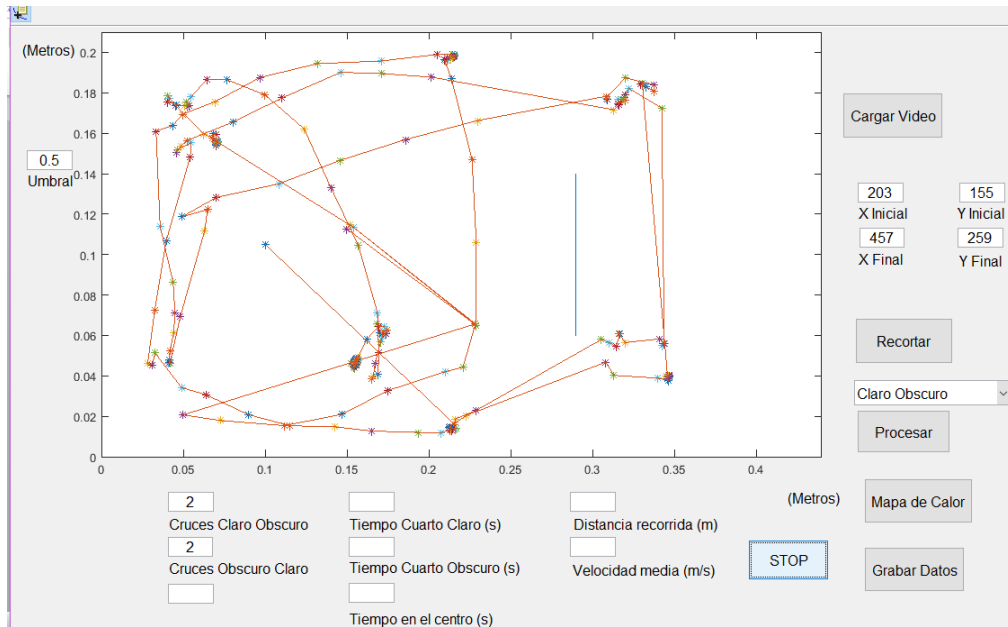
Es una caja rectangular, fabricada de polipropileno, el cual consta de dos partes divididos por una pequeña ranura (13cm x 5cm), donde el ratón puede desplazarse de una zona a otra. Los 2/3 del equipo constan de paredes transparentes, mientras en el 1/3 presenta paredes pintadas de negro (Vogel, 2008, p. 430), (Guerra, 2018, p. 41). El equipo se encuentra acoplado a una estructura metálica que está cubierta de una cortina color café en cuyo interior se localiza la cámara de video D-link.

El software que se utilizó es el ITOPI para el cuarto claro, el cual procesa los videos y recolecta los datos que se obtuvieron.



**Fotografía 3-3:** Equipo "Cuarto Claro-Oscuro"

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 1-2:** Aplicación ITOPI- "Cuarto Claro-Oscuro"

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Tabla 3-2** Interpretación de los resultados obtenidos en el Cuarto Claro-Oscuro

<b>Cruces claro-oscuro</b>	Mayor número de cruces mejora su locomoción
<b>Cruces oscuro-claro</b>	Mayor número de cruces mejora su locomoción
<b>Tiempo en el campo claro</b>	El roedor se encuentra tranquilo, relajado y busca espacios iluminados
<b>Tiempo en el campo oscuro</b>	El roedor está en estado ansioso por lo que busca lugares oscuros
<b>Distancia recorrida</b>	Mayor movimiento incrementa su locomoción
<b>Velocidad media</b>	Mejor desplazamiento lo que ayuda a incrementar su locomoción

Realizado por: Erika Inca, 2019

*2.5.8.2. Equipo electrónico de medición “Laberinto cruz elevado”.*

El equipo consta de dos brazos abiertos (30cm x 10cm) y dos brazos cerrados (30cm x 10cm x 20cm), los mismos que se encuentran conectados a la parte central, posee además un soporte de 38,5 cm ubicados desde el suelo a cada uno de los brazos; este equipo fue hecho de polipropileno y pintado de negro respectivamente (Walf & Frye, 2013, pp. 1-9), (Vogel, 2008, p. 434) (Guerra, 2018, p. 41).

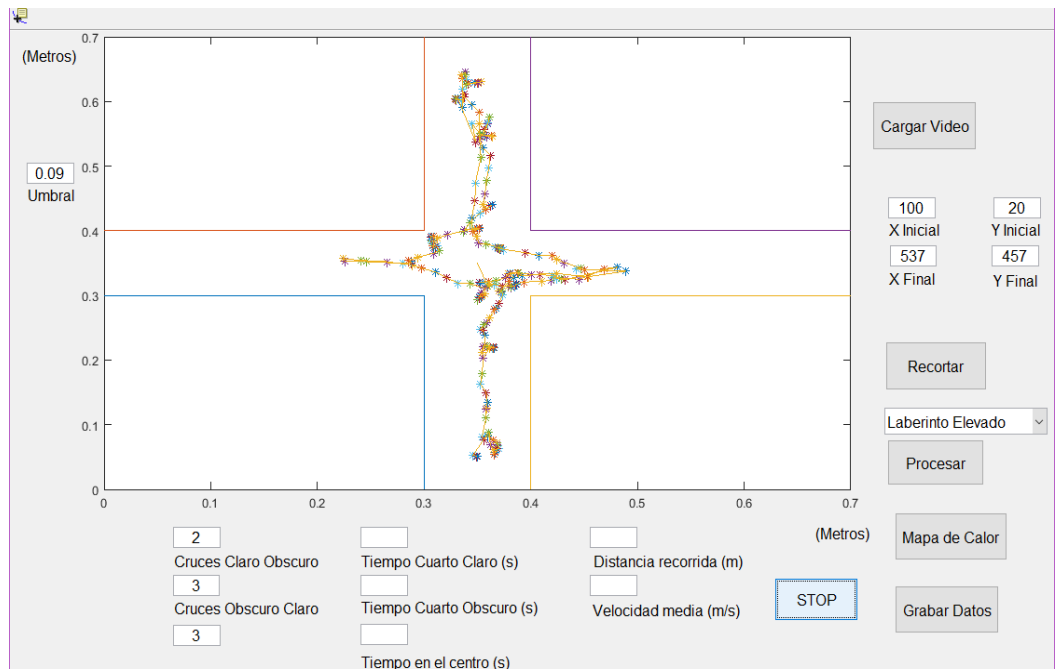
El equipo se encuentra acoplado a una estructura metálica, en la parte superior está cubierta de una cortina café que va impedir el paso de luz al equipo y en cuyo interior se localiza la cámara de video D.link.

El software que se utilizó fue el ITOPI, donde se procesarán los videos y se recolectarán los datos emitidos por dicha aplicación.



**Fotografía 4-4:** Equipo "Laberinto Cruz Elevado"

**Realizado por:** Erika Inca, 2019



**Gráfica 2-2:** Aplicación ITOPI-"Laberinto Cruz Elevado"

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

**Tabla 4-2** Interpretación de los resultados para cada uno de los parámetros medidos en el Laberinto cruz elevado

<b>Cruces brazo Abierto</b>	Entre mayor número de cruces, el roedor mejora su locomoción
<b>Cruces Brazo cerrado</b>	Entre mayor número de cruces, el roedor mejora su locomoción
<b>Tiempo en el centro</b>	El roedor intenta explorar otros ambientes
<b>Tiempo en el brazo abierto</b>	Entre mayor sea el tiempo que el roedor se encuentra en la zona estará menos ansioso
<b>Tiempo en el brazo cerrado</b>	El roedor está en su zona de confort por lo que se encuentra ansioso
<b>Distancia recorrida</b>	El roedor se encuentra relajado por lo que se desplaza más
<b>Velocidad media</b>	Mejor desplazamiento lo que ayuda a incrementar su locomoción

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

### 2.5.8.3. Equipo electrónico de medición “Campo abierto”.

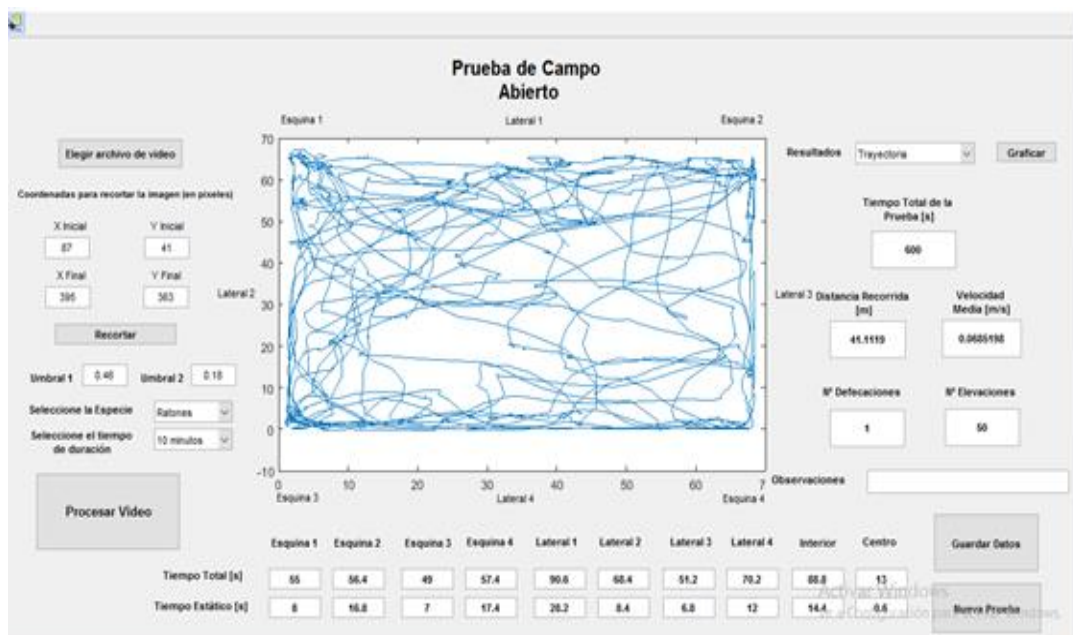
El test del Campo abierto se define como un área amplia, abierta de forma cuadrada, fabricada de polipropileno, los laterales son fabricados de material transparente con dimensiones de 68cm x 68cm; su altura de 45cm (Vogel, 2008, pp. 391-392), (Zurita, 2018, pp. 42-44). El equipo se encuentra acoplado a una estructura metálica cubierta por una cortina café, en la parte interna se localiza la cámara de video marca D-link. (Fotografía 5-5)

A través de la aplicación EMIS se procedió a ejecutar dichos videos para la obtención de datos.



**Fotografía 5-5:** Equipo "Campo Abierto"

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfico 3-2:** Aplicación EMIS "Campo Abierto"

Realizado por: Erika Inca, 2019

**Tabla 5-2** Interpretación de los resultados obtenidos en el Campo Abierto

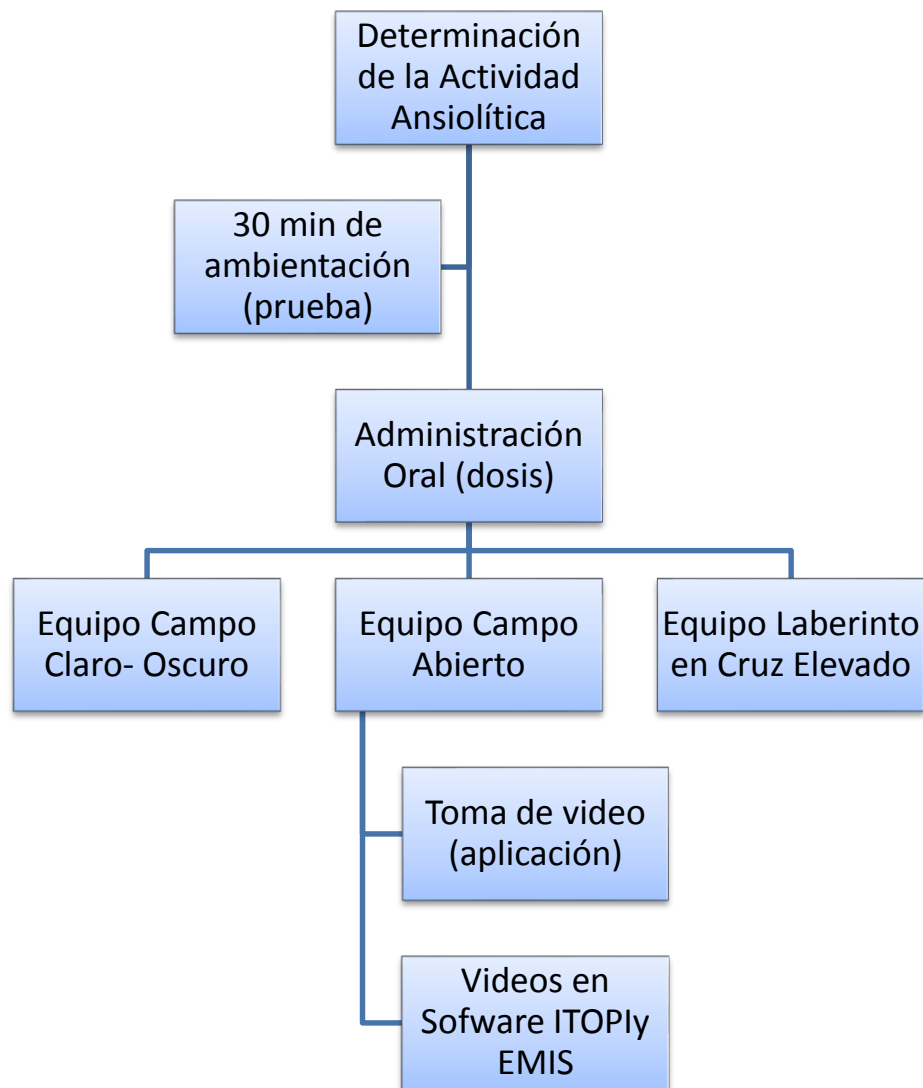
<b>Numero de elevaciones</b>	El roedor tiende a elevarse más cuando está ansioso.
<b>Numero de defecaciones</b>	Entre más defecaciones tenga el roedor se encuentra más ansioso.
<b>Tiempo en los laterales</b>	El roedor se encuentra ansioso y tiende a permanecer en lugares donde no se expone.
<b>Tiempo en las esquinas</b>	El roedor ansioso permanece en zonas donde se siente seguro y menos expuesto.
<b>Tiempo en el interior</b>	El roedor relajado explora ambientes luminosos cercanos el centro
<b>Tiempo en el centro</b>	El roedor se encuentra relajado y explorando ambientes nuevos.
<b>Distancia recorrida</b>	Cuando la distancia recorrida por el roedor es mayor, esta indica que la locomoción no ha sido afectada.
<b>Velocidad media</b>	Mayor desplazamiento realizado por el roedor tiende a tener buena locomoción

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

#### *2.5.8.4. Procedimiento de la utilización de los equipos*

Para el desarrollo de los ensayos se tomaron en cuenta los POES que se encuentran archivados en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, donde la primera etapa consistió en armar el equipo, se procedió a desinfectar con etanol al 10%; para posteriormente prender la cámara y establecer conexión con la computadora mediante la red, previamente se instalaron las aplicaciones (ITOPI, EMIS).

Los ratones fueron colocados en el equipo con los diferentes tratamientos especificados en la tabla..., el tiempo de los ensayos varió de acuerdo al equipo (5min – 15min). Al finalizar los ensayos se desconectó la red y se hizo clic en guardar los videos en la PC y se desinfectó el equipo. Mediante el software utilizado se procedió a procesar los videos para obtener los resultados, los datos extraídos fueron guardados en Excel para posteriores análisis.



**Figura 6-2:** Flujograma para Determinar la Actividad Ansiolítica

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

### 2.5.9. Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados estadísticamente en el programa IBM® SPSS® statistics versión 22, donde se verificó si los datos obtenidos cumplen con los requisitos fundamentales para el análisis estadístico; siendo estos, la normalidad (distribución normal) y homogeneidad de varianzas

Se realizó la distribución normal con la prueba de Shapiro-Wilk que exhibe alta potencia, lo que lleva a buenos resultados incluso con un pequeño número de observaciones, para la verificación de los datos.

El análisis de varianzas (ANOVA) se utilizó para ver si existe diferencia establecida utilizada en los tratamientos:

Hipótesis nula ( $H_0$ ): los parámetros en los diferentes tratamientos son iguales al valor hipotético

Hipótesis alternativa ( $H_a$ ): existe al menos un parámetro distinto a los tratamientos

De ANOVA se obtuvo que algunos tratamientos son menores al valor de significancia ( $< 0,01$ ), lo que establece que al menos un parámetro es diferente al tratamiento. Para identificar que tratamiento es diferente se utilizó el test post hoc Tukey.

El test post hoc Tukey sirve para determinar si la relación entre dos conjuntos de datos es estadísticamente significativa, es decir, es una forma de probar una hipótesis experimental y tomar una decisión sobre los tratamientos utilizados.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

#### 3.1. Resultados de control de calidad de la droga cruda de flores de *Lavandula officinalis*

**Tabla 1-3** Resultados obtenidos del Control de Calidad de droga cruda de flores de *L. officinalis*

<b>PARÁMETRO</b>	<b>Flores de Lavanda (<i>Lavandula officinalis</i>)</b>	<b>Límites de referencia</b>	<b>Normativa</b>
<b>Humedad (%)</b>	9,06±0,009	Hasta 14%	USP# 35
<b>Cenizas totales (%)</b>	7,651±0,006	Hasta 12%	USP# 35
<b>Cenizas solubles en agua (%)</b>	5,803±0,012	Hasta 7%	USP# 35
<b>Cenizas insolubles en HCl (%)</b>	1,948±0,023	Hasta 5%	USP# 35

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 1-3 se puede visualizar que los resultados obtenidos en la humedad de las flores de Lavanda (*Lavandula officinalis*), están dentro de los rangos permitidos según USP 35. El valor de 9,06% señala que se va a evitar la proliferación de microorganismos, ya que un valor superior al límite permitido favorecería el crecimiento de bacterias y hongos.

La determinación de cenizas se realizó mediante el método gravimétrico, se obtuvo en cenizas totales un valor de 7,651%, mientras que de cenizas solubles en agua fue de 5,803% y el valor de cenizas insolubles en HCl de 1,948. Todos los resultados están dentro de los rangos que establece la USP 35; las cenizas totales sirvieron para la conocer la presencia de ciertos minerales presentes en la droga vegetal, una elevación en este resultado indicaría la presencia de alguna alteración en



los procesos de recolección y almacenamiento. Las cenizas solubles en agua determinan la presencia de metales pesados en la droga vegetal y las cenizas insolubles en HCl 10% nos permite identificar la presencia de sílica, arena y tierra silíceas en la droga vegetal (Sharapin, 2000, pp. 149-150) (Pallo Sarabia, 2013).

### 3.2. Resultados del Tamizaje Fitoquímico

**Tabla 2-3:** Resultados adquiridos del Tamizaje fitoquímico de las flores *L. officinalis*

TIPO DE ENSAYO	COMPUESTO IDENTIFICADO	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
<b>SUDÁN</b>	Grasas	+	N/A	N/A
<b>BALJET</b>	Lactonas y cumarinas	-	-	N/A
<b>DRAGENDORFF</b>	Alcaloides	+++	+++	+++
<b>MAYER</b>	Alcaloides	-	-	-
<b>WAGNER</b>	Alcaloides	+++	+++	+++
<b>LIBERMANN</b> <b>BOUCHARD</b>	Triterpenos y esteroides	+++	+++	N/A
<b>CATEQUINAS</b>	Catequinas	N/A	+	N/A
<b>RESINAS</b>	Resinas	N/A	-	N/A
<b>FEHLING</b>	Azúcares	N/A	+	+
<b>CLORURO FÉRRICO</b>	Compuestos fenólicos	N/A	++	++
<b>ESPUMA</b>	Saponinas	N/A	-	+
<b>BORTRAGER</b>	Quinonas	N/A	-	N/A
<b>SHINODA</b>	Flavonoides	N/A	+++	+++
<b>ANTOCIANIDINAS</b>	Secuencias de grupos de flavonoides	N/A	+++	N/A
<b>MICÍLAGOS</b>	Polisacáridos	N/A	N/A	+
<b>PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES</b>		N/A	N/A	+

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 2-3 se presentan los resultados obtenidos en el estudio fitoquímico de las flores de *Lavandula officinalis* por orden de polaridad creciente según el solvente (éter de petróleo, etanol y agua). Dichos metabolitos secundarios son los responsables de las propiedades medicinales de las plantas utilizadas para mejorar la calidad de vida de la población.

Se identificó la presencia de ciertos metabolitos secundarios como: alcaloides, terpenos, compuestos fenólicos, flavonoides; en menor concentración azúcares, catequinas, mucílagos, grasas y espuma.

Los terpenos son compuestos aromáticos y volátiles presentes en las plantas, se han realizado investigaciones biológicas de plantas nativas e introducidas en el país y ha revelado un amplio espectro de propiedades farmacológicas y fisiológicas (Justin N. Kabera, 2014, pp. 377-392).

Los compuestos fenólicos se caracterizan por tener propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas (Justin N. Kabera, 2014, pp. 377-392). Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular comunes en las plantas superiores.

La amplia gama de las actividades biológicas que exhiben los flavonoides se atribuyen a la diversidad en su estructura química y al tipo de flavonoide encontrado (Karim, et al., 2018, pp. 1-10). Cumplen muchas funciones como la coloración de las flores en tonalidades desde amarilla, roja o azul diseñados para atraer a los animales polinizadores (Justin N. Kabera, 2014, pp. 377-392).

Los alcaloides están presentes en toda la planta, por la presencia de nitrógeno cumple con la función de protección frente a ciertos insectos por su sabor amargo, dentro de las propiedades farmacológicas cumplen con la propiedad de ser alucinógeno o depresor del SNC (Arango, 2008, pp. 6-13).

Los resultados obtenidos de *Lavandula officinalis* se compararon con la investigación titulada “*Phytochemical screening of a medicinal plant: Lavandula*”, determinándose que los alcaloides en los tres solventes dan negativo mientras que en la presente investigación resultaron presentes; esto puede deberse a la especie, zona geográfica, época del año y la parte utilizada para el estudio.

### 3.3. Resultado del control de calidad del extracto hidroalcohólico de las flores de lavanda (*Lavandula officinalis*)

**Tabla 3-3** Resultados del control de calidad del extracto hidroalcohólico de las flores de *L. officinalis*---

Parámetro	Extracto hidroalcohólico de las flores de Lavanda ( <i>Lavandula officinalis</i> )
<b>CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS</b>	
<b>Olor</b>	Alcohólico aromático
<b>Color</b>	Verde oliva
<b>Aspecto</b>	Turbio
<b>Sabor</b>	Amargo ligeramente astringente
<b>CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS</b>	
<b>Índice de refracción</b>	1,365
<b>pH</b>	5,91
<b>Densidad relativa</b>	0,8904 g/ml
<b>Sólidos totales (%)</b>	2,08

Realizado por: Erika Inca, 2019

Las características organolépticas del extracto hidroalcohólico de las flores de lavanda fueron propias del solvente utilizado.

Se obtuvo un pH de 5,91 siendo ligeramente ácido, el rango expuesto por otras investigaciones esta entre 5,8 a 6,8; esto se podría dar por los metabolitos secundarios encontrados como alcaloides, flavonoides, taninos y terpenos.

Se obtuvo una densidad relativa de 0,8904g/ml, con relación a las Investigaciones hechas existe una pequeña diferencia con los obtenidos en la presente investigación, esto se pudo dar por el tiempo de conservación, la temperatura, entre otros.

Un índice de refracción de 1,365 al ser comparados con el índice de refracción del agua, se concluye que es mayor por lo cual se puede decir que existen metabolitos disueltos en dicho extracto.

El valor de los sólidos totales fue de 2,08 según la farmacopea USP 35 debe ser menor a 1,30, los datos indican existe gran cantidad de metabolitos disueltos.

### 3.4. Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu

**Tabla 4-3** Resultados de la cantidad de Fenoles totales de las Flores de *L. officinalis*

Extracto hidroalcohólico de flores de <i>L. officinalis</i>	Fenoles totales expresados como mg equivalentes de ácido gálico por g de extracto seco	Porcentaje
100 ppm en etanol al 70%	47,52±0,75	4,75±0,08

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

En la Tabla 4-3 se puede observar los fenoles totales que se obtuvo del extracto hidroalcohólico de *L. officinalis* a 100 ppm siendo el valor de 47,52 mg de ácido gálico equivalente por gramo de extracto seco. En un estudio del 2014 (Zahra Rabiei, 2014) se estableció una cantidad de 76.8 mg de ácido gálico equivalente/ g de materia seca pero se desconoce a qué concentración o parte de la planta se utilizó.

El valor medicinal de *L. officinalis* también ha sido bien reconocido, especialmente en lo que respecta a sus actividades antioxidantes y antiinflamatorias. Los resultados mostraron que el extracto hidroalcohólico de Lavanda tiene un alto contenido de compuestos fenólicos y una alta actividad antioxidante lo que puede prevenir los daños producidos por los radicales libres (Zahra Rabiei, 2014).

### 3.5. Cuantificación de flavonoides totales por colorimetría

**Tabla 5-3:** Resultados de la cantidad de flavonoides totales de las Flores de *L. officinalis*

Extracto hidroalcohólico seco de flores de <i>L. officinalis</i>	Flavonoides totales expresados como mg equivalentes de quercetina por g de extracto seco	Porcentaje
100 ppm en etanol al 70%	17,44±0,84	1,74±0,08

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

En la Tabla 5-3 se puede observar la cantidad de flavonoides totales obtenidos a 100 ppm del extracto hidroalcohólico. El valor obtenido fue de 17,44 mg equivalentes de quercetina por g de extracto seco: según (Zahra Rabiei, 2014) los compuestos totales de flavonoides fueron de 20,6 mg de equivalente en rutina por gramo de extracto seco. Por lo que no se puede realizar la comparación ya que usaron dos estándares distintos.

Los flavonoides han demostrado ser agentes ansiolíticos muy selectivos que carecen de efectos adicionales en el SNC, al ser uno de los productos naturales más importantes utilizados en todo el mundo, estos son compuestos de bajo peso molecular presentes como metabolitos secundarios en plantas superiores (Karim N, 2018).

### 3.6. Actividad ansiolítica

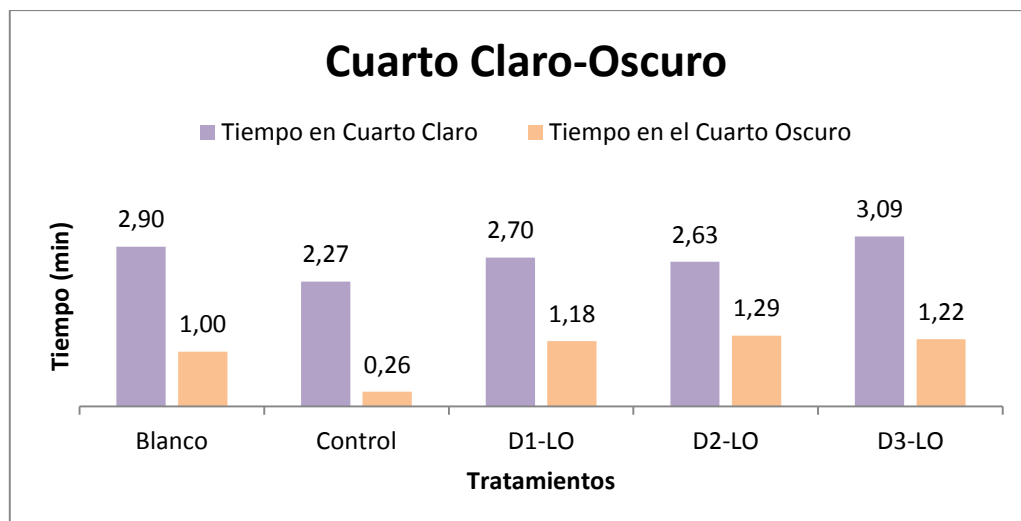
#### 3.6.1. Equipo electrónico de medición “Campo Claro-Oscuro”

##### 3.6.1.1 . Tiempo en el Cuarto Claro, Mitad y Cuarto Oscuro

**Tabla 6-3:** Resultados adquiridos del tiempo en cuarto claro y oscuro

<b>Grupos</b>	<b>Tiempo en Cuarto Claro (min)</b>	<b>Tiempo en el Cuarto Oscuro (min)</b>
<b>Blanco</b>	2,90	1,00
<b>Control</b>	2,27	0,26
<b>D1-LO</b>	2,70	1,18
<b>D2-LO</b>	2,63	1,29
<b>D3-LO</b>	3,09	1,22

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 1-3:** Tiempos de estancia en el Cuarto Claro y Oscuro en los diferentes tratamientos

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la tabla 6-3 y grafica 1-3 se detalla el tiempo promedio que el ratón permanece en el cuarto claro y oscuro, se puede observar que los valores en el cuarto claro son similares, destacando el tratamiento D3-LO con 3,09 minutos que corresponde a la dosis de 200ppm; mientras que el valor del control fue de 2,27 minutos. El tiempo en el cuarto oscuro es mayor para el control con 0,26 minutos seguido del blanco.

En referencia al Blanco puedo decir como al roedor no se sometió a estrés este se encuentra en su zona de confort, a su vez el tiempo del ensayo puede interferir debido que los primeros dos minutos exploran la zona y al ser un equipo pequeño no se tiene dato relevantes para determinar la actividad ansiolítica.

**Tabla 7-3:** Test ANOVA para el Tiempo Cuarto Claro y Tiempo Cuarto Oscuro

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>TIEMPO_CUA RTO_CLARO</b>	Entre grupos	1,904	4	,476	2,499	,075
	Dentro de grupos	3,810	20	,190		
	Total	5,714	24			
<b>TIEMPO_CUA RTO_OSCUR O</b>	Entre grupos	3,533	4	,883	17,931	,000
	Dentro de grupos	,985	20	,049		
	Total	4,518	24			

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 7-3 se puede visualizar los valores obtenidos en el test ANOVA, donde nos indica que los datos adquiridos en el tiempo cuarto claro son mayores, por lo tanto, se concluye que el tiempo en el cuarto claro, en los 5 tratamientos se puede aceptar la hipótesis nula al no existir diferencias significativas.

En la tabla 7-3 se puede observar los valores del test ANOVA, donde indica que los datos del tiempo en el cuarto oscuro presentan una menor valor respecto a la significancia; por lo que existe diferencias estadísticamente significativas, debiéndose realizar el test de TUKEY.

**Tabla 8-3:** Test TUKEY para el Tiempo Cuarto Claro y Tiempo Cuarto Oscuro

**TIEMPO\_CUARTO\_CLARO**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	
Control	5	2,2688	
Dosis 2	5	2,6277	
Dosis 1	5	2,7025	
Blanco	5	2,9034	
Dosis 3	5	3,0872	
Sig.		,053	

**TIEMPO\_CUARTO\_OSCURO**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Control	5	,2636	
Blanco	5		,9961
Dosis 1	5		1,1832
Dosis 3	5		1,2213
Dosis 2	5		1,2866
Sig.		1,000	,271

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

En la Tabla 8-3 se observa el tiempo en el cuarto claro, existe una sola agrupación de datos indicando que estadísticamente el comportamiento del control, tratamientos y el blanco es similar; mientras que en el cuarto oscuro, hay la formación de dos subgrupo homogéneos, siendo el de mayor significancia el que está conformado solo por el control, estadísticamente se puede decir que los extractos utilizados no tiene actividad ansiolítico en este equipo ya que no se agrupan con

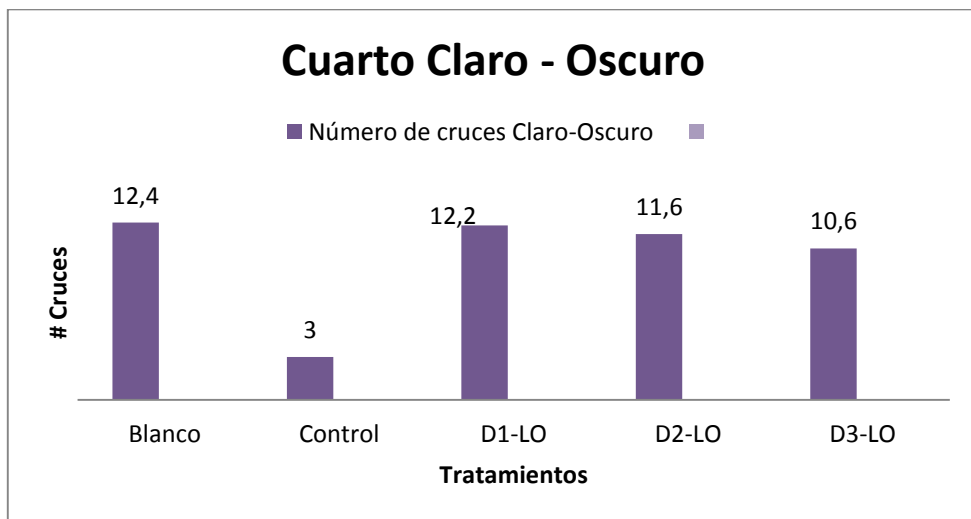
el control positivo, esto puede deberse al tiempo del ensayo ejecutado así como también al ambiente en el momento de realizar la prueba, ya que va a influir en el comportamiento del roedor.

3.6.1.2. Número de cruces Cuarto Claro-Oscuro, Distancia recorrida y Velocidad media

**Tabla 9-3:** Resultados de número de cruces del cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y velocidad media

Grupos	Número de cruces Claro-Oscuro	Distancia recorrida	Velocidad media
<b>Blanco</b>	12,4	12,93	0,04
<b>Control</b>	3	4,01	0,01
<b>D1-LO</b>	12,2	12,19	0,04
<b>D2-LO</b>	11,6	12,53	0,04
<b>D3-LO</b>	10,6	14,46	0,05

Realizado por: Erika Inca, 2019



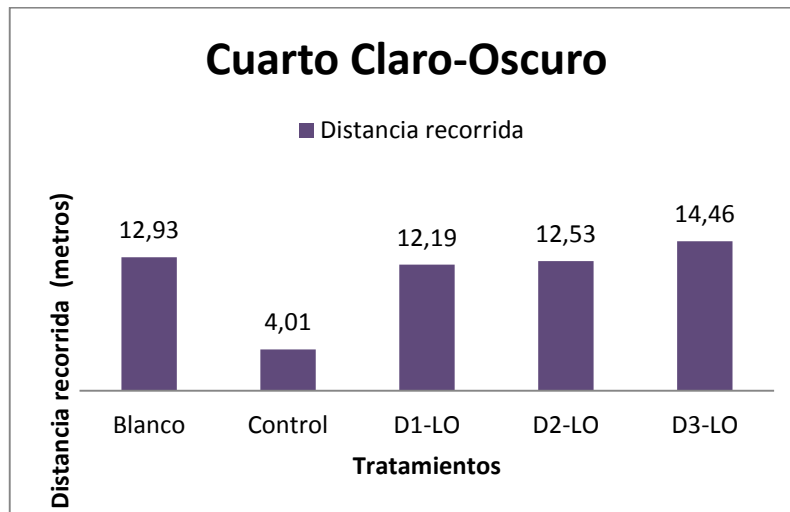
**Gráfica 2-3:** Número de cruces del Cuarto Claro y Oscuro en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 9-3 y la gráfica 2-3 se detalla el número de cruces realizados por los roedores. El blanco presenta un mayor número de cruces, esto puede deberse a que se administró únicamente propilenglicol, es decir, un vehículo que no debería y no afectó su locomoción, mientras que el control está completamente inmóvil esto se debe al medicamento que se utilizó (Clonazepam) que

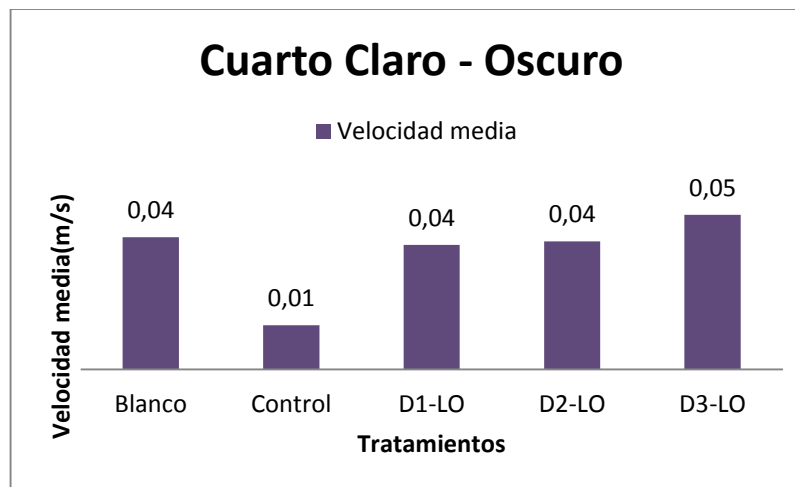


deprime su movimiento afectando a la locomoción. En tanto que, con el extracto a medida que aumenta la concentración disminuye el número de cruces.



**Gráfica 3-3:** Distancia Recorrida en los diferentes tratamientos

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 4-3:** Velocidad Media en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la tabla 9-3 y las gráficas 3-3 y 4-3; en referencia a la velocidad media y a la distancia recorrida se puede observar que el blanco y las dosis utilizadas no afectan la locomoción. La dosis D3-LO presenta una mayor distancia recorrida y velocidad media con 14,46 metros y 0,05m/s respectivamente, los valores del blanco difieren de los resultados emitidos con el control.

**Tabla 10-3:** Test ANOVA para cruces de cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y velocidad media

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>CRUCES_CLARO _OSCURO</b>	Entre grupos	319,600	4	79,900	10,486	,000
	Dentro de grupos	152,400	20	7,620		
	Total	472,000	24			
<b>DISTANCIA_MED IA</b>	Entre grupos	481,549	4	120,387	17,006	,000
	Dentro de grupos	141,586	20	7,079		
	Total	623,135	24			
<b>VELOCIDAD_ME DIA</b>	Entre grupos	,004	4	,001	9,895	,000
	Dentro de grupos	,002	20	,000		
	Total	,006	24			

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 10-3 se puede observar los resultados del test ANOVA, indica los datos analizados respecto a los cruces del cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y la velocidad media, que el valor de 0,000 es menor a la significancia; existiendo diferencias estadísticamente significativas por lo que se realiza el test TUKEY.

**Tabla 11-3:** Test TUKEY para cruces de cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y velocidad media

CRUCES_CLARO_OSCURO			
HSD Tukey <sub>a</sub>			
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
<b>Control</b>	5	2,8000	
<b>Dosis 3</b>	5	9,2000	9,2000
<b>Dosis 2</b>	5		11,6000
<b>Blanco</b>	5		12,2000
<b>Dosis 1</b>	5		12,2000
<b>Sig.</b>		,012	,446

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

### DISTANCIA\_MEDIA

#### HSD Tukey<sup>a</sup>

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Control	5	1,4960	
Dosis 3	5	7,4321	7,4321
Dosis 1	5		12,1872
Dosis 2	5		12,5284
Blanco	5		12,9277
Sig.		,016	,028

### VELOCIDAD\_MEDIA

#### HSD Tukey<sup>a</sup>

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Control	5	,0105	
Dosis 3	5	,0248	,0248
Dosis 1	5		,0406
Dosis 2	5		,0417
Blanco	5		,0431
Sig.		,207	,064

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 11-3 se puede observar los resultados obtenidos en relación al número de cruces del cuarto claro-oscuro y distancia recorrida. Se agrupan en dos subgrupos homogéneos, el grupo con mayor significancia es el conformado por el blanco y todos los tratamientos, lo que indica que la locomoción no se ve afectada. De igual forma en la velocidad media se forman dos subgrupos homogéneos, siendo el de mayor significancia el que está agrupado por el control y el tratamiento D3-LO por lo que se concluye que se ve afectada la locomoción en el desplazamiento del roedor en el tiempo estimado por el ensayo.

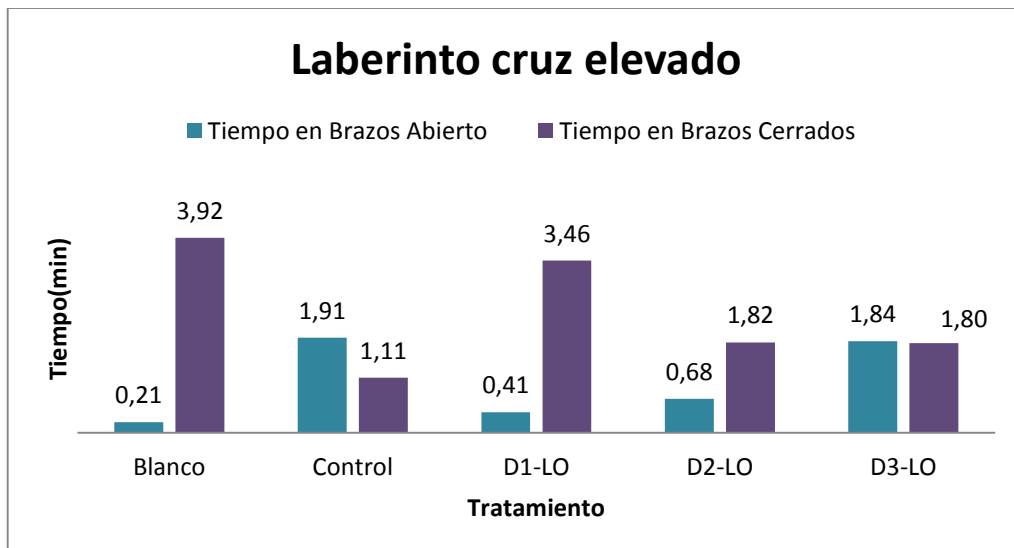
### 3.6.2. Equipo electrónico de medición “Laberinto en elevado en cruz”

#### 3.6.2.1. Tiempo en brazos abiertos y cerrados

**Tabla 12-3** Resultados del tiempo en Brazos Abiertos y Brazos Cerrados

Grupos	Tiempo en Brazos Abierto (min)	Tiempo en Brazos Cerrados (min)
Blanco	0,21	3,92
Control	1,91	1,11
D1-LO	0,41	3,46
D2-LO	0,68	1,82
D3-LO	1,84	1,80

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 5-3:** Tiempo en brazos abierto y brazos cerrados en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la tabla 12-3 y gráfico 5-3 se observa el promedio de los tiempos en los brazos abiertos. El control con un tiempo de permanencia de 1,91 minutos se asemeja al tiempo que permanece el roedor con el tratamiento D3, a medida que las dosis aumentan la duración del ratón en esta zona

de igual forma se incrementa, mientras que en los brazos cerrados el blanco, D2-LO y D1-LO (100 y 25ppm) permanecen más tiempo siendo un indicativo de ansiedad y estrés.

**Tabla 13-3:** Test ANOVA para el Tiempo en brazos abiertos, y brazos cerrados

**ANOVA**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>TIEMPO_B_A BIERTO</b>	Entre grupos	13,080	4	3,270	7,687	,001
	Dentro de grupos	8,508	20	,425		
	Total	21,589	24			
<b>TIEMPO_B_C ERRADOS</b>	Entre grupos	27,333	4	6,833	8,076	,000
	Dentro de grupos	16,922	20	,846		
	Total	44,255	24			

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la tabla....se puede observar los valores adquiridos en el test ANOVA, donde indica el tiempo en brazos abiertos y el tiempo en brazos cerrados, siendo el valor de 0,000 menor a la significancia; al existir diferencias estadísticamente significativas se realiza el test TUKEY.

**Tabla 14-3:** Test TUKEY para el Tiempo en brazos abiertos y brazos cerrados

**TIEMPO\_BRAZOS\_ABIERTO**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
<b>Blanco</b>	5	,2099	
<b>Dosis1</b>	5	,4094	,4094
<b>Dosis2</b>	5	,6815	,6815
<b>Dosis3</b>	5		1,8424
<b>Control</b>	5		1,9125
<b>Sig.</b>		,782	,012

## TIEMPO\_BRAZOS\_CERRADOS

HSD Tukey<sub>a</sub>

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
<b>Control</b>	5	1,1060	
<b>Dosis3</b>	5	1,8003	1,8003
<b>Dosis2</b>	5	1,8658	1,8658
<b>Dosis1</b>	5		3,4631
<b>Blanco</b>	5		3,8205
<b>Sig.</b>		,691	,018

Realizado por: Erika Inca, 2019

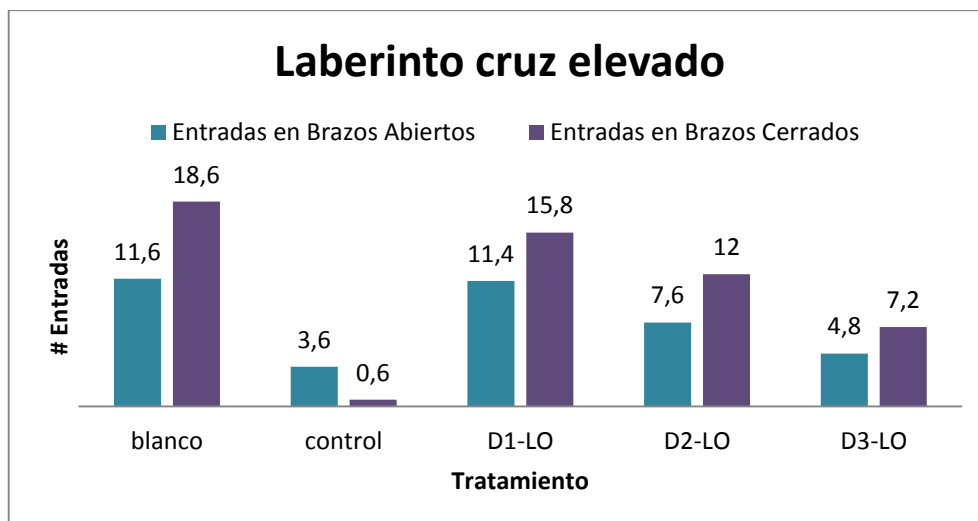
En la Tabla 14-3 respecto al tiempo en los brazos abiertos se puede visualizar la formación de dos subgrupos homogéneo; el grupo de mayor significancia está conformado por el blanco con los tratamientos D1-LO y D2-LO concluyendo que a estas dosis no existe actividad ansiolítica, en relación al tiempo en los brazos cerrados se ve la agrupación de dos subgrupos homogéneo, el de mayor significancia está formado por el control con los tratamientos D3-LO y D2-LO, por lo que se dice que la permanencia en los brazos cerrados es menor. Sin embargo, el tratamiento D2-LO presentó un tiempo similar en los brazos abierto como en los cerrados, por lo que no se podría hacer una conclusión precisa en cuanto a la dosis de 100 ppm

### 3.6.2.2. Entradas en brazos abiertos y cerrados

**Tabla 15-3** Resultados del número de Entradas a Brazos Abiertos y Brazos Cerrados

Grupos	Entradas en Brazos Abiertos	Entradas en Brazos Cerrados
<b>Blanco</b>	11,6	18,6
<b>Control</b>	3,6	0,6
<b>D1-LO</b>	11,4	15,8
<b>D2-LO</b>	7,6	12
<b>D3-LO</b>	4,8	7,2

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 6-3:** Entradas en brazos abiertos y brazos cerrados en los diferentes tratamientos

Realizado por: Erika Inca, 2019

Con respecto al número de entradas a los brazos abierto y cerrados como se detallan en la Tabla 15-3 y en la Gráfica 6-3 se puede observar que el mayor número de entradas a la zona de los brazos cerrados es el blanco en comparación al control.

**Tabla 16-3:** Test ANOVA del número de Entradas a Brazos Abiertos y Brazos Cerrados

#### ANOVA

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>ENTRADAS_B_ ABIERTO</b>	Entre grupos	4	67,600	8,579	,000
	Dentro de grupos	20	7,880		
	Total	24			
<b>ENTRADAS_B_ CERRADO</b>	Entre grupos	4	255,340	24,552	,000
	Dentro de grupos	20	10,400		
	Total	24			

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 16-3 se puede observar los valores adquiridos en el test ANOVA, donde nos indica los datos adquiridos en las entradas a los brazos abiertos y entradas a los brazos cerrados, es menor a la significancia; existiendo diferencias estadísticamente significativas por lo que se debe realizar el test TUKEY.

**Tabla 17-3:** Test TUKEY del número de Entradas a Brazos Abiertos y Brazos Cerrados.

**ENTRADAS\_BRAZOS\_ABIERTOS**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01		
		1	2	3
Control	5	3,6000		
Dosis3	5	4,8000	4,8000	
Dosis2	5	7,6000	7,6000	7,6000
Dosis1	5		11,4000	11,4000
Blanco	5			11,6000
Sig.		,201	,011	,201

**ENTRADAS\_BRAZOS\_CERRADOS**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01		
		1	2	3
Control	5	,6000		
Dosis3	5	7,2000	7,2000	
Dosis2	5		12,0000	12,0000
Dosis1	5			15,8000
Blanco	5			18,6000
Sig.		,030	,170	,030

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

En cuanto a las entradas de brazos abiertos en la Tabla 17-3 se puede visualizar la formación de tres subgrupos homogéneos; el grupo de mayor significancia presenta la agrupación conformada por el control con los tratamientos D3-LO y D2-LO, lo que nos dice que existe una depresión en la locomoción mientras que el otro grupo está formado por el blanco con los tratamientos D2-LO y D1-LO respectivamente, lo que se concluye que no afectan a la locomoción.

En la Tabla 17-3 de las entradas a los brazos cerrados se puede observar la formación de tres subgrupos homogéneos; el grupo de mayor significancia está formado por los tratamiento D3-LO, D2-LO y D1-LO pro no se encuentra agrupado con el blanco o con el control; el otro grupo está conformado por el control y el tratamiento D3-LO por lo que existe una depresión locomotora al estar agrupada con el control, y el último grupo se encuentra el blanco con los tratamientos D2-LO y D1-LO, concluyendo que estadísticamente no existe una afectación en la locomoción.

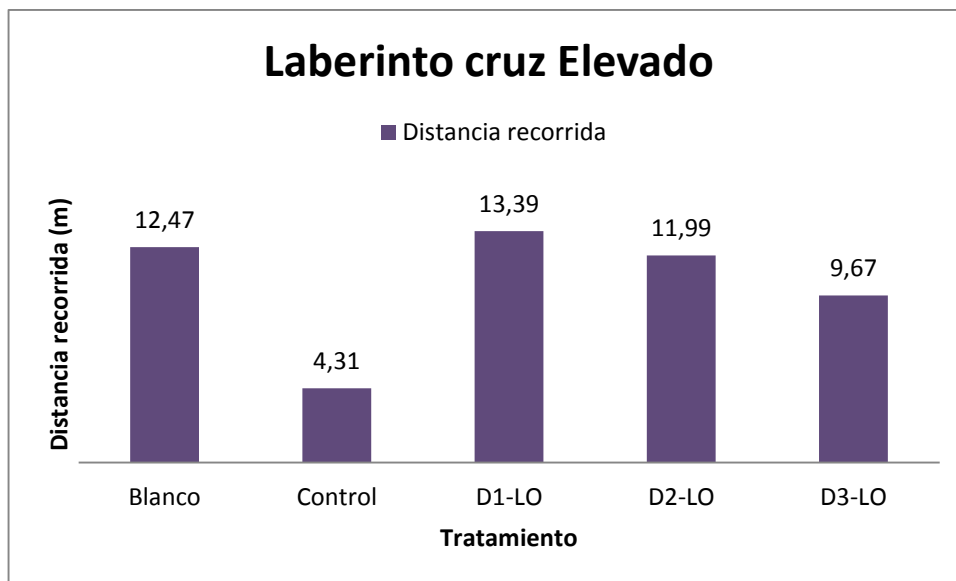


### 3.6.2.3. Distancia recorrida y velocidad media

**Tabla 18-3:** Resultados de la distancia Recorrida y Velocidad media

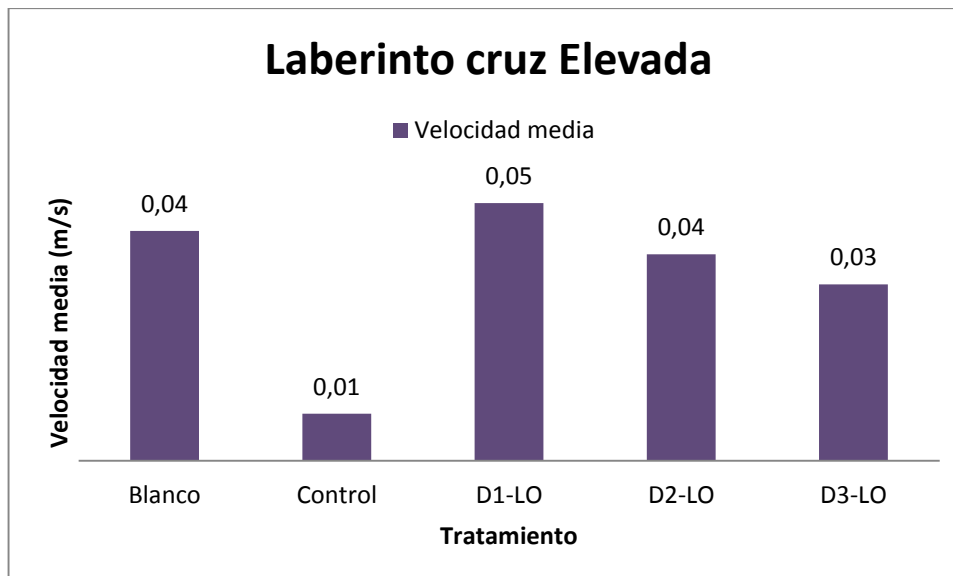
Grupos	Distancia recorrida	Velocidad media
Blanco	12,47	0,04
Control	4,31	0,01
D1-LO	13,39	0,05
D2-LO	11,99	0,04
D3-LO	9,67	0,03

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 7-3:** Distancia recorrida en los diferentes tratamientos

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Grafica 8-3:** Velocidad media en los diferentes tratamientos

Realizado por: Erika Inca, 2019

En las Tablas 18-3 y las Gráficas 7-3 y 8-3 se puede observar la distancia recorrida y la velocidad media en el equipo de Laberinto en Cruz Elevado, donde el blanco y el tratamiento D1-LO (25ppm) presentan mayor desplazamiento a comparación del control que son mínimos; con respecto a los dos tratamientos D2-LO y D3-LO; se puede concluir que estos datos son importantes debido que es un indicativo de la locomoción que puede presentar el ratón

**Tabla 19-3:** Test ANOVA de Distancia recorrida y Velocidad media-

**ANOVA**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>VELOCIDAD_MEDIA</b>	Entre grupos	,005	4	,001	9,409	,000
	Dentro de grupos	,003	20	,000		
	Total	,007	24			
<b>DISTANCIA_RECORRIDA</b>	Entre grupos	266,869	4	66,717	7,636	,001
	Dentro de grupos	174,740	20	8,737		
	Total	441,609	24			

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 19-3 se puede observar los valores adquiridos en el test ANOVA, donde indica que los datos adquiridos de la velocidad media y la distancia recorrida, son menores a la significancia; por lo que se realiza el test TUKEY.

**Tabla 20-3:** Test TUKEY para Distancia recorrida y Velocidad media

**VELOCIDAD\_MEDIA**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
<b>Control</b>	5	,0085	
<b>Dosis3</b>	5	,0319	,0319
<b>Dosis2</b>	5		,0353
<b>Blanco</b>	5		,0456
<b>Dosis1</b>	5		,0466
<b>Sig.</b>		,026	,270

**DISTANCIA\_RECORRIDA**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
<b>Control</b>	5	4,3064	
<b>Dosis3</b>	5	9,6693	9,6693
<b>Dosis2</b>	5		11,9925
<b>Blanco</b>	5		12,4653
<b>Dosis1</b>	5		13,3854
<b>Sig.</b>		,064	,307

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

En relación a la velocidad media y a la distancia recorrida en la Tabla 20-3 se ve la formación de dos subgrupos homogéneos, siendo el de mayor significancia el grupo formado por el blanco con todos los tratamientos, concluyendo que los extractos administrados no afectan a la locomoción del roedor.

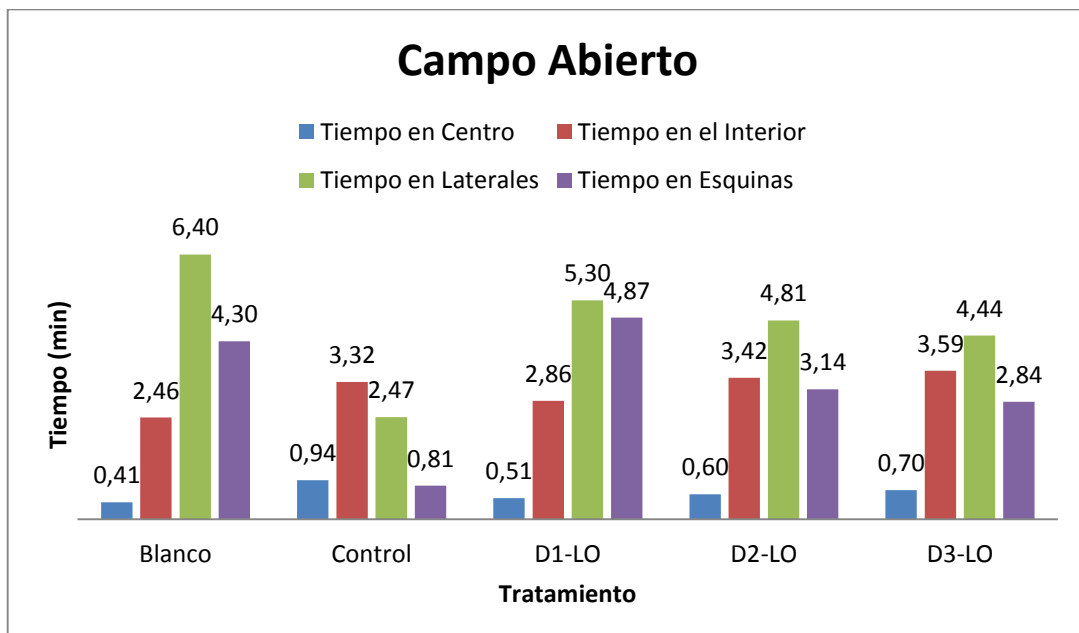
### 3.6.3. Equipo electrónico de medición “Campo Abierto”

#### 3.6.3.1. Tiempo en el Centro, Interior, Laterales y Esquinas

**Tabla 21-3:** Resultados del tiempo en el centro, interior, esquinas y laterales

Grupos	Tiempo en Centro	Tiempo en el Interior	Tiempo en Laterales	Tiempo en Esquinas
Blanco	0,41	2,46	6,40	4,30
Control	0,94	3,32	2,47	0,81
D1-LO	0,51	2,86	5,30	4,87
D2-LO	0,60	3,42	4,81	3,14
D3-LO	0,70	3,59	4,44	2,84

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 9-3:** Tiempos de estancia en el centro, interior, laterales y esquina en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Erika Inca, 2019

En cuanto a los tiempos en el centro, interior, laterales y en las esquinas se detalla el promedio obtenido en minutos en la Tabla 21-3 y su representación en la gráfica 9-3 con esto podemos decir que el mayor tiempo en los laterales y esquinas fue el blanco y D1-LO (25ppm). Mientras que el control y los tratamientos D3-LO y D2-LO (200 y 100ppm) permanecieron más tiempo en el centro y en el interior. De esta manera se puede concluir que en este equipo y con estos parámetros las dosis utilizadas tienen una probable actividad ansiolítica.

Comparando con los resultados obtenidos en el estudio de *Hypericum laricifolium* se puede decir que las dosis que tienen mayor actividad sedante son las de 100 y 200 ppm, en cambio el estudio de *Peperomia peltigera* las dosis que tiene este efecto es de 25 ppm siendo estos similar al control en ambas investigaciones. Por lo que se concluye que el estudio de *Lavandula officinalis* y *Hypericum laricifolium* las dosis utilizadas son similares por ende existe una probabilidad de tener un efecto sedante pero se desconoce el nivel de toxicidad.

**Tabla 22-3:** Test ANOVA para el tiempo en el centro, interior, esquinas y laterales

		<b>ANOVA</b>				
		<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>TIEMPO_CENTRO</b>	Entre grupos	,511	4	,128	5,752	,003
	Dentro de grupos	,444	20	,022		
	Total	,955	24			
<b>TIEMPO_INTERIOR</b>	Entre grupos	39,100	4	9,775	7,279	,001
	Dentro de grupos	26,856	20	1,343		
	Total	65,956	24			
<b>TIEMPO_LATERAL</b>	Entre grupos	41,624	4	10,406	10,168	,000
	Dentro de grupos	20,468	20	1,023		
	Total	62,092	24			
<b>TIEMPO_ESQUINA</b>	Entre grupos	71,483	4	17,871	52,830	,000
	Dentro de grupos	6,765	20	,338		
	Total	78,249	24			

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 22-3 se puede observar los valores obtenidos en el test ANOVA, que indica que los datos del tiempo en el centro, interior, laterales y esquinas, es menor a la significancia; existiendo diferencias estadísticamente significativas por lo que realiza el test TUKEY.

**Tabla 23-3:** Test TUKEY para el tiempo en el centro, interior, esquinas y laterales

**TIEMPO\_CENTRO**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Blanco	5	,0235	
Dosis1	5	,0949	,0949
Dosis2	5	,2694	,2694
Dosis3	5	,3657	,3657
Control	5		,3762
Sig.		,013	,051

**TIEMPO\_INTERIOR**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Blanco	5	,2220	
Dosis1	5	,6091	
Control	5	2,4834	2,4834
Dosis3	5	2,7254	2,7254
Dosis2	5		3,4220
Sig.		,020	,705

**TIEMPO\_LATERAL**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Control	5	2,4666	
Dosis3	5	4,4382	4,4382
Dosis2	5	4,8059	4,8059
Dosis1	5		5,2959
Blanco	5		6,4040
Sig.		,012	,042

**TIEMPO\_ESQUINA**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01		
		1	2	3
Control	5	,4762		
Dosis3	5	1,3050		
Dosis2	5		3,1377	
Blanco	5		4,2988	4,2988
Dosis1	5			4,8744
Sig.		,201	,036	,535

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 23-3 se puede visualizar los resultados obtenidos en cuanto al tiempo en el interior y en el centro, se observa la formación de dos subgrupos homogéneos; donde el grupo de mayor significancia presenta el control con todos los tratamientos, mientras que en el interior se encuentra el control y las tratamientos de las D3-LO y D2-LO; por lo tanto se concluye que las flores de *L. officinales* en este equipo y en estos parámetros tienen actividad ansiolítica.

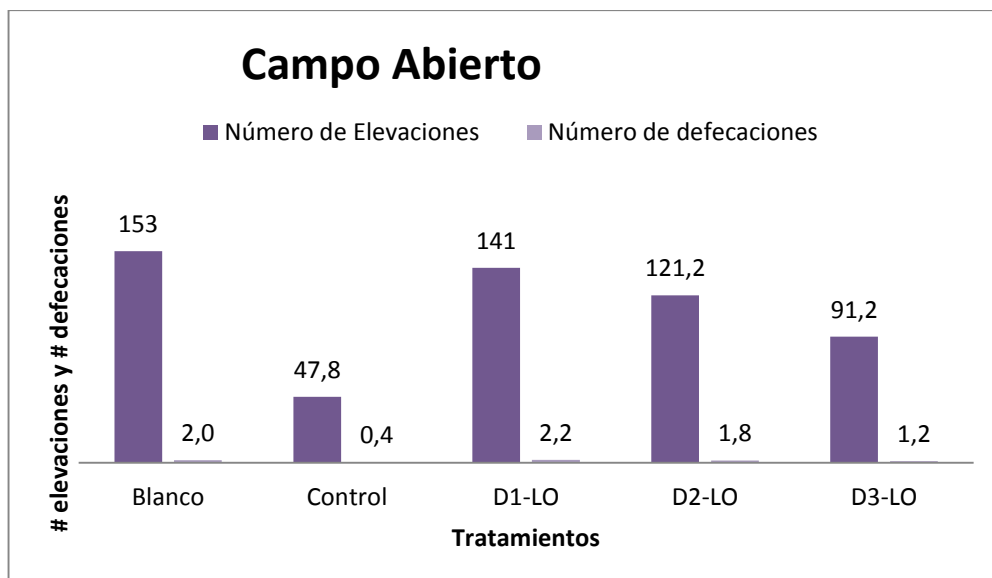
En la Tabla 23-3 se visualiza que en los resultados del tiempo en los laterales se forman de 2 subgrupos homogéneos; donde el de mayor significancia está conformado por el blanco y todos los tratamientos; por lo que se concluyó que la actividad sedante disminuyó en este parámetro. En cuanto al tiempo en las esquinas se visualizó la formación de 3 subgrupos homogéneos; donde el de mayor significancia es del grupo formado por el blanco y el tratamiento D1-LO, por lo que se concluye que esta dosis que se utilizó no tiene actividad ansiolítica.

### 3.6.3.2. Número de defecaciones y elevaciones

**Tabla 24-3:** Resultados del Número de Elevaciones y Defecaciones

<b>Grupos</b>	<b>Número de Elevaciones</b>	<b>Número de defecaciones</b>
<b>Blanco</b>	153	2,0
<b>Control</b>	47,8	0,4
<b>D1-LO</b>	141	2,2
<b>D2-LO</b>	121,2	1,8
<b>D3-LO</b>	91,2	1,2

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 10-3:** Número de elevaciones y defecaciones en los diferentes tratamientos

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la Tabla 24-3 y en la gráfica 10-3 se puede observar el número de elevaciones y defecaciones que se obtuvieron en el equipo de campo abierto. El número de elevaciones es mayor en el blanco en comparación con el control, este parámetro define la actividad emocional que presenta el ratón.

Con respecto al número de defecación se puede observar que el control se agrupa con la D3-LO mientras que el blanco se asocia con las D2-LO y D1-LO. Cabe recalcar que este parámetro da a conocer el nivel de ansiedad que presenta el ratón.

**Tabla 25-3:** Test ANOVA para el Número de Elevaciones y Defecaciones

### ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>ELEVACIONES</b>	Entre grupos	25719,760	4	6429,940	13,706	,000
	Dentro de grupos	9382,400	20	469,120		
	Total	35102,160	24			
<b>DEFECACIONES</b>	Entre grupos	10,640	4	2,660	4,586	,009
	Dentro de grupos	11,600	20	,580		
	Total	22,240	24			

Realizado por: Erika Inca, 2019

En la tabla 25-3 se puede visualizar los valores obtenidos en el test ANOVA, el cual indica que los datos de las defecaciones es 0,009 es mayor que el nivel de significancia, por lo tanto se



concluye que el número de defecaciones en los 5 tratamientos no presentan diferencias estadísticamente hablando.

En la tabla 25-3 se puede observar los valores adquiridos en el test ANOVA, donde indica que los datos de las elevaciones son menores a la significancia; por lo que al existir diferencias estadísticamente significativas se realiza el test TUKEY.

**Tabla 26-3:** Test TUKEY para el Número de Elevaciones y Defecaciones

### ELEVACIONES

#### HSD Tukey<sub>a</sub>

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01		
		1	2	3
Control	5	65,8000		
Dosis3	5	91,2000	91,2000	
Dosis2	5		121,2000	121,2000
Dosis1	5		141,0000	141,0000
Blanco	5			153,0000
Sig.		,372	,013	,179

### DEFECACIONES

#### HSD Tukey<sub>a</sub>

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01
		1
Control	5	,4000
Dosis3	5	1,2000
Dosis2	5	1,8000
Blanco	5	2,0000
Dosis1	5	2,2000
Sig.		,010

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

En la tabla 26-3 se puede visualizar los resultados que se obtuvieron en el test de TUKEY para el número de elevaciones en el equipo campo abierto, donde se reflejó la formación de 3 subgrupos homogéneos, el grupo de mayor significancia está formada por el control y el tratamiento D3-LO, que señala que el nivel de actividad emocional es menor en comparación con los otros tratamientos; seguido del grupo formado por el blanco y los tratamientos D2-LO y D1-LO donde el nivel de actividad emocional incrementa al estar comparado con el blanco. Por otro lado, en las

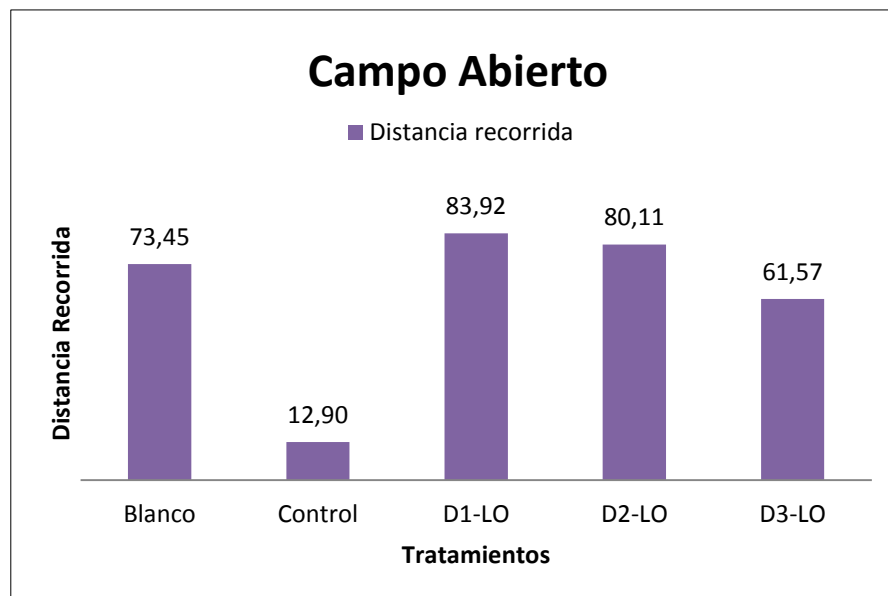
defecaciones existe un subgrupo homogéneo, indicando que no existen diferencias estadísticamente significativas

### 3.6.3.3. Distancia recorrida y Velocidad media

**Tabla 27-1:** Resultados de la Distancia Recorrida y Velocidad media

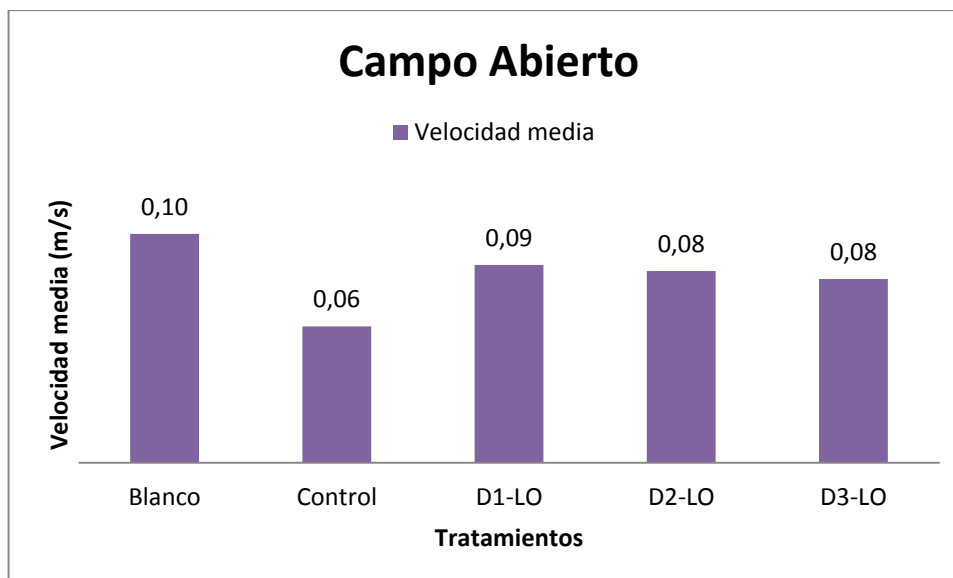
Grupos	Distancia recorrida	Velocidad media
Blanco	73,45	0,10
Control	12,90	0,06
D1-LO	83,92	0,09
D2-LO	80,11	0,08
D3-LO	61,57	0,08

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 11-3:** Distancia Recorrida en los diferentes tratamientos

Realizado por: Erika Inca, 2019



**Gráfica 12-3:** Velocidad media en los diferentes tratamientos

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

En la tabla 27-3 y las gráficas 11-3 y 12-3 se puede observar la distancia recorrida y la velocidad media en el equipo Campo Abierto, donde el blanco y los tratamiento D1-LO, D2-LO y D3-LO (25, 100 y 200ppm) presentan mayor desplazamiento a comparación del control que es mínimo.

**Tabla 28-3:** Test ANOVA para Distancia Recorrida y Velocidad media

**ANOVA**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
VELOCIDAD_M EDIA	Entre grupos	,004	4	,001	5,203	,005
	Dentro de grupos	,004	20	,000		
	Total	,008	24			
DISTANCIA_RE CORRIDA	Entre grupos	24151,772	4	6037,943	83,605	,000
	Dentro de grupos	1444,401	20	72,220		
	Total	25596,173	24			

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

En la tabla...se puede observar los valores obtenidos en el test ANOVA, el cual indica que los datos de la velocidad media y la distancia recorrida son menores a la significancia; si existe diferencias estadísticamente significativas se realiza el test TUKEY.

**Tabla 29-3:** Test TUKEY para Distancia Recorrida y Velocidad media

**DISTANCIA\_RECORRIDA**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Control	5	12,8963	
Dosis3	5		61,5658
Blanco	5		73,4454
Dosis2	5		80,1077
Dosis1	5		83,9231
Sig.		1,000	,022

**VELOCIDAD\_MEDIA**

**HSD Tukey<sub>a</sub>**

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Control	5	,0592	
Dosis3	5	,0798	,0798
Dosis2	5	,0832	,0832
Dosis1	5	,0859	,0859
Blanco	5		,0993
Sig.		,053	,230

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

**Realizado por:** Erika Inca, 2019

En la Tabla 29-3 en referencia a la distancia recorrida y a la velocidad media se visualizó la formación de 2 subgrupos homogéneos; en cuanto a la velocidad media el grupo de mayor significancia está formado por el blanco y los tratamientos D3-LO, D2-LO y D1-LO, lo que permite concluir que los extractos no afectan la locomoción ya que se agrupa con el blanco, mientras que en la distancia recorrida, el grupo de mayor significancia presenta el conformado por el control concluyendo que el Clonazepam deprime la actividad locomotora.

#### 3.6.4. *Discusión general de los resultados*

Los extractos en el equipo del Cuarto Claro Oscuro no presentan actividad ansiolítica. Respecto a la velocidad media, el número de cruces del cuarto claro a oscuro y la distancia recorrida no se ven afectados, por lo que *L. officinalis* no disminuye ni altera la locomoción. Cabe recalcar que el tiempo de análisis en este equipo puede influir en la obtención de los datos.

En cuanto al Laberinto en Cruz Elevado, la D1-LO (25ppm) no posee actividad ansiolítica por tener valores similares al blanco utilizado en el ensayo. El tratamiento D3-LO estadísticamente posee una leve actividad al ser comparado con el control (Clonazepam). El tiempo de permanencia en las transiciones se puede definir como un elemento de comportamiento de "asistencia estirada", que refleja una tendencia de evitar el acercamiento a ciertas zonas. En cuanto al número de entradas a los brazos abiertos y cerrados, velocidad media y distancia recorrida se puede concluir que a las dosis utilizadas no afectan a la actividad locomotora.

Con respecto al equipo Campo Abierto, estadísticamente se observa que el extracto en las diferentes dosis presenta valores similares al control en cuanto al tiempo en el centro y en el interior, lo que define que éstas dosis tienen actividad sedante. Este equipo se define como una prueba de entorno novedoso por tener más parámetros a ser evaluados, permitiendo así un análisis más concreto respecto a la actividad ansiolítica, por ejemplo, el aumento de la luz y el ruido afectan en la defecación y las elevaciones. Por lo tanto, se pueden considerar como un indicio de la respuesta emocional. Sin embargo, no hay que dejar de lado que las pruebas y los resultados pueden depender de la especie, la cepa, el sexo y el tamaño de la muestra. En cuanto a la velocidad media y a la distancia recorrida se puede decir que no afectan a la locomoción.

#### TRATAMIENTO D3-LO CORRESPONDIENTE A DOSIS DE 200 ppm (*Lavandula officinalis*)

La actividad ansiolítica en esta dosis es buena, debido a que, al analizar los tiempos en los brazos abiertos del equipo Laberinto Cruz Elevado se mostraron estadísticamente similares a los expuestos por el control. De igual forma, el tiempo de permanencia en el centro e interior del equipo Campo Abierto presentaron valores semejantes a los del control. Respecto a los parámetros de distancia recorrida, velocidad media, entrada en brazos abiertos y cerrados del equipo Laberinto Cruz Elevado, presentaron valores similares a lo expuesto por el blanco por lo que no afecta su locomoción. Según bibliografía las dosis utilizadas son mínimas por lo que en *Ameliorative Effects of Hydroalcoholic Extract of Lavandula officinalis L. on Methotrexate-Induced Oxidative Stress in Rats*, detallan que las dosis utilizadas fueron de 200-600mg/kg, y en *Antidepressant and anxiolytic activity of Lavandula officinalis aerial parts hydroalcoholic extract*

*in scopolamine-treated mice*; las dosis utilizadas fueron de 200 - 600 mg/kg, por lo que se concluye que el efecto ansiolítico en esta investigación es mínimo probablemente a la dosis utilizada (Batoool Rahmati, 2017, p. 958–965), (Kalantar, et al., 2017, pp. 18-26).

En definitiva, los tres equipos utilizados para las pruebas exploratorias denotan datos que pueden ser de suma importancia al momento de tomar una decisión; sin embargo, el equipo Campo Abierto y el Laberinto Cruz Elevado poseen más parámetros a evaluar lo que permite clasificarlos o considerarlos como modelos predictivos.

Para los ensayos ejecutados en esta investigación se tuvo en cuenta el ambiente en el que se trabajó, debido que a mayor ruido el comportamiento de los ratones va influir al momento de ejecutar dichas pruebas y los datos se van a ver alterados.

## CONCLUSIONES

Los ensayos del control de calidad de la droga cruda y del extracto hidroalcohólico de las flores de *Lavandula officinalis* cumplieron con todos los rangos establecidos en la USP 35, haciéndola apta para realizar los ensayos posteriores.

Se identificó de manera cualitativa una gran variedad de metabolitos secundarios como: alcaloides, triterpenos y esteroides, flavonoides, compuestos fenólicos; y en poca cantidad: catequinas, compuestos amargos, polisacáridos y azúcares.

Se determinó la cantidad de flavonoides y fenoles totales presentes en el extracto de *Lavandula officinalis*, los valores obtenidos fueron de 17,44 mg Equivalentes de Quercetina/g de extracto seco de flavonoides totales y 47,52 mg Equivalentes de ácido Gálico/g de extracto seco de fenoles totales.

El extracto de las flores de *Lavandula officinalis* a diferentes concentraciones presenta actividad ansiolítica según los resultados adquiridos estadísticamente y al ser comparados con el control positivo (Clonazepam). La actividad biológica podría deberse a metabolitos secundarios como flavonoides, terpenos y alcaloides, otro dato relevante es la distancia recorrida, número de entradas a los brazos abiertos y cerrados, al número de cruces del cuarto claro a oscuro y la velocidad media son un indicativo de la actividad locomotora que presenta los ratones.

La dosis con resultados destacados fue la de 200mg/kg, por presentar buena actividad ansiolítica y sedante al formar parte de todos los grupos con el control, en todos los parámetros de los equipos utilizados. En cuanto a la locomoción no formó ningún grupo con el control. Por lo que se considera una dosis con efecto ansiolítico con la ventaja de que no afecta la actividad locomotora en los animales de experimentación.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar el tamizaje fitoquímico y evaluar el efecto ansiolítico de *Lavandula officinalis* utilizando otras partes de la planta a su vez recolectándola de otro lugar y en diferente época del año.

Se recomienda realizar nuevo estudios para comprobar la actividad ansiolítica de *Lavandula officinalis* con dosis mayores a las utilizadas para confirmar su efecto.

Se recomienda realizar una evaluación de toxicidad de *Lavandula officinalis*, para adquirir información de los posibles riesgos que puede ocasionar la administración constante de esta planta a dosis de 200 ppm.

Se recomienda ejecutar la prueba del Cuarto claro oscuro por 10 minutos para tener datos más relevantes debidos que es un campo pequeño.

Se recomienda tener un procesador más avanza CORE i7, para el procesamiento, ejecución e instalación de los programas para no tener problemas al momento de ejecutar.

Capacitar a los nuevos usuarios de los equipos para su correcto funcionamiento y manipulación.



## BIBLIOGRAFIA

**ADAA** *Facts of anxiety*. [En línea]. 2018. (Citado 01 Enero 2019) Disponible en: <https://adaa.org/living-with-anxiety/women/facts>.

**APA, A.** *Anxiety*. [En línea]. 2018. (Citado 01 Enero 2019). Disponible en: <http://www.apa.org/topics/anxiety/>

**Arango, G.:** *Alcaloides y Compuestos Nitrogenados*. [En línea] 2008. (Citado 01 Enero 2019). Disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/856/alcaloides.pdf>

**Batool Rahmati, et.al.**, 2017. Antidepressant and anxiolytic activity of *Lavandula officinalis* aerial parts hydroalcoholic extract in scopolamine-treated rats. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), p. 958–965.

**Catherine J. Chu and Kathi J. Kemper, M. M.**, 2001. Lavender (*Lavandula* spp.). *Longwood Herbal Task Force*; 1(1), pp. 1-32.

**Comercio, E.** *El Comercio*. [En línea] 2017.(Citado 01 Enero 2019). Disponible en: <http://www.elcomercio.com/tendencias/estudio-plantasmedicinales-chimborazo-ecuador-intercultural.html>

**Cruz-Morales, S. E., González-Reyes, M. R. & Gómez-Romero, J. &.,** 2003. *Modelos de Ansiedad*. Volumen 28.pp.1-7

**Dueñas, R. E.**, s.f. Laboratorio de Remedios Herbolarios. *REDSA*, p. 1.

**Engels, G.**, 2007. American Botanical Council. *HerbalGram*, 1(1), pp. 1-5.

**Eszter Boldog, et al.**, 2018. Transcriptomic and morphophysiological evidence for a specialized human cortical GABAergic cell type. *NATURE NEUROSCIENCE*, 1(1), pp. 1185-1199.

**Gómez, et al.**, 2002. Modelos animales para el estudio de la ansiedad: una aproximación crítica.. *Salud Mental*, 25(1), pp. 14-22.

**Gould**, 2009. The open field test. Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice. *Neuromethods* , Volumen 42, pp. 1-20.

**Guerra, M.**, 2018. “VALIDACIÓN DE DOS EQUIPOS (LABERINTO EN CRUZ ELEVADO Y CAMPO CLARO OSCURO) PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA EN RATONES

*DE LABORATORIO*". [En línea] 2018.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en:  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/8900>

**Hau, J.**, 2003. Animal models.. En: *Handbook of Laboratory Animal Science*. EE.UU: Hau, J. & VanHoosier G.L.

**Heinrich, M.**, s.f. *Phytotherapy*. [En línea]. 2003.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en : <https://www.britannica.com/science/phytotherapy>

**Henrik Balslev, et al.**, 2008. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*, pp. 1-322.

**Husseini, Y. et al.**, 2015. Analgesic and anti-inflammatory activities of hydro-alcoholic extract of *Lavandula officinalis* in mice: possible involvement of the cyclooxygenase type 1 and 2 enzymes. *The Brazilian Journal of Pharmacognosy/Elsevier B.V.*, Volumen 26, p. 7.

**IDROBO, T. P.**, 2016. "EVALUACIÓN ANSIOLÍTICA COMPARATIVA POR SOLVENTES DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS FLORES DE *Pasiflora manicata* y *Pasiflora tripartita* MEDIANTE ADMINISTRACIÓN VÍA ORAL EN RATONES *Mus musculus*". pp. 1-89.

**Justin N. Kabera, et al.**, 2014. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(7), pp. 377-392.

**Kalantar, M. y et al.**, 2017. Ameliorative Effects of Hydroalcoholic Extract of *Lavandula officinalis* L. on Methotrexate-Induced Oxidative Stress in Rats. *Pharmaceutical Sciences*, 23(1), pp. 18-26.

**Karim N, et al.**, 2018. Anxiolytic Potential of Natural Flavonoids. *SM J Steroids Horm*, pp. 1-10.

**Lacasa, R.**, 2014. *Tipos de Ansiedad*. [En línea] 2014.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en :<https://www.todosobrelansiedad.com/los-ansioliticos-naturales-para-eliminar-ansiedad-y-estres/>

**Lucía de la Torre, et al.**, 2008. Usos medicinales de las plantas. *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador/ Herbario QCA & Herbario AAU.*, p. 105–114.

**Macía, L. et al.**, 2008. La etnobotánica en el Ecuador. *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador/ Herbario QCA & Herbario AAU.*, p. 13–27.

**Márquez, M. C. & Vázquez, G. J.,** 2016. *Stop radicales libres: 150 recetas antioxidantes*. Madrid-España: EDAF, S.L.U.

**Masoud Nikfarjam, et al.,** 2013. The Effects of Lavandula Angustifolia Mill Infusion on Depression in Patients Using Citalopram: A comparison Study. *Iran Red Crescent Med J.*, Volumen 8, p. 15.

**Masoud Nikfarjam, et al.,** 2017. Comparación del efecto de Lavandula officinalis y venlafaxina en el tratamiento de la depresión: un ensayo clínico doble ciego. *Journal of Clinical & Diagnostic Research*, Volumen 11, pp. 1-7.

**McNaughton, N. & Z. H. J.,** 2008. *Theoretical approaches to the modeling of anxiety in animals..* Países Bajos: Elsevier.

**MINTUR,** s.f. *La biodiversidad de Ecuador*. [En línea]. s.f.(Citado 10-Enero-2019). Disponible en  
Available at: <http://www.e-travelware.com/ztravel/ecuador.htm>

**Mora-Gallegos, A. & Castillo, S. S.,** 2015. Modelos animales de miedo y ansiedad: descripciones neuro-conductuales. *Universidad Costa Rica*, 1(1), pp. 1-7.

**MSP,** 2014. *CUADRO NACIONAL DE MEDICAMENTOS BÁSICOS*. Quito-Ecuador: 9na Revision.

**Muriel, P.,** 2008. La diversidad de ecosistemas en el Ecuador. *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador/Herbario QCA & Herbario AAU.* , p. 28–38.

**Nita V Bhatt, M. M.,** 2018. *Anxiety Disorders*. [En línea] 2018.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en: <https://emedicine.medscape.com/article/286227-overview#a4>

**OMS, O. M. d. I. S. -,** s.f. *Salud mental*. [En línea] s.f.(Citado 08-Enero-2019). Disponible en  
Available at: [http://www.who.int/topics/mental\\_health/es/](http://www.who.int/topics/mental_health/es/)

**Omudhome Ogbu, P.,** S.F. *Oral Benzodiazepines Names, Side Effects, and Addiction*. [En línea]. 2003.(Citado 08-Enero-2019). Disponible en:  
[https://www.medicinenet.com/benzodiazepines\\_sleep-inducing-oral/article.htm#what\\_are\\_their\\_uses?](https://www.medicinenet.com/benzodiazepines_sleep-inducing-oral/article.htm#what_are_their_uses?)

**Pallo Sarabia, M. A.,** 2013. *Evaluación del Efecto Ansiolítico del Extracto Hidroalcohólico de Flor de Granadilla (Passiflora ligularis) en Ratones (Mus musculus)*. [En línea] 2013.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en:  
<http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/2452/1/56T00319.pdf>

- Polanco, L. A.**, 2011. *Animal models: A review from three tests used in anxiety*. [En línea] 2011.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en:  
<http://www.scielo.org.co/pdf/sumps/v18n2/v18n2a11.pdf>
- Reyes-Ticas, D. J. A.**, S.F. *TRASTORNOS DE ANSIEDAD/ GUIA PRACTICA PARA DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO*. [En línea] s.f.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en:  
<http://www.bvs.hn/Honduras/pdf/TrastornoAnsiedad.pdf>
- Rodríguez-Landa, J. F. & Contreras, C. M.**, s.f. *Algunos datos recientes sobre la Fisiopatología de los trastornos por ansiedad..* [En línea] s.f. .(Citado 01-Enero-2019).  
Disponible en : <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb98936.pdf>
- Salud, O. M. d. I.**, 2004. *La OMS fomenta el uso adecuado de las medicinas tradicionales*. [En línea] 2003.(Citado 01-Enero-2019). Disponible en:  
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>
- Scott, D. A.**, 2011. *Pathophysiology of Anxiety*. [En línea] 2011.(Citado 18-Enero-2019).  
Disponible en: [http://www.health.am/psy/more/pathophysiology\\_of\\_anxiety/](http://www.health.am/psy/more/pathophysiology_of_anxiety/)
- Sharapin, N.**, 2000. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. En: Bogota: s.n., pp. 149-150.
- Tanja Jovanovic, P. & Sanne van Rooij, et al.**, s.f. *What is Anxiety?*. [En línea] s.f.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en: <https://www.anxiety.org/what-is-anxiety#evidence-based-therapies>
- Torre, L. d. I. & Balslev, et al.**, 2006. Etnobotánica en los Andes del Ecuador. *Herbario QCA, Departamento de Biología. Pontificia Universidad Católica del Ecuador*, pp. 246-267.
- Vademecun**, 2011. *Vademecun*. [En línea] 2011.(Citado 08-Enero-2019). Disponible en:  
<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c081.htm>
- Vantour., M. A. L.**, 2010. *Uso y abuso de las benzodiazepinas*. [En línea] 2010.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol\\_14\\_4\\_10/san17410.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol_14_4_10/san17410.htm)
- Virues, R. A.**, 2005. Estudio sobre ansiedad. *Psicología Científica*, Volumen 8, p. 7.
- Vogel, H. G.**, 2008. Drug discovery and evaluation pharmacological assays. En: Germany: s.n., pp. 620-626.
- Walf, A. & F.**, 2007. *The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents*. New York, USA: Nat Protoc.

**Walf, A. A. & Frye, C. A.**, 2013. *The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents*. [En línea] 2013.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3623971/>

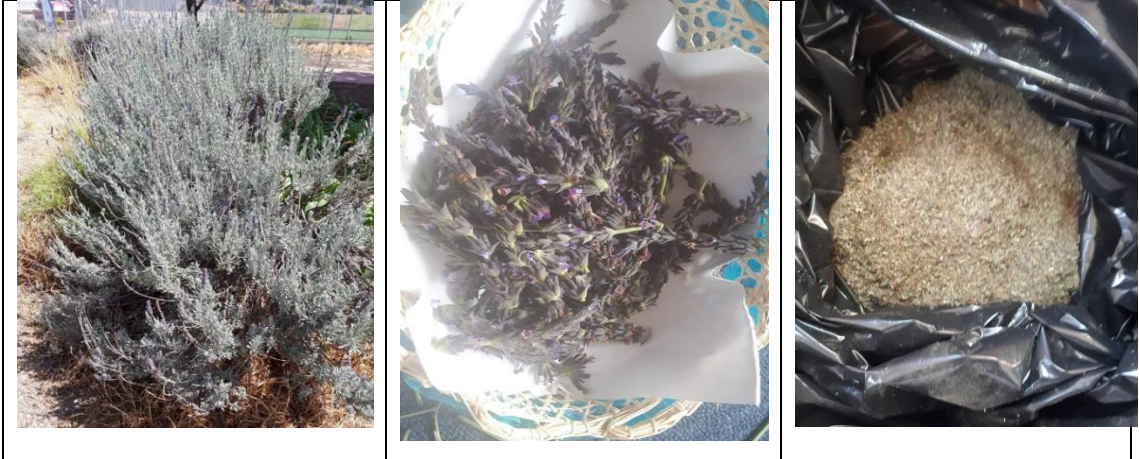
**WHO**, s.f. *Medicina Natural*. [En línea] s.f.(Citado 08-Enero-2019). Disponible en Available at: [http://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/es/](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/es/)  
[Último acceso: 10 Enero 2019].

**Zahra Rabiei, et al.**, 2014. The effect of pretreatment with different doses of *Lavandula officinalis* ethanolic extract on memory, learning and nociception. *Biomedicine & Aging Pathology*, pp. 71-76.

**Zurita, J.**, 2018. “VALIDACIÓN DEL EQUIPO ELECTRÓNICO MODELO DE “CAMPO ABIERTO” PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA *in vivo* EN RATAS (*Rattus norvegicus*) Y RATONES (*Mus musculus*)”. [En línea] 2018.(Citado 18-Enero-2019). Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/8909>

## ANEXOS

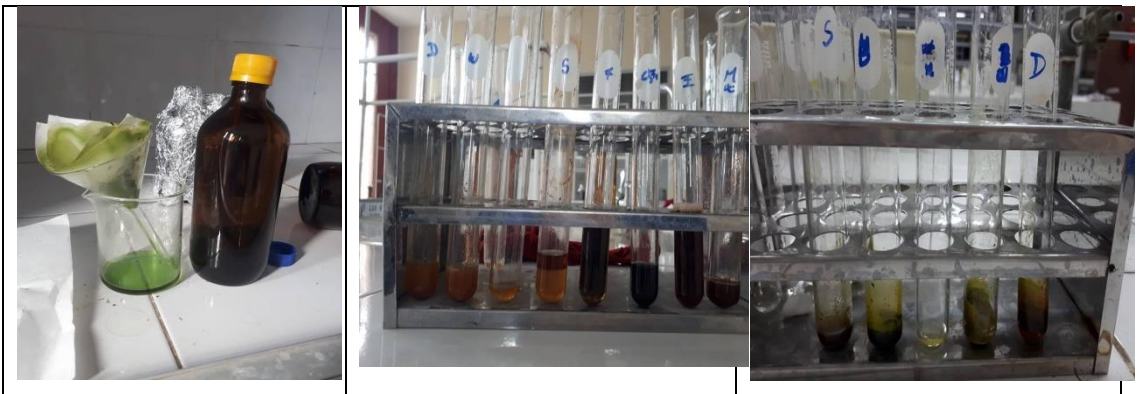
### ANEXO A: Preparación de la droga cruda

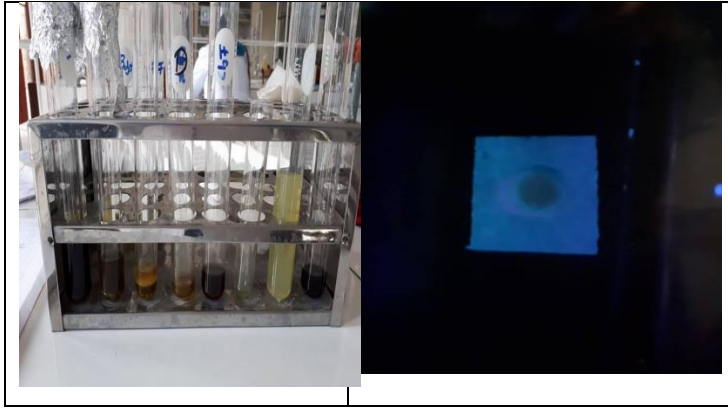


### ANEXO B: Control de calidad de la droga cruda



### ANEXO C: Tamizaje Fitoquímico





**ANEXO D:** Control de calidad del Extracto Hidroalcohólico



**ANEXO E:** Concentración del Extracto



**ANEXO F: Cuantificación de Fenoles Totales y Flavonoides Totales**



**ANEXO G: Animales de experimentación (*Mus musculus*)**



**ANEXO H: Reconstitución del extracto seco con propilenglicol al 15%**





**ANEXO I: Manipulación y administración de los extractos en animales de experimentación.**



**ANEXO J: Equipos utilizados para Evaluar la actividad ansiolítica**

