



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“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*.”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTOR: TATIANA PAOLA IDROBO BERMEO

TUTOR: DRA. SUSANA ABDO.

Riobamba-Ecuador

2016

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: "EVALUACIÓN ANSIOLÍTICA COMPARATIVA POR SOLVENTES DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS FLORES DE *Passiflora manicata* y *Passiflora tripartita* MEDIANTE ADMINISTRACIÓN VÍA ORAL EN RATONES *Mus musculus*.", de responsabilidad de la señorita Tatiana Paola Idrobo Bermeo, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Susana Abdo DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACION	_____	_____
BQF. Diego Vinueza M.Sc. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____
BQF. Fausto Contero M.Sc. PRESIDENTE TRIBUNAL	_____	_____

NOTA TRABAJO ESCRITO

.....
DOCUMENTALISTA SISBIB ESPOCH

Yo, Tatiana Paola Idrobo Bermeo 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

TATIANA PAOLA IDROBO BERMEO

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y permitirme haber alcanzado mis metas, por haberme brindado la oportunidad de crecer como ser humano y nunca dejarme caer a pesar de las circunstancias adversas.

A mis padres a quien les debo todo lo que soy y lo que tengo, mi madre un ejemplo de fortaleza y la mujer que más admiro en el mundo, mi padre de quien herede mi carácter, mi manera de pensar y hacer las cosas, a mi hija Melissa quien llena de paz y alegría mi vida impulsándome a ser mejor cada día y no darme por vencida.

AGRADECIMIENTO

El más sincero agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por brindarme no solo el orgullo de mi formación profesional sino también como ser humano.

A Susana Abdo más que mi tutora una amiga que supo orientarme en cada momento de duda, darme un aliento en cada momento de cansancio y sobre todo por enseñarme el camino de mi verdadera vocación.

A Diego Vinueza una persona admirable de quien me llevo grandes enseñanzas y de quien siempre estaré agradecido por su tiempo y apoyo.

Tatiana

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION.....	15
CAPITULO I.....	18
1. MARCO TEÓRICO.....	18
1.1. MARCO FILOSÓFICO O EPISTEMOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN.....	18
1.2. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	18
1.3. BASES TEÓRICAS.....	24
1.3.1. Salud mental.....	24
1.3.2. Ansiedad y depresión	25
1.3.3. Depresión	26
1.3.4. Ansiedad.....	26
1.3.5. Ansiedad según la cie 10	27
1.3.6. Ansiedad en medicina:	27
1.3.6.1. <i>Grupos susceptibles.</i>	28
1.3.6.2. <i>Manifestaciones:</i>	28
1.3.6.3. <i>Niveles de ansiedad:</i>	29
1.3.6.4. <i>Tipos de ansiedad:</i>	30
1.3.6.5. <i>Tratamiento para ansiedad</i>	31
1.3.7. Benzodiacepinas	32
1.3.7.1. <i>Mecanismo de acción de Benzodiacepinas</i>	33
1.3.7.2. <i>Efectos adversos y secundarios</i>	33
1.3.8. Fitoterapia en ansiedad	34
1.3.9. Modelos animales para el estudio de ansiedad	34
1.3.9.1. <i>Pruebas condicionadas</i>	35
1.3.9.2. Pruebas no condicionadas.....	35
1.3.9.2.1. La prueba de campo abierto,	35
1.3.9.2.2. El laberinto elevado.....	36
1.3.9.2.3. La prueba de la caja luz/oscuridad	37
1.3.9.2.4. Test de la chimenea.....	38
1.3.10. Pasifloras	39
1.3.10.1. <i>Pasiflora tripartita</i>	40
1.3.10.1.1. Clasificación taxonómica	40
1.3.10.1.2. Descripción de la planta:	41
1.3.10.1.3. Hábitat:.....	42

1.3.10.1.4.	Usos comunes:	42
1.3.10.2.	<i>Pasiflora manicata</i>	43
1.3.10.2.1.	Clasificación taxonómica	43
1.3.10.2.2.	Descripción de la planta	43
1.3.10.2.3.	Distribución geográfica	44
1.3.10.2.4.	Usos comunes	44

CAPITULO II 45

2.	MARCO METODOLÓGICO.....	45
2.1.	RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	45
2.2.	IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA.....	45
2.3.	LUGAR DE INVESTIGACIÓN	46
2.4.	SECADO Y MOLIENDA.....	47
2.5.	ELABORACIÓN DE LOS EXTRACTOS	47
2.5.1.	Extracto de acetato de etilo	47
2.5.2.	Extracto de metanol	48
2.5.3.	Extracto acuoso	48
2.6.	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA.....	49
2.6.1.	Test para actividad ansiolítica.....	51
2.6.1.1.	Laberinto en Cruz elevado (EPM)	52
2.6.1.2.	Ensayo de Campo Abierto (OFT)	53
2.6.1.3.	Test de luz-oscuridad (<i>light-dark test box</i>).....	53
2.6.1.4.	Test de la chimenea	54
2.7.	ACTIVIDAD CITO TÓXICA.....	55
2.8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	57

CAPÍTULO III..... 58

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS. 58	
3.1.	EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO	58
3.1.1.	Ensayo de Laberinto elevado (EPM).....	59
3.1.2.	Ensayo de Campo abierto.....	61
3.1.3.	Ensayo de campo claro/oscurito.....	63
3.1.4.	Test de la chimenea	64
3.2.	RELACIÓN ENTRE EXTRACTOS	66
3.2.1.	Relación entre extractos en ensayo de laberinto elevado	66

3.2.2.	Relación entre extractos en ensayo de campo abierto.....	67
3.2.3.	Relación entre extractos en ensayo de campo claro/ oscuro.....	69
3.2.4.	Relación entre extractos en ensayo de chimenea	70
3.3.	EVALUACIÓN DEL EFECTO CITOTÓXICO EN ARTEMIA SALINA	73
3.4.	CONCLUSIONES.....	76
3.5.	RECOMENDACIONES.....	77
GLOSARIO		78
BIBLIOGRAFÍA.....		79
ANEXOS.....		85

INDICE DE TABLAS

Capítulo I

Tabla 1-1: fármacos de elección según el tipo de trastorno de ansiedad	31
Tabla 2-1: vida media de las benzodiazepinas según su tipo de acción.....	32
Tabla 3-1: clasificación taxonómica de <i>Pasiflora tripartita</i>	40
Tabla 4-1: clasificación taxonómica de <i>Pasiflora manicata</i>	43

Capítulo II

Tabla 1-2: selección de individuos para la evacuación de actividad ansiolítica en <i>Pasiflora tripartita</i>	50
Tabla 2-2: selección de individuos para la evaluación de actividad ansiolítica en <i>Pasiflora manicata</i>	50

Capítulo III

Tabla 1-3: codificación de grupos de extractos para evaluación de actividad ansiolítica.....	59
Tabla 2-3: tiempo total transcurrido en brazos abiertos, Blanco (B), control positivo clonazepam (CZP), código de extractos (tabla 1-3).....	59
Tabla 3-3: tiempo total de permanencia en el centro del modelo, blanco (B), control positivo (CZP), código de extractos (tabla 1-3).....	61
Tabla 4-3: tiempo total de permanencia en cuarto claro del modelo, blanco (B), control positivo (CZP), código de extractos (tabla 1-3).....	63
Tabla 5-3: tiempo total que demora en salir del tubo de vidrio de cola el ratón, blanco (B), control de clonazepam (CZP), código de extractos (tabla 1-3)	64
Tabla 6-3: resultados de análisis ANOVA de un factor (tipo de extracto) general.....	72
Tabla 7-3: valores del estudio citotóxico en <i>Artemia salina</i> de los diferentes tipos ex extractos usados. 73	
Tabla 8-3: valores de dosis letal media de cada grupo de estudio.....	74

INDICE DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1-1: síntomas físicos de la ansiedad.....	28
Figura 2-1: manifestaciones somáticas de la ansiedad.....	29
Figura 3-1: manifestaciones psicológicas de la ansiedad	29
Figura 4-1: mecanismo de acción de las BZD.....	33
Figura 5-1: Efectos secundarios de algunas benzodiazepinas según su acción terapéutica.....	34
Figura 6-1: prueba del campo abierto en ratones.....	36
Figura 7-1: prueba de laberinto elevado para ratones.....	37
Figura 8-1: maqueta para ensayo de cuarto claro/oscuro.....	38
Figura 9-1: test de la chimenea para ratones	38
Figura 10-1: <i>Pasiflora tripartita</i> , ilustración botánica	40
Figura 11-1: partes de <i>P. tripartita</i> , (1) hojas, crecimiento de enredadera, (2) flor colgante de la planta. 41	41
Figura 12-1: <i>Pasiflora manicata</i> , ilustración botánica	43
Figura 13-1: partes de <i>P. manicata</i> , (1) hojas, crecimiento e enredadera, (2) flor de la planta. 44	44

Capitulo II

Figura 1-2: diseño de trabajo para comprobación de actividad ansiolítica	46
Figura 2-2: diseño de extracción por acetato de etilo	47
Figura 3-2: diseño de elaboración de extracto metanólico.....	48
Figura 4-2: elaboración de extracto acuoso.....	49
Figura 5-2: distribución para la evaluación de actividad ansiolítica	52
Figura 6-2: diseño del test de laberinto elevado	52
Figura 7-2: diseño del test de campo abierto.....	53
Figura 8-2: diseño de test de cuarto claro oscuro	54
Figura 9-2: diseño del test de test de chimenea	55
Figura 10-2: diagrama de procedimiento para técnica de cito toxicidad en <i>Artemia salina</i>	56
Figura 11-2: preparación de diluciones de extractos.....	57

Capítulo III

Figura 1-3: niveles de citotoxicidad de los extractos de <i>Pasiflora manicata</i> a las diferentes concentraciones.....	73
Figura 2-3: niveles de citotoxicidad de los extractos de <i>Pasiflora manicata</i> a las diferentes concentraciones.....	74
Figura 3-3: dosis letal media de todos los extractos analizados.	75

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Materia prima vegetal seca.....	85
Anexo 2: balanza para pesado de materia vegetal.....	85
Anexo 3: macerado en metanol.....	85
Anexo 4: secado de materia vegetal.....	86
Anexo 5: zonificación de extractos.....	86
Anexo 6: codificación de frascos para almacenamiento.....	86
Anexo 7: sistema de concentración de extractos por rota vapor.....	87
Anexo 8: envasado de extractos secos.....	87
Anexo 9: cubierta segura para humedad con parafina.....	87
Anexo 10: almacenamiento de extractos secos, codificados.....	87
Anexo 11: modelo de test de campo abierto.....	88
Anexo 12: modelo de test de campo claro/oscuro.....	88
Anexo 13: modelo de test de laberinto elevado.....	88
Anexo 14: cánula de administración para vía oral.....	89
Anexo 15: preparación se solución nutritiva para citotoxicidad.....	89
Anexo 16: evaluación de citotoxicidad de los extractos.....	89

RESUMEN

Passiflora tripartita y *Passiflora manicata* son especies poco estudiadas en el país, por ser consideradas solo como plantas exóticas, su contenido en flavonoides son motivos de estudio para la evaluación del efecto ansiolítico. El objetivo de la investigación fue evaluar ansiolíticamente tres tipos de extractos de las hojas y flores de ambas especies pasifloras en ratones (*Mus musculus*). El estudio se realizó en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH y se enfocó en la evaluación del efecto ansiolítico en cuatro modelos *in vivo*, laberinto en cruz elevado (EPM), ensayo de campo abierto (OFT), ensayo de campo claro/oscuro y test de chimenea, Clonazepam fue usado como droga estándar (0,5mg/kg), además se estudió la actividad citotóxica, con la técnica de *Artemia salina*. En el modelo EPM el extracto de hojas de *P. tripartita* acuoso incrementaron el número de entradas en los brazos abiertos ($p < 0,05$). El extracto de hojas de *P. tripartita* en metanol induce un efecto miorrelajante demostrado en el incremento del tiempo de salida en el test de chimenea y evidenciado en una disminución de miedo a la luz en el modelo de campo claro/oscuro ($p < 0,05$). Mientras que el ensayo de citotoxicidad mostró alta toxicidad en el extracto de hojas de *P. manicata* en acetato de etilo ya que su Lc50 fue menor a 100ppm y el más seguro fue el extracto metanólico de hojas de *Passiflora tripartita* con un Lc50 de 675,48ppm. Concluyendo, extracto metanólico de hojas de *P. tripartita* administrado a una concentración de 50 mg/kg presenta aparentemente el mejor efecto y la actividad sobre los receptores se atribuye a la presencia de tres compuestos flavónicos. Se recomienda realizar investigaciones con dosificaciones mayores del extracto en ratones para evaluar el efecto ansiolítico óptimo, así como el estudio citotóxico en ratones.

Palabras Clave: <*Passiflora tripartita* [taxo], <*Passiflora manicata* [planta]>, <ANSIEDAD>, <ANSIOLÍTICO>, <CITOTÓXICO – ARTEMIA SALINA [crustáceo]>, <LABERINTO EN CRUZ ELEVADO [EPM]>, <ENSAYO DE CAMPO ABIERTO [OFT]>, <ENSAYO DE CAMPO CLARO/OSCURO [dark/light test]>, <TEST DE CHIMENEA [miorrelajante]>, <SISTEMA NERVIOSO CENTRAL [SNC]>

ABSTRACT

Passiflora tripartite and *manicata* are little studied species in the country, being considered only as exotic plants, flavonoid content are for study to evaluate the anxiolytic effect. The aim of the research was to evaluate anxiolytic three types of extracts from the leaves and flowers of *Passiflora* species both in mice (*Mus musculus*). The study was conducted in the vivarium of the Faculty of Sciences ESPOCH and focuses on assessing the anxiolytic effect in four models in vivo; elevated plus maze (EPM), open bonnet test (OFT), test light/ dark and field test fireplace, Clonazepam was used as a standard drug (0.05 mg/kg) plus cytotoxic activity was studied with *Artemia salina* technique. In the EPM model the leaf extract p. aqueous *tripartite* increased the number of entries into the open arms ($p < 0.05$). The leaf extract of *P. tripartite* in methanol induces a muscle relaxant effect demonstrated in the increase of time from the test fireplace and evidenced by a decrease in fear of light in the pattern of light/ dark field ($p < 0, 05$). While the cytotoxicity assay showed high toxicity extract sheet *P. manicata* in ethyl acetate as its LC_{50} was less than 100 ppm and safest was the methanolic extract of leaves of *Passiflora tripartite* with LC_{50} 675, 48 ppm. Concluding, methanolic extract of leaves of *P. tripartite* administered at a concentration of 50 mg / kg apparently has the best effect and receptor activity are attributed to the presence of three flavone compounds. the cytotoxic study in mice is recommended investigations with higher doses of the extract in mice to assess the anxiolytic + optimal effect, as well.

KEYWORDS: <*Passiflora tripartite* [taxo] <*Passiflora manicata* [plant]> <ANXIETY>, <anxiolytic>, <CITOTÓXICO-*Artemia salina* [crustacean]> <maze HIGH [EMP]> <TEST FIEL OPEN [OFT]> <TEST FIELD light / dark [dark / light test]> TEST OF FIRE mioreelajante <CENTRALNERVOUSSYSTEM [SNC]>.

INTRODUCCION

Situación problemática

La salud mental abarca una amplia gama de actividades directa o indirectamente relacionadas con el componente de bienestar mental, esto está incluido en la definición de salud que da la OMS: un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades. Por tanto está relacionada con la promoción del bienestar, la prevención de trastornos mentales y el tratamiento y rehabilitación de las personas afectadas por dichos trastornos. (OMS, 2007)

La salud mental, como parte indivisible de la salud, contribuye de manera significativa a la calidad de vida y a una plena participación social. Los trastornos mentales constituyen una importante carga económica y social, tanto por su frecuencia, coexistencia y comorbilidad, como por la discapacidad que producen. Y esta es la segunda causa de carga de enfermedad en las sociedades con economías de mercado, sin que haya perspectiva de control de estas cifras, por pronosticarse un aumento considerable (MSC, 2014)

En el Ecuador la salud mental viene tomada en cuenta desde 1995 con la creación del plan en salud mental, aun así no existe una Ley de Salud mental vigente lo que dificulta la ejecución de planes y estrategias en cuanto al diagnóstico y tratamiento de las patologías mentales, además la última versión del plan Nacional de Salud Mental data del año 1999, y el presupuesto anual a este parte de salud es mínima. (MSP, 2008)

Los principales problemas de salud mental son la ansiedad y depresión, las dos son formas de reaccionar ante eventos externos o internos. La CIE-10, clasificación efectuada por la Organización Mundial de la Salud, incluye el trastorno mixto ansioso-depresivo donde se dan diferentes posibilidades de combinación de síntomas propios de la ansiedad y propios de la depresión. En ambos casos se trata de una respuesta exagerada ante un acontecimiento que generó extremos estados de ánimo. Estas reacciones o trastornos se pueden manifestar con síntomas predominantemente de ansiedad, de depresión, de una combinación de ambas o de otras emociones o conductas perturbadoras (ira, preocupación, violencia, etc.). (Luna. M, 2002)

Para lograr la mejora del paciente y su total sanación se combinan dos tipos de tratamiento, uno psicológico el cual lo trata un psicólogo o en casos más graves un psiquiatra, el otro es un tratamiento farmacológico.

El primer requisito para el tratamiento es establecer con precisión el diagnóstico es decir el estado de ansiedad. Los medicamentos contra la ansiedad son las benzodiacepinas, los que se utilizan para tratar los trastornos de ansiedad incluyen:

El clonazepam, que se utiliza para la fobia social y el trastorno de ansiedad generalizada, Lorazepam, que se utiliza para el trastorno de pánico, Alprazolam, que se utiliza para el trastorno de pánico y trastorno de ansiedad generalizada. La buspirona es un medicamento contra la ansiedad que se usa para tratar el trastorno de ansiedad generalizado. (Geo salud, 2014).

Una de medicinas alternativas, no agresivas es la fitoterapia, pertenece al ámbito de la medicina y se relaciona estrechamente con la botánica y el estudio del metabolismo secundario vegetal, es ejercido por médicos y por fitoterapeutas. La farmacéutica tiene su aproximación a la fitoterapia en la farmacognosia, que da cuenta de los constituyentes químicos de las plantas o de sus órganos o partes y de las propiedades farmacológicas de estos. Y la Fitoterapia moderna, se basa en el conocimiento de la Farmacología, y considera los aspectos farmacodinámicos y farmacocinéticos de los medicamentos basados en plantas medicinales, en estudios preclínicos y clínicos, aunque tiene su punto e origen en el conocimiento ancestral y la experiencia de prueba y error heredada de las pasadas generaciones

El uso de Fito medicamentos para tratar problemas de la ansiedad ya ha sido definido con ciertas especies, como el Hipérico y Valeriana, esto ha tomado mayor importancia últimamente por el incremento de interés de personas por este tipo de terapias, empezando por los países industrializados con altos niveles de ansiedad y estrés. Teniendo así que ya se halla en el mercado Fito medicamentos específicos aprobados por la FDA y OMS.

A pesar que las medicinas naturales a base de plantas se han usado desde tiempos antiguas, solo una pequeña cantidad de estos han sido estudiados a profundidad, de estas hay un número menor que se ha identificado su seguridad plena en el uso y la eficacia, extracción de principios activos. Las muchas y diversas formas de los productos medicinales tradicionales han evolucionado frente a entornos ampliamente diferentes en lo etnológico, cultural, climático, geográfico y aun filosófico. (López. M, 2012)

Otro punto importante en la terapia natural se situar los límites en la Terapéutica actual, y por lo tanto precisar el concepto moderno de la misma, por lo que se debe tomar en cuenta: Si bien los productos fitoterápicos suelen tener márgenes de seguridad terapéutica más amplios y suelen tener menos efectos adversos que los fármacos sintéticos, cabe siempre recordar que natural no es sinónimo de inocuo. Por lo que obligatoriamente se necesita un estudio previo a profundidad sobre lo que se desea administrar.

Actualmente existe una base científica que puede sustentar la eficacia de muchos productos fitoterápicos para determinadas indicaciones, esta sirve como una base bibliográfica y un sustento de elección de camino. La eficacia se consigue solamente con el uso adecuado de los preparados fitoterapéuticos, tanto en lo que se refiere a las indicaciones, como con la forma de administración y la dosificación. La responsabilidad del profesional sanitario es insoslayable. También se requiere una legislación adecuada que apoye la investigación, y verifique los resultados. (Cañiguera. S, 2003)

Las pasifloras pertenecen a la familia Passifloraceae, con 18 géneros y 630 especies. Se encuentran distribuidas en diferentes pisos altitudinales, desde el nivel del mar hasta los 3.000 m de altitud, y muchas de ellas son originarias de las zonas andinas de América del Sur. En forma silvestre se encuentran muchas curubas y granadillas produciendo frutos cuyo valor es tan alto como las pasifloras cultivadas, las especies de pasifloras cultivadas en forma comercial son: parchita maracuyá (*Passiflora edulis*), badea (*P. quadrangularis*).

La familia de pasifloras en general Poseen una acción sedante del sistema nervioso, miorelajante y espasmolítica. Por esto se indica su uso en el tratamiento de: ansiedad, hiperexcitación nerviosa, insomnio, hipertensión arterial, taquicardia, palpitaciones, migrañas, vértigo, úlceras gastroduodenales, espasmos gastrointestinales, dismenorrea, distonías neurovegetativas asociadas al climaterio, tos nerviosa, mialgias y contracturas musculares. Las partes que se utilizan de esta planta son las sumidades aéreas (hojas y flores). (Lemus y Chong, 2009).

Los objetivos de este trabajo son los de Determinar cuál es el extracto con mayor actividad ansiolítica de los preparados de hojas y de flores de *Pasiflora manicata* y *Pasiflora tripartita* sobre los ratones *Mus musculus* mediante administración oral, elaborar 3 tipos de extractos tanto de flores como de hojas de las 2 especies de pasifloras según su nivel de solubilidad, realizar pruebas psicolepticas a cada uno de los grupos de ratones analizando su comportamiento individual, y con esto Elegir el mejor extracto de hojas y de flores cada especie de *Pasiflora* para la actividad ansiolítica, por ultimo Comparar la actividad ansiolítica de ambas especies de *Pasifloras* y sus respectivos extractos frente al grupo control mediante análisis estadístico.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Marco Filosófico o epistemológico de la investigación

Dentro de los proyectos de titulación para la formación total de un profesional universitario la investigación científica es un pilar fundamental, independientemente del tema o rama dedicada cada uno tiene el fin de difundir una información, ya sea mejorar sistemas o resolver problemas.

En el caso del Bioquímico Farmacéutico existen varios campos de investigación, principalmente dentro del campo de la salud siendo los básicos el diagnóstico y la farmacia, mejorando así la calidad de vida de las personas.

El presente trabajo es una investigación con metodología experimental, se estudia la rama de fitoquímica y farmacología con la comprobación de efectos ansiolíticos in vivo de dos tipos plantas de la familia de las pasifloras siendo sus nombres científicos: *Pasiflora manicata* y *Pasiflora tripartita* mejor conocida como planta de taxo. La metodología usada para la identificación de la actividad ansiolítica es experimental pura, por llevar un control sobre las variables dependientes en cada uno de los procesos.

Los resultados de esta investigación tienen como finalidad determinar cuál de las plantas estudiadas de la familia de las pasifloras posee la mejor actividad ansiolítica y así poder brindar una buena alternativa como fitofármaco para los tratamientos, manejo y control de la ansiedad de las personas del Ecuador.

1.2. Antecedentes de la Investigación

El contenido original del término neurosis, introducido por el psiquiatra escocés William Cullen en 1769 se refería a una afección general del sistema nervioso que cursaba sin fiebre ni afección local de algún órgano, y que comprometía “los sentimientos” y “el movimiento”. La sintomatología polimorfa que Cullen identificó en la afección abarcaba las manifestaciones que se presentaban en una abigarrada serie de afecciones que iban desde diversas intensidades de síncope hasta el tétanos y la hidrofobia, pasando por la histeria, la melancolía, la amnesia y la manía. El término creado por Cullen en 1798, tuvo una amplia penetración en el vocabulario médico. A lo largo de los siglos XIX y XX diversos autores se ocuparon de distinguir sus

características y del gran grupo inicial se fueron desgajando diversas enfermedades que permitieron precisar más rigurosamente sus contornos y límites, pero las querellas en torno a su especificidad siguieron siendo numerosas y apasionantes. (conti, 2007)

El término ansiedad es relativamente reciente en la semiología psiquiátrica y se le atribuye a Morel el mérito de considerar el lado "emotivo" y en cierto sentido ansioso de numerosos cuadros clínicos (Morel, 1866). Las tesis humoralistas estuvieron vigentes hasta bien entrado el Renacimiento, y consideraban como "melancolía" una enfermedad en la estaban incluidas, entre otras, lo que hoy denominamos trastornos de ansiedad (fóbico-obsesivo-ansiosos). La "melancolía" estaba comprendida en las llamadas "enfermedades de la cabeza". En el siglo XVIII surgió el concepto de "enfermedad nerviosa", sobre la base de la separación, realizada por Sydenham, de la afección "histero-hipocondríaca" de las enfermedades ginecológicas. Willis fue quien incluyó estos trastornos dentro de la patología nerviosa, por lo que las afecciones que hasta entonces habían sido incluidas en la melancolía o en otros trastornos uterinos, pasaron a incluirse entre la patología nerviosa, cuya causa inmediata era la ataxia de los "espíritus animales" (López Piñero, 1985). En la obra de Cullen (1712-1790) la melancolía era considerada como una "neurosis. (Rubio, 2000)

La historia de los hoy llamados "Trastornos de ansiedad" está estrechamente vinculada al concepto clínico de "neurosis". Pero, como en otros casos de la nomenclatura médica, el contenido original del término neurosis, no corresponde estrictamente al uso que hasta hace pocos años se ha hecho de tal denominación. En el DSM-IV los "Trastornos por ansiedad" incluyen: el Trastorno de ansiedad generalizada, el Trastorno de pánico con o sin la agorafobia, la Fobia social, la Fobia específica, el Trastorno obsesivo-compulsivo y el Trastorno por estrés post traumático. Llama la atención que esta ordenación, en sus aspectos fenoménicos esenciales, no ha variado en lo fundamental durante un siglo. (Conti, 2007).

La ansiedad es una parte de la existencia humana, todas las personas sienten un grado moderado de la misma, siendo ésta una respuesta adaptativa. La ansiedad sigue siendo un tema de gran importancia para la Psicología; su incorporación es tardía, siendo tratado sólo desde 1920, abordándose desde distintas perspectivas. Según el Diccionario de la Real Academia Española en 1988, el término ansiedad proviene del latín *anxietas*, refiriendo un estado de agitación, inquietud o zozobra del ánimo, y suponiendo una de las sensaciones más frecuentes del ser humano, siendo ésta una emoción complicada y displacentera que se manifiesta mediante una tensión emocional acompañada de un correlato somático. En general, el término ansiedad alude a la combinación de distintas manifestaciones físicas y mentales que no son atribuibles a peligros reales, sino que se manifiestan ya sea en forma de crisis o bien como un estado persistente y difuso, pudiendo llegar

al pánico; no obstante, pueden estar presentes otras características neuróticas tales como síntomas obsesivos o histéricos que no dominan el cuadro clínico. (Sierra y Ortega, 2003).

Durante las tres últimas décadas, hemos sido testigos del considerable progreso que ha tenido lugar en el tratamiento y comprensión de los trastornos de ansiedad, que son los más comunes de todas las enfermedades psiquiátricas. Sin embargo, los estudios epidemiológicos demuestran una cruel paradoja. Al mismo tiempo que avanzan nuestros conocimientos y mejora la eficacia de los medios de tratamiento, se constata que un alto porcentaje de las personas que padecen trastornos emocionales no son identificados y, por consiguiente, no reciben tratamiento adecuado ni se benefician de los avances de la investigación en este campo. En el estudio realizado por la O.M.S. sobre los problemas psicológicos de los médicos de atención primaria, realizado en centros de 14 países, se constató una prevalencia puntual del trastorno de ansiedad generalizada del 12 % de las primeras consultas. No obstante, a pesar de esta tremenda morbilidad, los trastornos de ansiedad son infra diagnosticados y no tratados adecuadamente. Cerca de la mitad de los pacientes del estudio internacional, afectos de un trastorno de ansiedad, no fueron identificados por los médicos de familia. Los trastornos de ansiedad son tan frecuentes en atención primaria que se calcula que uno de cada diez pacientes que se atienden diariamente lo presentan. De hecho son más comunes que la diabetes. (Reyes, 2004)

A partir de 1960 las benzodiazepinas ocuparon el primer lugar en el tratamiento de los cuadros ansiosos. Su consumo se extendió rápidamente, dando origen a la denominación de "píldoras de la felicidad". Las investigaciones que relacionaban la ansiedad y las benzodiazepinas se incrementaron cuando en 1977 se descubrió la presencia de receptores para estas sustancias en el cerebro de animales de experimentación. A principios de los sesenta, los beta-bloqueantes fueron introducidos en el arsenal terapéutico de cardiólogos y psiquiatras. Según las teorías de James-Lange sobre el papel del sistema nervioso autónomo en el desencadenamiento de la ansiedad, se utilizaron este tipo de fármacos. Tras investigar la implicación del sistema nervioso central en la ansiedad, cayeron en desuso, aunque todavía hoy se consideran más eficaces que las benzodiazepinas cuando se trata de cuadros clínicos en los que predominan las manifestaciones somáticas. A finales de los cincuenta también se introdujeron como ansiolíticos la hidroxicina y la benzotamina, así como los neurolépticos a bajas dosis. Comenzó una campaña contra la utilización masiva de las BZD dado que podían producir tolerancia, dependencia y síndrome de abstinencia, por lo que se estimuló la investigación de nuevos compuestos ansiolíticos, como la buspirona, aunque mucho menos eficaz. El uso de las BZD no sólo estimuló la investigación en los mecanismos biológicos de la ansiedad, sino que produjo cambios en la nosología. Cuando Freud separó la neurosis de ansiedad de la neurastenia, incluyó entre los síntomas de la nueva entidad, la persistencia del estado ansioso y la presencia de crisis de angustia, porque todas ellas podían agruparse alrededor del síntoma cardinal que era la ansiedad. Esta concepción unitaria se

aceptó, incluso entre los psiquiatras no psicoanalíticos, hasta pasada la II Guerra Mundial. Así las crisis de angustia diferían los estados de ansiedad en la intensidad de los síntomas. (Rubio, 2000)

En los años 70 y comienzo de los 80, se observó que ciertos antidepresivos tricíclicos e inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO) resultaban efectivos en el tratamiento del trastorno de pánico, además de que un antidepresivo tricíclico, en concreto la clomipramina, respondía correctamente en el tratamiento del trastorno obsesivo-compulsivo. De esta forma se comenzó a observar que algunos antidepresivos se solapaban con los ansiolíticos en el tratamiento de determinados subtipos de trastornos de ansiedad o en los cuadros ansioso-depresivos.

En la década de los 90, los antidepresivos de la clase inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (ISRS) pasaron a considerarse los tratamientos preferidos de primera línea para determinados subtipos de trastornos de ansiedad, desde el trastorno obsesivo-compulsivo hasta el trastorno de pánico y recientemente también para la fobia social y el trastorno de estrés postraumático. Sin embargo, no todos los antidepresivos son ansiolíticos eficaces ya que la desipramina y el bupropión parecen resultar de poca ayuda en varios subtipos de trastorno de ansiedad.

En este contexto, la venlafaxina ha sido uno de los primeros fármacos aprobados tanto para tratar el estado de ánimo en la depresión, como para tratar la ansiedad en el trastorno por ansiedad generalizada. (Zubiri, 2011)

Aunque se usan diversos tipos de fármacos, los de primera elección han sido siempre las benzodiazepinas, sin embargo estos fármacos presentan varios efectos adversos siendo los más severos: Excesiva sedación, el exceso de sedación es una manifestación exacerbada, dosis-dependiente, de los efectos básicos sedativos e hipnóticos de las benzodiazepinas. Los síntomas van desde la somnolencia, a la falta de concentración, falta de coordinación, debilidad muscular, mareos y confusión mental. (Ashton, 2002)

Se determinó también que todas las BZD pueden provocar dependencia psicológica y física, incluso a dosis bajas, con un síndrome de abstinencia de instauración lenta tras la supresión del fármaco, que es más intenso mientras mayores hayan sido las dosis utilizadas y más prolongadas los tiempos de tratamiento. Las de eliminación rápida tienen mayor tendencia a producir dependencia o fenómenos de rebote (ansiedad, insomnio) al suspender el tratamiento; las de eliminación lenta producen más sedación diurna; las de larga duración, tienen efectos colaterales que pueden persistir durante todo el día y las de duración intermedia, poseen menos efectos duraderos al día siguiente de su administración. (López y otros, 2010).

La sedación excesiva persiste por más tiempo y es más marcada en la gente mayor y hasta puede aumentar el riesgo de caídas y fracturas. En el caso de la gente mayor, ha habido casos de estados confusionales agudos con dosis bajas de benzodiazepinas. El exceso de sedación causado por las benzodiazepinas contribuye a aumentar las posibilidades de accidentes tanto en el hogar como en el trabajo, y estudios llevados a cabo en muchos países han demostrado una asociación significativa entre el uso de las benzodiazepinas y el riesgo de accidentes graves de tráfico. Habría que advertirle a la gente que toma benzodiazepinas sobre los riesgos que estas drogas implican cuando se conducen vehículos y se manejan máquinas. (Ashton, 2002).

El uso de estos fármacos ha aumentado considerablemente a lo largo de los años siendo así que la ingesta de tranquilizantes sin receta, entre 2000-2001, alcanzaba el 2,5% de la población de 15 a 64 años. En comparación con otros años anteriores, aparece un ligero incremento en el consumo de estas sustancias, la prevalencia de dicho consumo durante los últimos doce meses pasa de 2% en 1997 al 2,5% en 2001. La edad de inicio en el consumo de benzodiazepinas está estabilizada, es de 28,1 años, y, aunque, no aparecen diferencias significativas entre sexos en cuanto al consumo, si aparecen en cuanto a la edad de inicio, siendo los hombres quienes se inician antes que las mujeres (hombres: 24,5 años; mujeres: 30-31,1 años).(Plan nacional de drogas, 2002).

Por esto la búsqueda de nuevas formas de tratar la ansiedad han sido de interés a lo largo de los años siendo así, la Valeriana la planta más usada para este fin, Su uso se remonta a la antigüedad, en la que ya se encuentran descripciones de clásicos como Dioscórides, Hipócrates o Galeno. Dioscórides la describía en su Libro I sobre remedios y plantas naturales haciendo referencia a ella como la Gran Valeriana y sería utilizada por el autor para el tratamiento de la epilepsia. Ya en épocas más recientes también encontramos referencias al valor medicinal de la planta como por ejemplo en los escritos de Fabius Colonna en 1567 que aludía a ella como remedio para la epilepsia extendiéndose su uso para tratar este mal a lo largo del siglo XVI, Más tarde, en 1912, Chevalier propondría el aceite esencial como el causante de la actividad sedante que puede alcanzar la raíz de la planta de la Valeriana. Y así, durante la Segunda Guerra Mundial la valeriana fue frecuentemente utilizada para aliviar la tensión nerviosa originada por los bombardeos y explosiones frecuentes en esas circunstancias. Habrá que esperar unos años más para que Ukita, en 1944, consiga aislar el primer ácido volátil de la *Valeriana officinalis*. A partir de aquí seguirían realizándose trabajos experimentales dirigidos entre otras cuestiones a confirmar la propiedad sedante de la planta. (López y López, 2011).

Pero a partir del uso de fármacos en exceso, la medicina natural ha tomado importancia, siendo prioridad la búsqueda de nuevas plantas con actividad ansiolítica, existiendo ya varios estudios.

En la Escuela Superior politécnica de Chimborazo en la Escuela de Bioquímica y Farmacia se han realizado varias investigaciones en pasifloras sobre la actividad ansiolítica los más relevantes

son en 2014 con la Evaluación del Efecto Ansiolítico del Extracto Hidroalcohólico de Flor de Granadilla (*Passiflora ligularis*) en Ratones (*Mus musculus*) por Pallo, M , en Febrero de 2014 con la Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de taxo (*Passiflora tripartita var. Mollissima*) en ratones (*Mus musculus*) por Riofrio. K, y en Marzo de 2014 Evaluación del efecto ansiolítico del extracto Hidroalcohólico de flor de Badea (*Passiflora Quadrangularis*) En Ratones (*Mus musculus*) por Rea. V, en todos estos trabajos se demostró la existencia de actividad ansiolítica en las Pasifloras suficiente para poder remplazar al fármaco tradicional usado, Diazepam y que los responsables de dicha actividad son los flavonoides y alcaloides presentes en cada una de las plantas, la mejor dosis de estas fueron de 100%, tomando en cuenta que usaron solo flores y extractos hidroalcohólicos.

Otra de las pasifloras ya estudiadas es *P. incarnata* en la investigación “Medicina tradicional: estudios preclínicos de plantas con propiedades ansiolíticas” por Sollano. M, en México en 2011, indicándose que en estudios preclínicos se observó que en diferentes modelos de ansiedad se reporta que los monoflavonoides de esta planta inducen efectos ansiolíticos semejantes, e incluso superiores, a los producidos por Diazepam. (Sollozo. M, 2011)

Los ensayos farmacológicos en animales en el estudio de plantas medicinales para el insomnio en 2008 en Madrid por el centro de investigaciones sobre fitoterapia, con extracto Hidroalcohólico de partes aéreas de *Pasiflora incarnata* tuvo actividad en el SNC en una concentración al 40% con una reducción de actividad locomotora en el ratón, y mediante el uso solo de flores en una concentración del 70% presento disminución de hipermotilidad. Además afirman que el extracto Hidroalcohólico de *P. edulis* y *P. alata* ha demostrado actividad ansiolítica a las dosis de 50% y 100% (Donoso. A, 2008)

En cuanto a solventes, estudiando un fraccionamiento bio dirigido del extracto hidroalcohólico de *P. incarnata*, mediante el ensayo de laberinto elevado en cruz, se comprobó que los efectos ansiolíticos eran de mayor intensidad en extractos hidroalcohólico que en los extractos clorofórmicos. También se estudió su mecanismo de acción teniendo en cuenta la implicación del sistema gabaérgico en la patología de la ansiedad, y se ha comprobado que inhibe la recaptación en recetores GABA sin afectar a su liberación.

En ratón, la administración de un extracto comercial (375 mg/kg) indujo un efecto ansiolítico similar al inducido por Diazepam (1,5 mg/kg) con la identificación de los flavonoides homoorientina, orientina, vitexina e isovitexina responsables de la actividad. También se realizó un ensayo con un grupo de pacientes diagnosticados de trastorno de ansiedad generalizada. Se

comparó el efecto de oxazepam (30 mg/día) con extracto de pasiflora (45 gotas/día), durante 28 días. Dando como conclusión que no se encontraron diferencias significativas en la sintomatología evaluada mediante la escala de Hamilton entre el grupo tratado con pasiflora y el tratado con el fármaco ansiolítico, a los 4, 7, 17, 21 y 28 días tras el inicio de los tratamientos lo que sugirió un remplazo eficaz. (Carretero, 2015)

Dentro de los modelos de animales para analizar la actividad ansiolítica, se encuentran los condicionados y los no condicionados, en 2013 en Cartagena, La investigación de “la actividad ansiolítica de extracto acuoso de llantén y menta”, se realizó mediante la prueba del test elevado, usando una maqueta en forma de cruz con brazos largos, este se evaluó satisfactoriamente, obteniendo buenos resultados frente al control usado, siendo el Diazepam. Se determinó que este test es uno de los más eficaces para determinar los niveles de ansiedad, relajación, estrés y curiosidad, tomando en cuenta que este último se va relacionar con los 5 sentidos y el sistema nervioso. (Caro, D. 2013).

Se corrobora esta aseveración con los resultados del estudio bibliográfico “Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas” de Renojo y colaboradores en 2011, Colombia, que indican que es el modelo mejor validado desde el punto de vista conductual, farmacológico y fisiológico para tratar la ansiedad. (Renojo, 2011).

1.3. Bases teóricas

1.3.1. Salud mental

La salud mental se define como un estado de bienestar en el cual el individuo es consciente de sus propias capacidades, puede afrontar las tensiones normales de la vida, puede trabajar de forma productiva y fructífera y es capaz de hacer una contribución a su comunidad. La dimensión positiva de la salud mental se destaca en la definición de salud que figura en la Constitución de la OMS: «La salud es un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades». (OMS, 2013)

En el Ecuador, el ministerio de salud empezó en el 2012 a tomar más importancia en este punto que cada vez afecta a más personas, tomando en cuenta los datos en crecimiento recogidos mediante una encuesta del 2009 sobre la salud mental del Ecuador se ha podido determinar los grupos sociales más susceptibles, teniendo:

- ✓ Condiciones económicas muy buenas: 11%
- ✓ Condiciones buenas: 28%
- ✓ Condiciones regulares: 40%
- ✓ Condiciones malas: 45%
- ✓ Indígenas: 54%

Teniendo además como grupo poblacional de más riesgo personas que oscilan entre los 61 y 70 años de edad a nivel nacional. (INEC, 2009).

De esto se derivan los principales problemas de salud mental. Entre 2008 y 2010 las cinco primeras causas asociadas con la salud mental en el Ecuador fueron

1 la depresión, que aumentó 108 a 113 casos por 100.000 habitantes,

2 la ansiedad, 66 a 99 casos

3 la epilepsia, 47,8 a 63,2 casos y

4 el retardo mental, 25,2 a 37 casos (Salud de las Américas, 2009)

Los dos primeros puntos son las de más relevancia y al mismo tiempo los más fáciles de tratar cuando son detectados a tiempo.

Cabe recalcar que estos se encuentran relacionados y que en algún momento el uno va provocar la Aparición de la otra patología, es decir la ansiedad puede provocar depresión y viceversa.

Estos datos si bien son alarmantes no son representativos ya que muchas ocasiones a nivel de consulta ambulatoria se confunden los problemas principalmente la depresión y ansiedad con otro tipo de enfermedad física.

1.3.2. Ansiedad y depresión

Tanto ansiedad como depresión son formas de reaccionar ante eventos externos o internos. Por lo que en ellas son muy importantes las atribuciones. Si un evento lo vemos como una amenaza se disparará nuestro sistema de alerta (la ansiedad), si lo interpretamos como una pérdida o un fallo, seguramente se activará nuestro sistema de conservación de energía (la depresión).

Sin embargo se debe relacionar entre ellos para un diagnóstico efectivo, las clasificaciones internacionales de los trastornos mentales se han hecho eco de estas coincidencias. La CIE-10, clasificación efectuada por la Organización Mundial de la Salud, incluye el trastorno mixto ansioso-depresivo donde se dan diferentes posibilidades de combinación de síntomas propios de la ansiedad y propios de la depresión.

En ambos casos se trata de una respuesta exagerada que aparece en los 3 meses siguientes a un acontecimiento que generó extremos estados de ánimo. Estas reacciones o trastornos se pueden manifestar con síntomas predominantemente de ansiedad, de depresión, de una combinación de ambas o de otras emociones o conductas perturbadoras (ira, preocupación, violencia, etc.). (Luna. M, 2002).

1.3.3. Depresión

La depresión es un trastorno mental frecuente, que se caracteriza por la presencia de tristeza, pérdida de interés o placer, sentimientos de culpa o falta de autoestima, trastornos del sueño o del apetito, sensación de cansancio y falta de concentración, que se puede diagnosticar de forma fiable y que puede ser tratado por no especialistas en el ámbito de la atención primaria

La depresión puede llegar a hacerse crónica o recurrente y dificultar sensiblemente el desempeño en el trabajo o la escuela y la capacidad para afrontar la vida diaria. En su forma más grave, puede conducir al suicidio. Si es leve, se puede tratar sin necesidad de medicamentos, pero cuando tiene carácter moderado o grave se pueden necesitar medicamentos y psicoterapia profesional. (OMS, 2014).

1.3.4. Ansiedad

La ansiedad es básicamente un mecanismo defensivo. Es una respuesta de alerta ante situaciones consideradas amenazantes. Es un mecanismo universal, se da en todas las personas, es normal, adaptativo, mejora el rendimiento y la capacidad de anticipación y respuesta. La función de la ansiedad es movilizar al organismo y mantenerlo alerta y dispuesto para intervenir frente a los riesgos y amenazas, de forma que no se produzcan o perjudiquen. La ansiedad pues, nos empuja a tomar las medidas convenientes según el caso y la naturaleza del riesgo o del peligro.

La ansiedad pues, como mecanismo adaptativo, es buena, funcional, normal, y no representa ningún problema de salud. Sin embargo, en algunos casos, este mecanismo funciona de forma alterada, es decir, produce problemas de salud y, en lugar de ayudarnos, nos incapacita. (Chávez. H, 2010).

Sin embargo la población común frecuentemente usa de manera indistinta los términos de ansiedad y angustia, y confunde éstos con miedo, temor o fobia. Para colmo, éste fenómeno se da también, quizá algo atenuado entre los miembros del equipo de salud, quienes además tienen dificultad de diferenciar entre la ansiedad o angustia normal y la patológica, diferenciación que resulta imprescindible para definir la conducta del equipo de salud.

1.3.5. *Ansiedad según la cie 10*

Según la codificación CIE 10:

F06.4 trastornos de ansiedad.

F41.1 trastorno de ansiedad generalizada.

Trastorno emocional caracterizado por una sensación subjetiva de malestar, de temor no especificado, que el paciente no puede explicar. Se acompaña de episodios agudos de pánico, su etiología es variada, generalmente en relación con factores exógenos. Afecta al 5% de la población, en particular a jóvenes. Se acompaña con frecuencia de estrés, con un componente sintomático de naturaleza neurovegetativa. En el anciano, la ansiedad puede presentarse como un síntoma, un síndrome o estar asociado a depresión o demencia. La depresión ansiosa es la forma de presentación más común de la ansiedad en la vejez: 95% de los ancianos deprimidos presentan síntomas de ansiedad; la ansiedad, a su vez, puede afectar el curso y pronóstico a corto y largo plazo de la depresión. (MSP, 2012).

1.3.6. *Ansiedad en medicina:*

En el ejercicio de la medicina, la ansiedad es un epifenómeno de la casi totalidad de patologías clínico-quirúrgicas, cuando no se convierte en una condición patológica frecuentemente somatizada que se confunde con patologías cardíacas como la angina de pecho, el infarto de miocardio, los trastornos del ritmo cardíaco; en otros casos se confunde con patologías respiratorias como el asma, la tromboembolia pulmonar, u otras formas de insuficiencia respiratoria aguda. Otras veces es confundida con enfermedades del tracto gastrointestinal, e incluso muchas patologías endocrinas se manifiestan precozmente con ansiedad con o sin síntomas somáticos, como el hipertiroidismo, el hipotiroidismo, el Síndrome de Cushing, así también los trastornos por consumo de sustancias o bien la de privación en el consumo de ellas. (Chávez. H, 2010).

1.3.6.1. Grupos susceptibles.

En cuanto a la predisposición, las mujeres tienen más riesgo que los hombres de padecer un trastorno de ansiedad, y la prevalencia de la mayoría de los trastornos de ansiedad en el caso de las mujeres duplica a la de los hombres, excepto en el caso de la fobia social, en la que las diferencias fueron menores. La edad de inicio de los trastornos de ansiedad es menor que la de los trastornos depresivos. Esto parece indicar que muchas personas que durante la niñez, adolescencia o primeros años de la vida adulta presentan trastornos de ansiedad tienen un mayor riesgo de desarrollar un trastorno depresivo posterior. Por lo tanto, un abordaje terapéutico de los trastornos de ansiedad puede prevenir la aparición de posteriores trastornos depresivos (MSC, 2013).

1.3.6.2. Manifestaciones:

La ansiedad normal no siempre es fácil de diferenciar de la ansiedad patológica. Un criterio bastante aceptado es el de que la ansiedad normal es más bien pasajera y siempre relacionada a un hecho identificable, guarda proporción entre estímulo-respuesta y ocasiona pocas repercusiones del desempeño social y laboral. La ansiedad patológica se caracteriza por todo lo contrario además de que la persona vive un sufrimiento intenso. Se considera que la ansiedad es patológica por su presentación irracional, ya sea porque el estímulo está ausente, la intensidad es excesiva con relación al estímulo o la duración es injustificadamente prolongada y la recurrencia inmotivada, generando un grado evidente de disfuncionalidad en la persona. (IMSS)

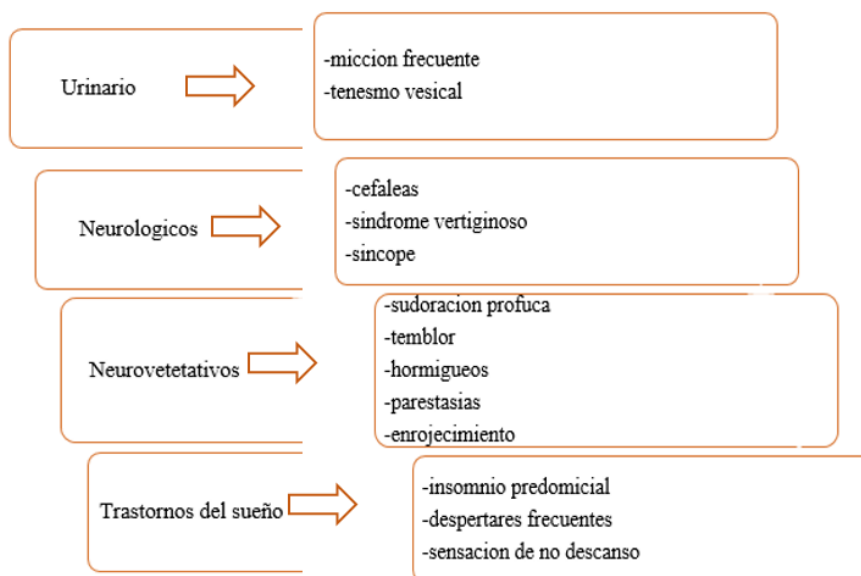


Figura 1-1: síntomas físicos de la ansiedad

Fuente: medina, 2002.

A parte de estos síntomas existes manifestaciones somáticas, estas son más específicos para un tipo de patología y en ocasiones solo un médico puede identificar, en otros casos pueden provocar alguna patología subsecuente.

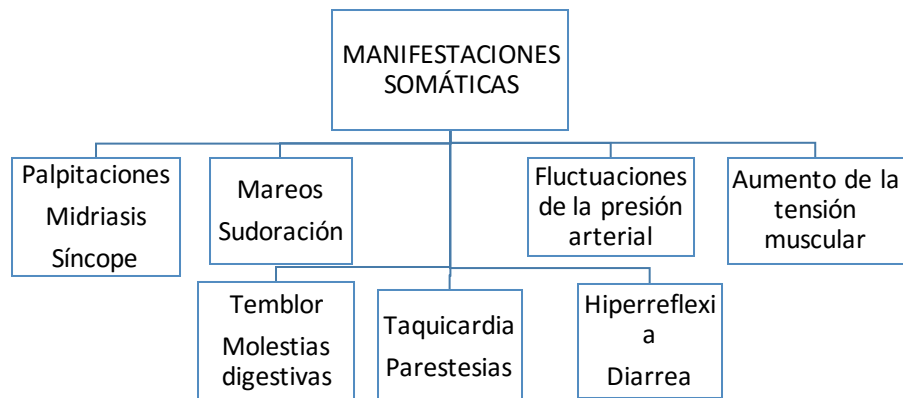


Figura 2-1: manifestaciones somáticas de la ansiedad

Fuente: medina, 2002

Pero los síntomas más indicativos son los psicológicos o psíquicos, estos se manifiestan por la conducta y comportamiento de la persona, estos determinan la ansiedad como enfermedad y ayudan a catalogarla.

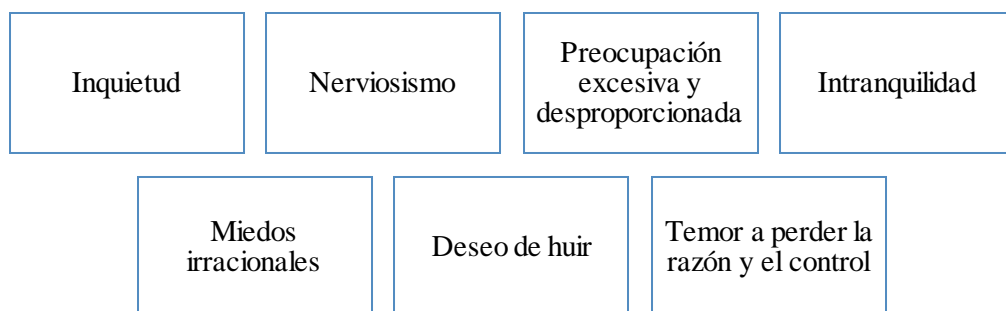


Figura 3-1: manifestaciones psicológicas de la ansiedad

Fuente: Medina, 2002

1.3.6.3. Niveles de ansiedad:

Ansiedad como sentimiento es una sensación normal de tensión provocado por estímulos internos como recuerdos, pensamientos, fantasías o problemas.

Ansiedad como síntoma (ej. "siento como si me van a dar una mala noticia" o "como un mal presentimiento", "nerviosismo", "ansias", etc.) Forma parte de cualquier enfermedad psiquiátrica y constituye el componente psicológico esencial de los trastornos de ansiedad. El síntoma ansiedad es al trastorno por ansiedad lo que la tristeza es al trastorno por depresión.

Ansiedad como síndrome es el conjunto de síntomas psíquicos, físicos y conductuales, mediados por mecanismos neurobiológicos y asociados a diferentes etiologías. El síndrome ansioso puede ser secundario a intoxicación, abuso, abstinencia o efecto secundario de sustancias; hipertiroidismo, hipoglicemia, insuficiencia cardíaca, epilepsia, o bien ser producido por cualquier trastorno de ansiedad.

La ansiedad como enfermedad es cuando el cuadro clínico ansioso está claramente definido, tiene su propia etiopatogenia, evolución, pronóstico y tratamiento. Es por lo tanto un trastorno primario (ej. trastorno por pánico, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno por fobia social, etc.) (Reyes, 2004).

1.3.6.4. Tipos de ansiedad:

Antes de consumir ansiolíticos se necesita distinguir el tipo de ansiedad. Se debe considerar el tipo de fármaco que se prescribe, pues existen diferencias de latencia para la aparición del efecto, tiempo de vida media, la inducción de sedación al principio del tratamiento o como efecto adverso persistente (Brailowsky, 2008).

Se reconocen 6 tipos de ansiedad:

- 1.- Ansiedad generalizada: Leve, pero continua. Por lo general la padecen aquellas personas que con frecuencia se preocupan excesivamente de detalles de la vida cotidiana.
- 2.- Ansiedad relacionada con el estrés: Estos casos se puede identificar con factores que aparece repentinamente provocando angustia, puede ser algún acontecimiento traumático como, la enfermedad o la separación de un ser querido, la inminencia de un pago, un examen, por lo general este tipo de ansiedad la poseen estudiantes y trabajadores.

3.- Crisis de pánico. Son ataques de pánico breves con duración de 3 a 10 minutos, extremadamente intensos, existe la sensación de muerte o crisis existencial. La sensación de angustia puede durar más tiempo incluso hasta días pero la crisis verdadera no dura más de 10 a 15 minutos.

4.- Fobias sociales. Es un tipo de ansiedad más intensa que aparece cuando se siente miedo profundo tiene que hablar en público o abordar a un desconocido, o el llamado pánico escénico, a este tipos de personas les cuesta hacer amistades o relacionarse con los demás.

5.- Alteraciones médicas o medicamentos que generan síntomas de ansiedad: Cuando alguien se queja de angustia no siempre quiere decir que su molestia es psicológica o psiquiátrica: hay enfermedades y algunas sustancias que pueden producir ansiedad; entre las patologías que se asocian a estados ansiosos se incluyen la insuficiencia coronaria, enfermedades endocrinas, síndrome premenstrual, enfermedades neurológicas degenerativas, hipoglicemia, alcoholismo, etc., y drogas como las anfetaminas, la cafeína, la cocaína, los esteroides, los descongestionantes nasales o la medicación antiasmática.

6.- Síntomas de ansiedad que forman parte de una enfermedad mental, este tipo de ansiedad por lo general va acompañado de más trastornos mentales como depresión, esquizofrenia, TOC, demencia, incluso anorexia y bulimia.

1.3.6.5. Tratamiento para ansiedad

En dependencia de esto se va a escoger al fármaco adecuado.

Tabla 1-1: fármacos de elección según el tipo de trastorno de ansiedad

<i>Tipo de ansiedad</i>	Fármaco
<i>1. Ansiedad generalizada</i>	Buspirona
<i>2. Ansiedad relacionada con el estrés</i>	Diazepam
	Clordiazepóxido
	Clorazepato
	Oxazepam Lorazepam
	Alprazolam

3. Crisis de pánico

Clobazam

Alprazolam

Antidepresivos

tricíclicos Inhibidores de

la MAO Clonazepam

4. Fobias sociales

Propranolol Inhibidores

de la MAO

5. Insomnio relacionado con el estrés

Flurazepam Temazepam

Triazolam

Quazepam

Fuente: (Gutiérrez, 2012)

1.3.7. Benzodiazepinas

De todos los tratamientos realizados, el principal grupo de agentes ansiolíticos es el de las benzodiazepinas con su abreviación BDZ, estas son drogas que aparecieron en 1960, y tienen su acción en el Sistema Nervioso Central, tienen la característica de ser más seguras que los barbitúricos, actualmente existen más de 15 tipos de BZD para tratar los malestares psicológicos. (Gutiérrez, 2012).

En el ámbito clínico se caracterizan por producir varios efectos como los de sedación y disminución de la ansiedad, también reducción del insomnio, relajación muscular, así como efectos anticonvulsivantes. Dependiendo del efecto deseado las BZD se clasifican por el tiempo de acción sobre el sistema nervioso (Bravo. M, 2013).

Tabla 2-1: vida media de las benzodiazepinas según su tipo de acción

<i>Tipo de BZD</i>	<i>Vida Media</i>
<i>Acción larga</i>	24 – 60 Horas
<i>Acción media</i>	12 - 30 Horas
<i>Acción corta</i>	3 – 15 Horas

Fuente: (Bravo, 2013)

1.3.7.1. Mecanismo de acción de Benzodiazepinas

El mecanismo de acción de las benzodiazepinas como se indica en la figura 4-1 se basa en las funciones de los receptores GABA, estos al unirse al fármaco se produce la apertura de los canales de Cloro, esto hace que la célula se vuelva más resistente a la excitación, es decir las desensibiliza. De esta manera se inhibe los impulsos nerviosos y se controla la ansiedad. (Gutiérrez. I 2012).

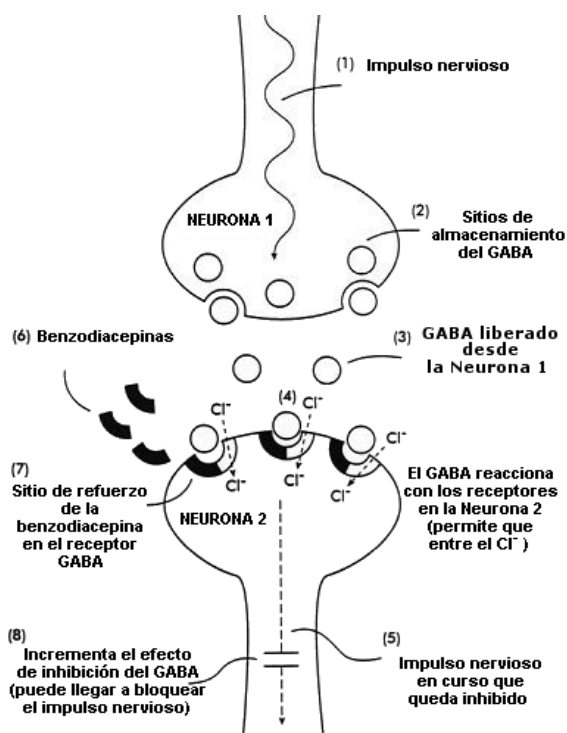


Figura 4-1: mecanismo de acción de las BZD

Fuente: (Sánchez, 2010)

1.3.7.2. Efectos adversos y secundarios

De todos los tratamientos realizados, el principal grupo de agentes ansiolíticos es el de las benzodiazepinas con su abreviación BDZ, estas son drogas que aparecieron en 1960, y tienen su acción en el Sistema Nervioso Central, tienen la característica de ser más seguras que los barbitúricos, actualmente existen más de 15 tipos de BZD para tratar los malestares psicológicos. (Bravo. M, 2013).

En el ámbito clínico se caracterizan por producir varios efectos como los de sedación y disminución de la ansiedad, también reducción del insomnio, relajación muscular, así como efectos anticonvulsivantes. Dependiendo del efecto deseado las BZD se clasifican por el tiempo de acción sobre el sistema nervioso (Gutiérrez. I, 2012).

Compuesto (Nombre comercial)	Aplicaciones terapéuticas	Posibles efectos secundarios
Alprazolam (XANAX)	Trastornos de ansiedad, agorafobia.	Los síntomas de abstinencia pueden ser particularmente graves. Además puede causar irritabilidad, verborragia, aturdimiento, somnolencia.
Clonazepam (KLONOPIN)	Trastornos convulsivos, tratamiento auxiliar en caso de manías y en ciertas anomalías de los movimientos	Se crea tolerancia a los efectos anticonvulsivos. Dificultad en la concentración y recordar eventos, visión borrosa, cambios en el deseo y la capacidad sexual.
Clorazepato (TRANXENE)	Trastornos de ansiedad y trastornos convulsivos.	Somnolencia, mareos, cansancio, debilidad, cambios en el apetito, diarrea y malestar estomacal.
Lorazepam (ATIVAN)	Trastorno de ansiedad	Somnolencia, mareos, cansancio, sensación de sequedad en la boca, diarrea, malestar estomacal, cambios en el apetito, agitación, visión borrosa, cambios en el impulso sexual.
Diazepam (VALIUM)	Trastornos de ansiedad, epilepsia.	Somnolencia, mareos, cansancio, sensación de sequedad en la boca, diarrea, malestar estomacal, cambios en el apetito.

Figura 5-1: Efectos secundarios de algunas benzodiazepinas según su acción terapéutica

Fuente: (Montalvo, 2015)

1.3.8. Fitoterapia en ansiedad

Después la evolución de la industria farmacéutica, la medicina natural, alternativa o herbaria tiene un nuevo florecimiento, es como si volviera a sus raíces, especialmente en los países en desarrollo, donde no sólo se rescata un rico acervo cultural, sino que constituye una valiosa fuente donde obtener una gran cantidad de principios activos. Estos principios activos pueden ser utilizados de forma natural o semisintética y constituyen una alternativa de solución para numerosos problemas de la salud pública en el tratamiento de las enfermedades. (Ruiz. A, 2005).

1.3.9. Modelos animales para el estudio de ansiedad

Una vez determinados los metabolitos secundarios con actividad terapéutica en una planta, se confirma mediante la aplicación. Uno de los recursos científicos para corroborar la dicha actividad y el del efecto de los medicamentos tradicionales, es recurrir al uso de pruebas en modelos animales sensibles de manifestar modificaciones de conducta en el sujeto de

estudio, el modelo de análisis va a depender del órgano o célula diana de la actividad (Renojo, J, 2011).

En el caso de la ansiedad el método más efectivo es la administración por vía oral usando ratones y someterlo a pruebas psicolepticas específicas para determinar niveles de ansiedad, estrés y temor. La ventaja de usar estos animales es de utilizar sustancias que se obtienen previamente en el análisis fitoquímico en cantidades pequeñas y el utilizar ratones permite el óptimo empleo de este recurso. (Renojo, J, 2011).

Las pruebas en roedores se pueden clasificar en condicionadas y no condicionadas.

1.3.9.1. Pruebas condicionadas

Estas se basan en las respuestas que tiene el animal ante un estímulo con una respuesta ya establecida de otro estímulo. Por lo general el estímulo es agresivo hacia el animal con un choque eléctrico, Estos modelos permiten un control bastante preciso de los niveles de conducta basal por parte del experimentador.

Las desventajas que tienen son el entrenamiento previo al animal, la cantidad de individuos que se usa. (Polanco, A, 2008).

1.3.9.2. Pruebas no condicionadas

no requieren de entrenamiento, por lo que son menos sensibles a procesos motivacionales y se basan en respuestas espontáneas de la conducta del ratón; éstas han permitido el desarrollo de una serie de paradigmas basados en la observación.

Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad de una variedad de conductas del roedor y la mayoría de los procedimientos conductuales para el estudio farmacológico de la ansiedad se basan en este tipo de pruebas. (Renojo, J, 2011).

1.3.9.2.1. La prueba de campo abierto,

Valora el grado de “emocionalidad” (ansiedad). Consiste en colocar al roedor en un medio ambiente desconocido. Es ampliamente utilizada para evaluar tanto la ansiedad como la actividad locomotriz; asimismo, es una prueba que permite que el ratón exhiba un amplio rango de conductas.

La prueba se hace en una caja de vidrio cuyo piso se divide con líneas pintadas de color negro formando cuadros. La prueba se registra durante cinco minutos y, generalmente, se toman dos medidas: el total de la distancia recorrida, número de líneas cruzadas marcadas en el piso considerada como la actividad locomotriz, y el tiempo de permanencia en el área central de la caja.

Con el uso de nuevas tecnologías se han implementado monitorizaciones por videocámara y sistemas técnicos, mediante las cuales se han podido evaluar otras conductas como:

- Estiramiento del cuerpo
- Sumersión de la cabeza
- Estiramiento con soporte a la pared y
- retornar al brazo cerrado

También, se han incluido, las distribuciones espaciales de ciertas posturas o actos (como en sumergir la cabeza en relación a la estancia en el tipo de brazo, “protegido” o “no protegido”)

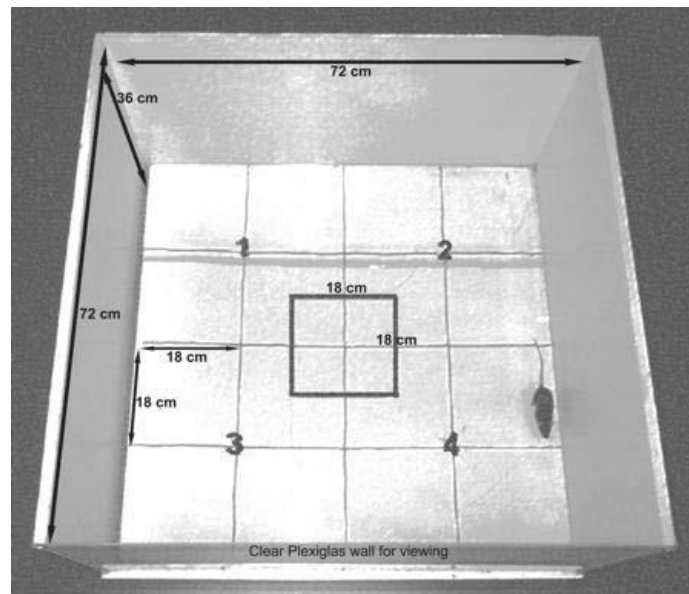


Figura 6-1: prueba del campo abierto en ratones

Fuente: (Caro, 2013)

1.3.9.2.2. El laberinto elevado

Es un modelo válido para evaluar la ansiedad, porque utiliza estímulos naturales, miedo a los espacios abiertos y miedo caminar sobre una plataforma elevada y relativamente estrecha,

que inducen ansiedad en los humanos; también se considera que el miedo que genera en los roedores se debe a la falta de estímulos tigmotácticos.

En este método se utiliza un laberinto en forma de cruz con dos extremos cerrados y dos abiertos, colocado con una elevación del piso. La prueba dura cinco minutos; se coloca al ratón en el centro del laberinto con dirección hacia un espacio abierto y se cuantifica el tiempo que permanece en los espacios, así como el número de entradas a cada espacio.

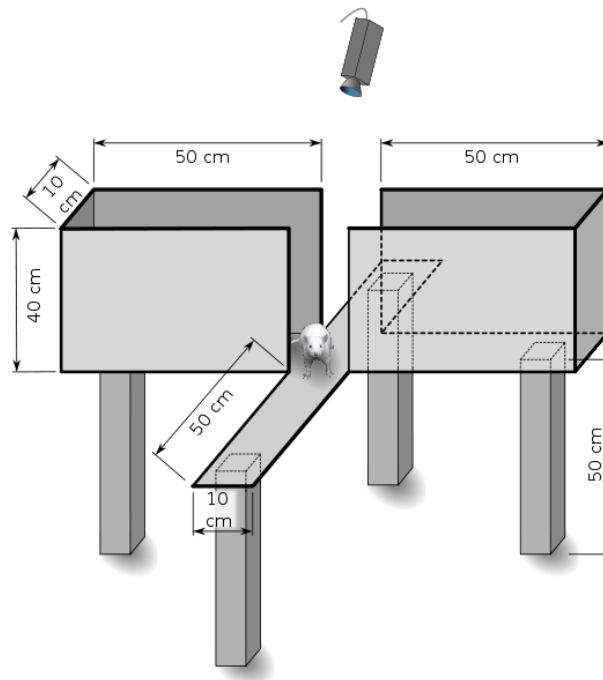


Figura 7-1: prueba de laberinto elevado para ratones

Fuente: (Caro, 2013)

1.3.9.2.3. La prueba de la caja luz/oscuridad

Se desarrolló inicialmente para ratones. El principal factor ansiogénico 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.

En este método se usa una cámara de prueba oscurecida con pintura negra sobre un tercio de su superficie; tiene una abertura que separa la zona sombreada de la zona sin pintar, la cual se ilumina con una lámpara fluorescente. Al comienzo de la prueba, el animal se coloca en el lado brillante de la caja y se observa su conducta, registrándola en un periodo de 5 minutos. (Renojo. J, 2011).



Figura 8-1: maqueta para ensayo de cuarto claro/oscuro

Fuente: (Caro, 2013)

1.3.9.2.4. Test de la chimenea

Esta prueba evalúa la capacidad de un ratón de subir marcha atrás por un tubo de vidrio del diámetro apropiado según sea el peso del ratón (28 mm para un ratón de peso comprendido entre 20 y 30 g), y que está marcado a una distancia de 20 cm de uno de los extremos. Se introduce el ratón por el extremo del tubo más próximo a la marca y cuando el ratón haya alcanzado el extremo opuesto, se coloca el tubo en posición vertical e inmediatamente el ratón intenta ascender marcha atrás. Un ratón en condiciones normales consigue sobrepasar la marca en un 128 tiempo inferior a 30 segundos. Si presenta incoordinación motriz no consigue hacerlo (Castillo y Sánchez, 1995)

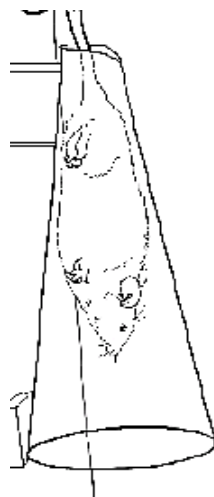


Figura 9-1: test de la chimenea para ratones

Fuente: (Donoso, 2010)

1.3.10. . *Pasifloras*

En el Ecuador existe una gran biodiversidad, que favorece el estudio de muchas plantas y sus efectos terapéuticos. Uno de ellos es la familia de la pasiflorácea, grupo al que pertenece la llamada flor del pasión o maracuyá, cuyo efecto ansiolítico ya ha sido determinado y comprobado, y ya comercializado como ansiolítico. A más de esta planta existen más especies de pasifloras aun sin estudiar, dos de ellas *Pasiflora tripartita* y *Pasiflora manicata*.

La familia Passifloraceae cuenta con 18 géneros y alrededor de 630 especies distribuidos a través del Neo trópico. Las características generales son que poseen estructura liana herbácea o leñosa, raramente arbustiva o arborescente, con hojas simples y alternas. (Ocampo. J, 2010)

Las especies de pasifloras poseen una morfología específica lo que las hacen fácilmente identificables y catalogadas, teniendo por partes:

La mayoría de las plantas son trepadoras que pueden tener tallos muy largos y flexibles que se van a enroscar en otras plantas. Pueden alcanzar los 40 metros de tallo enroscado.

Poseen hojas lobuladas, algunas presentan hasta 3 lóbulos, de color verde oscuro con brillo en la parte delantera.

Las flores presentan unos colores muy llamativos como rojo, amarillo, algunas de color blanco brillante, las formas son diversas, por lo general presentando 5 sépalos. (Andrés. M, 2013).

Desde tiempos antiguos se utilizaban las hojas, flores y cascaras de frutos como calmante, ayudar a la relajación y sedante. Actualmente se estudió la acción de algunas especies, la más común *Pasiflora edulis*, también llamada fruta de la pasión o maracuyá de la cual incluso ya se ha elaborado formas farmacéuticas y dosificación.

1.3.10.1. *Pasiflora tripartita*



Figura 10-1: *Pasiflora tripartita*, ilustración botánica

Fuente: (miles, 2000)

1.3.10.1.1. Clasificación taxonómica

Tabla 3–1: clasificación taxonómica de *Pasiflora tripartita*

<i>Reino</i>	Plantae
<i>Familia</i>	Passifloraceae
<i>Género</i>	Tacsonia
<i>Especie</i>	<i>Passiflora tripartita.</i>

Fuente: (Esquerre, 2014)

Elaborado por: (Idrobo, 2016)

Sinónimos: curuba, taxo, Curubas, Tumbo, Parcha, Tacso

1.3.10.1.2. Descripción de la planta:

Planta trepadora mediante zarcillos, tallos teretes, amarillo-vellosos, de varios metros de expansión. Estípulas subreniformes, de 7-9 mm de largo y 3-4 mm de ancho, aristada, denticulada o subentera.

Hojas alternas, pecioladas, pecíolos hasta 3 cm de largo, canaliculados, con 8-12 glándulas sésiles, trilobadas, partidas, lóbulos ovados u ovado-oblongos, 3-4 cm de ancho, agudos, serrado-dentados, membranáceos, lóbulos laterales divergen 45° de la nervadura central, ligeramente pubescentes en el haz y gris o amarillo-tomentosas en el envés; lámina de 5-10 cm de largo por 6-12 cm de ancho. Brácteas de 2,5-3 cm de longitud, agudas, unidas 1/3 a 1/2 de su longitud.

Flores solitarias péndulas, axilares, sobre pedúnculos de 6-8 cm de largo; tubo del cáliz de 6,5-8 cm de longitud y 1 cm de diámetro, ligeramente dilatado en la base, verde oliváceo externamente, blanco internamente, glabro; sépalos 5, oblongos, 2,5 a 3,5 cm de largo, 1 a 1,5 cm de ancho, obtusos, aristulados, raramente pubérulos en su parte externa; pétalos 5, subiguales a los sépalos, obtusos, rosados, tubo de la corola 6-10 cm de largo; corona reducida a una banda purpúrea con unos pocos tubérculos o crenulaciones; ovario seríceo-tomentoso, estilos libres.

Fruto baya oblonga, de 6-9(-12) cm de largo por 4-5 cm de diámetro, epicarpio de color amarillo-claro y cubierta de pubescencia fina, mesocarpio compuesto de arilo anaranjado cubriendo a numerosas semillas.

Semillas negras de 6-7,8 mm de largo, 5 mm de ancho, 2 mm de grosor, ampliamente obovadas, simétricas, ápice con un solo cuerno, base aguda, testa reticulada. (Rodríguez. R, 2009).



Figura 11-1: partes de *P. tripartita*, (1) hojas, crecimiento de enredadera, (2) flor colgante de la planta.

Fuente: (Hunt, 2014)

1.3.10.1.3. Hábitat:

Es nativa de los Andes. En Perú, donde crece tanto en la costa como en la montaña y la selva, se diferencia por el tamaño, sabor y color (amarillo, negro, rojo, etc.) del fruto. En Ecuador se da en zonas con lluviosidad entre 800 a 1.500 mm anuales bien distribuidos y altitud entre los 2000 y 3200 msnm.

En Ecuador, el taxo se cultiva en la serranía, especialmente en Imbabura, Pichincha, Tungurahua, Chimborazo, Azuay, Cañar y Loja. En Pichincha su cultivo se encuentra asociado con los árboles de capulí, y en Tungurahua, con los de tomate árbol.

Para su producción se seleccionan los mejores frutos, de estos se extraen las semillas y se las deja secar bajo sombra. Se planta en semilleros y luego se trasplanta al sitio definitivo. El cultivo se efectúa sobre espalderas (sistema de soporte para la planta) dado que es un arbusto trepador. (MCP, 2015).

1.3.10.1.4. Usos comunes:

Sus frutos son usados en la alimentación de los pobladores en los países andinos. En Ecuador se la conoce con el nombre común taxo. En ambas especies se han realizado diversos estudios para conocer los componentes orgánicos presentes en sus frutos. (Noriega. P, 2013).

Por lo general la parte más usada y comercializada es el fruto, este posee gran cantidad de vitamina C y se puede consumir crudo por tener un sabor dulce, y es muy cotizado en la región sierra, por la gran variedad de platillos que se puede hacer con ello.

También la planta en si se lo utiliza generalmente el pueblo indígena como calmar y relajar en mujeres durante los ciclos menstruales, sirve para afecciones del corazón. Las hojas se usan para combatir los golpes e hinchazones mediante emplastos convidados con otras plantas analgésicas como la manzanilla, mientras que las flores se usan principalmente en Imbabura de manera machacada para blanquear la cara y curar el espanto. (MCP, 2015).

1.3.10.2. *Pasiflora manicata*



Figura 12-1: *Pasiflora manicata*, ilustración botánica

Fuente: (Miles, 2000)

1.3.10.2.1. Clasificación taxonómica

Tabla 4-1: clasificación taxonómica de *Pasiflora manicata*

<i>Reino</i>	Plantae
<i>Familia</i>	Passifloraceae
<i>Género</i>	tacsonia
<i>Especie</i>	<i>Pasiflora manicata</i>

Fuente: (Esquerre, 2014)

Elaborado por: (Idrobo, 2016)

Nombre Común: Flor de la pasión, Curubo de Monte, Diablito, taxo de monte.

1.3.10.2.2. Descripción de la planta

Plantas pubescentes o glabras en las superficies adaxiales de las láminas foliares, flores y frutos. Tallos angulares, esencialmente glabros o pubescentes.

Hojas: ovadas, trilobuladas, de 4.2 a 10.0 cm de largo y 5.0 a 12.0 cm de ancho, redondeadas o ligeramente acorazonadas en la base, glandular, aserradas en las márgenes, densamente pubescentes en la superficie abaxial, con 4 a 9 nectarios generalmente estipitados, de 1 a 2 mm de largo repartidos sobre la superficie adaxial; estípulas generalmente suborbiculares, de 1.5 a 2.0 cm de largo y 0.5-1.0 cm de ancho, con dentaciones gruesas en el margen.

Flores: erectas de 5.0 a 5.6 cm de largo; hipantios cilíndricos, de aproximadamente 2 cm de largo; sépalos oblongos o lanceolados de 3.0 a 3.6 cm de largo, de aproximadamente 6 mm de ancho, pétalos sub-iguales a los sépalos, rojos; corona en 3 o 4 series, con filamentos de hasta 4 mm de largo, con series más exteriores color morado, con la serie interior de color blanco.

Frutos: obovados u oblongos, de 3.5 a 5.5 cm de largo y 2.0 a 3.7 cm de ancho, con pericarpio coriáceo, verde al madurar; semillas obovadas a acorazonadas, de 3.5 a 5.1 mm de largo y 2.0 a 3.0 mm de ancho, con testa reticulada, color café oscuro; arilo anaranjado poco succulento. (Vergara. J, 2008).



Figura 13-1: partes de *P. manicata*, (1) hojas, crecimiento e enredadera, (2) flor de la planta.

Fuente: (Hunt, 2014)

1.3.10.2.3. Distribución geográfica

Es nativa de Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú. Posiblemente es originaria de los Andes de Perú y Chile, entre 1400m -2800 m de altitud. Crece de forma silvestre como una enredadera.

1.3.10.2.4. Usos comunes

El fruto no es considerado como comestible porque no se puede diferenciar claramente el estado maduro del estado inmaduro, durante el cual los frutos pueden tener efectos tóxicos y sicótrópos.

La planta en si se le considera como arbusto ornamental por poseer las flores de un color rojo peculiar y forma atractiva. Las hojas y flores se usan como relajantes en ciertas zonas del Ecuador pero es en menor proporción que las otras especies de Pasifloras.

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

El protocolo general a seguir en la investigación se muestra en la figura 1-2, aquí se puede visualizar desde los procesos de obtención de extractos en dependencia de la base teoría y su contenido de metabolitos seguido por la secuencia para el análisis farmacológico para la evaluación ansiolítica de cada extracto en ambas plantas.

La elaboración de los extractos y análisis de citotoxicidad se realizaron en el laboratorio de Productos naturales, mientras que el análisis de la actividad ansiolítica se realizó en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

2.1. Recolección del Material vegetal

La planta *Pasiflora manicata* fue recogida en la vía Pallatanga en la parroquia Juan de Velasco, en el kilómetro 487, en las coordenadas Latitud: -1.9604512388160387, Longitud: -78.97372299625663, Altitud: 2377 msnm

La planta *pasiflora tripartita* fue recolectada en el barrio de Villa María de la parroquia Velasco en la ciudad de Riobamba con las coordenadas Latitud: 1 40 36,84, Longitud: 78 38 30,94 Altitud: 2753 msnm

2.2. Identificación botánica

La identificación botánica no se realizó, en este punto se tomó como referencia los datos obtenido en un estudio etno botánico realizado en la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH por el Sr. Luis Sánchez en 2015.

2.3. Lugar de investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Productos Naturales y en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

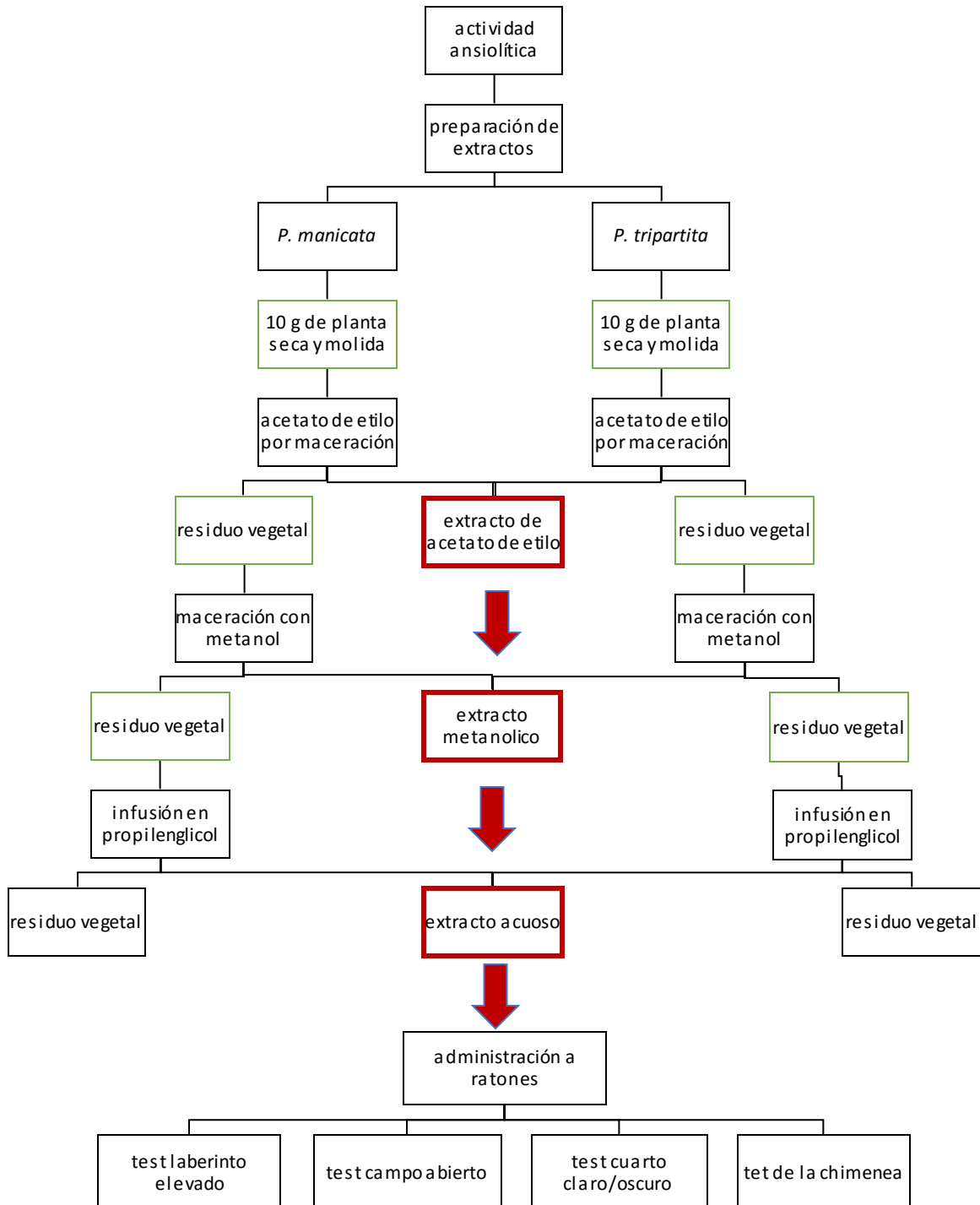


Figura 1-2: diseño de trabajo para comprobación de actividad ansiolítica

Elaborado por: (Idrobo, 2016)

2.4. Secado y molienda

Las partes usadas de cada planta son hojas y flores, estas son desecadas al aire libre a una temperatura no mayor a 45°C alejados de los rayos del sol, cuando se seca queda crujiente y quebradizo, cuando toda la materia vegetal este seca es molida y almacenada en bolsas ziploc procurando sellar sin que quede aire en su interior.

2.5. Elaboración de los extractos

Tomando en cuenta la base bibliográfica de la presencia de flavonoides de estudio, agliconas así como glicosidos, se elaboran tres tipos de extractos comprobación de actividad ansiolítica por solubilidad del compuesto, los solventes de elección en orden de extracción fueron acetato de etilo, metanol, y agua.

2.5.1. Extracto de acetato de etilo

Para la extracción con acetato de etilo se recogen 10 gramos de planta seca y molida y se macera en frio por 24 horas en 50 mililitros de acetato de etilo, seguido se coloca el macerado a 30 minutos en sonicación, el resultado se filtra al vacío, y la solución resultante se concentra por rotavapor a sequedad y se determina el rendimiento. Esto se realiza tanto a hojas y flores de cada planta por separado



Figura 2-2: diseño de extracción por acetato de etilo

Elaborado por (Idrobo, 2016)

2.5.2. Extracto de metanol

Se toma el residuo de planta el extracto anterior y se vuelve a macerar en metanol durante 24 horas seguido de 30 minutos en sonicación, de igual manera se filtra al vacío y la solución se concentra por rotavapor a sequedad y se determina el rendimiento.

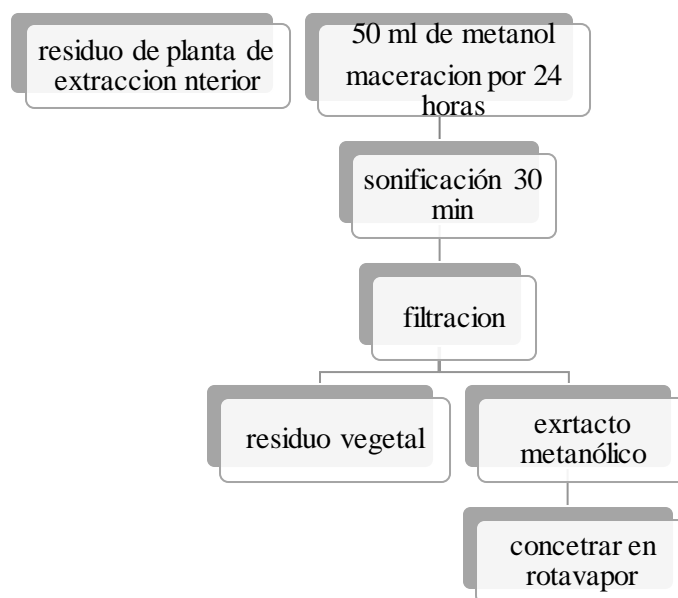


Figura 3-2: diseño de elaboración de extracto metanólico

Elaborado por: (Idrobo, 2016)

2.5.3. Extracto acuoso

De nuevo se toma el residuo de la planta de los extractos anteriores y se agrega en solución de propilen glicol al 10% caliente a manera de infusión, este se filtra en algodón y enfría, para la administración inmediata.

En total se obtienen 12 extractos, 3 de flores y 3 de hojas de *p. manicata* y 3 de hojas y 3 de flores de *p. tripartita*.

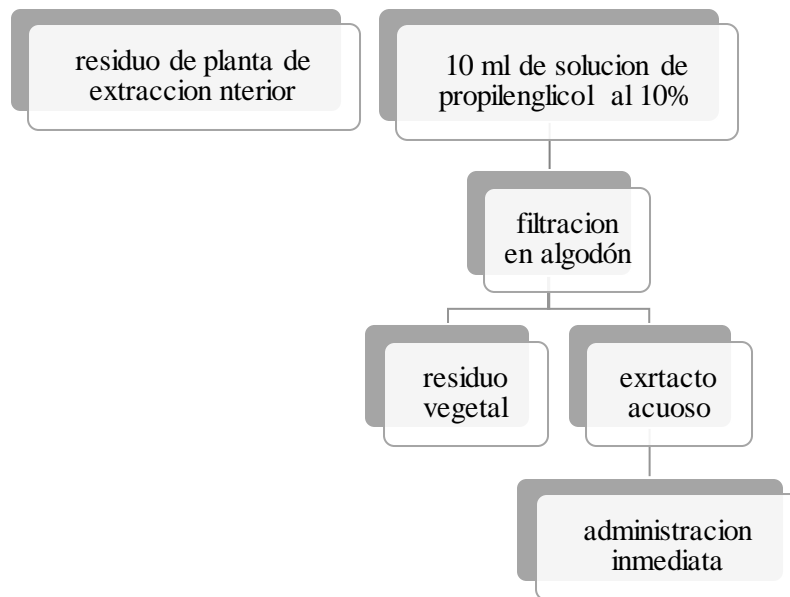


Figura 4-2: elaboración de extracto acuoso

Elaborado por: (Idrobo, 2016)

2.6. Evaluación de la actividad ansiolítica

La evaluación se realizó in vivo sobre ratones mus musculus, estos fueron seleccionados bajo parámetros físicos y fisiológicos, teniendo en cuenta ciertos aspectos como:

Sexo: se utilizó ratones hembra, estas poseen un sistema nervioso más susceptible por los cambios hormonales y cambios en el estro y maternidad.

Edad: de preferencia se usan individuos adultos de esta manera se evita alteraciones por el crecimiento, se controla de mejor manera el peso, actividad, la alimentación, hidratación, son más resistentes ante la manipulación que se le va a dar.

Macro ambiente: se usó las instalaciones del Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, se tomara una habitación separada del resto del lugar, adecuado para los animales, este va tener rangos de temperatura y humedad adecuada, silencio total, fuera del alcance de iluminación, y se van agrupar 5 ratones pertenecientes al número de asignación de grupo por cada caja.

Micro ambiente: la agrupación por caja fue aleatoria dentro del grupo muestral, la alimentación e hidratación fueron de acuerdo a la norma de cuidados de animales de experimentación vigente,

La caja contó con las adecuaciones pertinentes como, el piso con viruta, ventilación constante, y lugar para colocar alimento y bebida.

La distribución que se muestra en las tablas 1-2 y 2-2 se da por selección aleatoria, en grupos de 5 ratones para uno.

Tabla 1-2: selección de individuos para la evacuación de actividad ansiolítica en *Pasiflora tripartita*

GRUPOS	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
Numero de ratones	5	5	5	5	5	5
Especies	<i>Mus musculus</i>					
Sexo	Hembras					
Edad	Adulta 6 - 10 semanas					
Peso promedio	25- 35 g					
Administración	Única a cada miembro del grupo					
Tipo de administración	Vía oral					
Materia prima	<i>Pasiflora tripartita</i>					
Parte de la planta usada	Hojas	flores	Hojas	Flores	hojas	flores
solvente	Extracto metanólico		Extracto Acetato de Etilo		Extracto acuoso	

Realizado por: (Idrobo, 2016)

Tabla 2-2: selección de individuos para la evaluación de actividad ansiolítica en *Pasiflora manicata*.

GRUPOS	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
Número de ratones	5	5	5	5	5	5
Especie	<i>Mus musculus</i>					

Sexo	Hembras					
Edad	Adulta 6 - 10 semanas					
Peso promedio	25 – 35 g					
Administración	Única a cada miembro del grupo					
Tipo de administración	Vía oral					
Materia prima	<i>Pasiflora manicata</i>					
Parte de la plante usada	Hojas	flores	hojas	flores	hojas	flores
solvente	Extracto de Acetato de Etilo		Extracto metanólico		Extracto acuoso	

Realizado por: (Idrobo, 2016)

Control positivo	5 ratones total con administración de medicamento comercial para todos los extracto en ambas especies de pasiflora.
Medicamento	Clonazepam
Dosis	0,5 mg por cada kilogramo de peso de ratón
Blanco	5 ratones en total sin administración de ningún tipo de fármaco ni extracto.

2.6.1. Test para actividad ansiolítica

Se tomaron como referencia pruebas no condicionadas, prueba del laberinto elevado, prueba de campo abierto, prueba de cuanto claro/oscuro y prueba de actividad miorelajante.

En cada una de las pruebas el parámetro a tratar es el tiempo y el comportamiento del ratón frente al ambiente donde se encuentra.

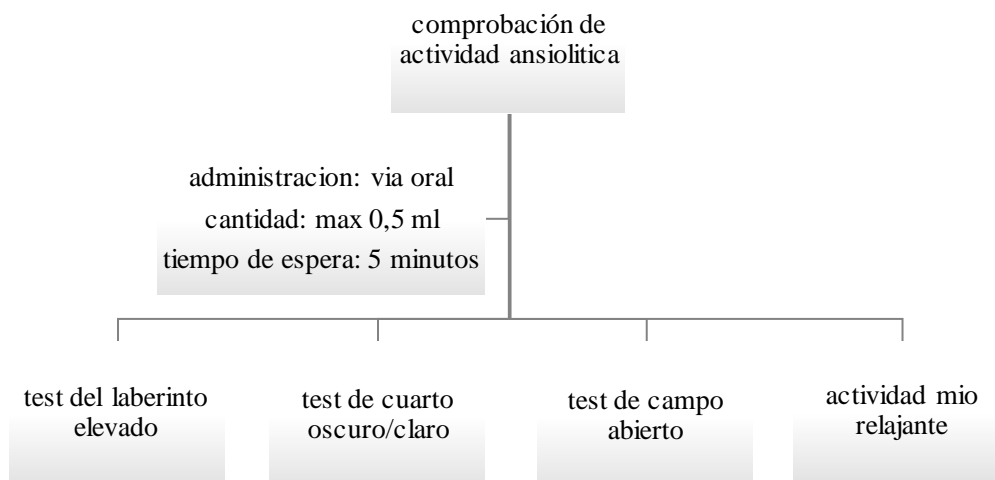


Figura 5-2: distribución para la evaluación de actividad ansiolítica

Elaborado por: (Idrobo, 2016)

2.6.1.1. Laberinto en Cruz elevado (EPM)

El laberinto en cruz elevada o EPM por sus siglas en inglés se compone de dos brazos abiertos perpendiculares de material de madera con dimensiones de 30cm x 5cm y dos brazos cerrados perpendiculares de 30cm x 5cm x 25cm de altura. Los brazos abiertos y cerrados se conectan por una plataforma central de 5cm x 5cm. El laberinto se encuentra a 50 cm por encima del suelo. Después de la administración por vía oral de los tratamientos, el animal se coloca en el centro del laberinto con su nariz en la dirección de uno de los brazos cerrados. El ratón se observa durante 5 min, para una mayor confiabilidad estos fueron filmados todo el tiempo y el siguiente parámetro fue controlado: el tiempo dedicado por el animal en los brazos abiertos. La teoría de este test es que los compuestos ansiolíticos reducen la aversión natural del animal para huir hacia los brazos cerrados y promueven la exploración de los brazos abiertos. El aparato debe ser limpiado cuidadosamente con solución de etanol al 10% después de cada prueba.

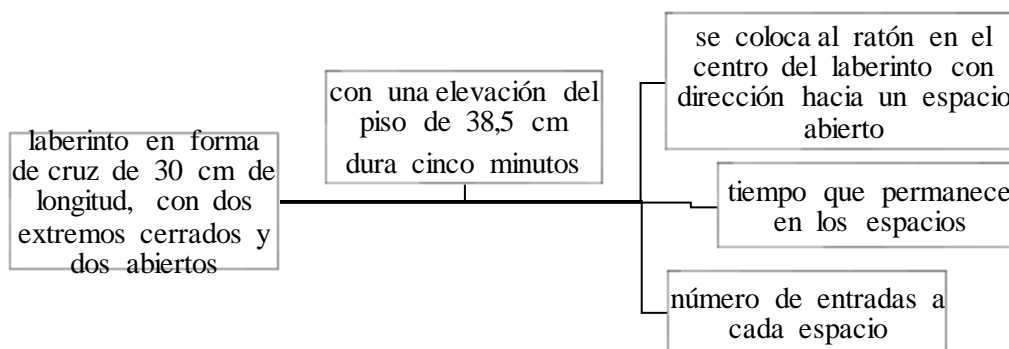


Figura 6-2: diseño del test de laberinto elevado

Realizado por: (Idrobo, 2016)

2.6.1.2. Ensayo de Campo Abierto (OFT)

La maqueta para la prueba de campo abierto tiene las dimensiones de 60cm × 60cm y se compone de un piso de color blanco dividido en 16 cuadrados (15cm × 15cm), encerrado por muros continuos de 40 cm de alto. En esta prueba, cada ratón se colocó en el centro del campo abierto, que era novedoso para el animal. Se tomó en cuenta el tiempo de permanencia del ratón en el centro de la maqueta, anotadas durante el tiempo de 5 min. El comportamiento del ratón fue gravado de forma continua por una cámara de video que se coloca sobre la estructura.

La mecánica de este test es que el animal rehúye de los campos abiertos en estado de alerta y miedo, prefiriendo ir junto a las paredes, caso que no ocurre en ratones relajados.

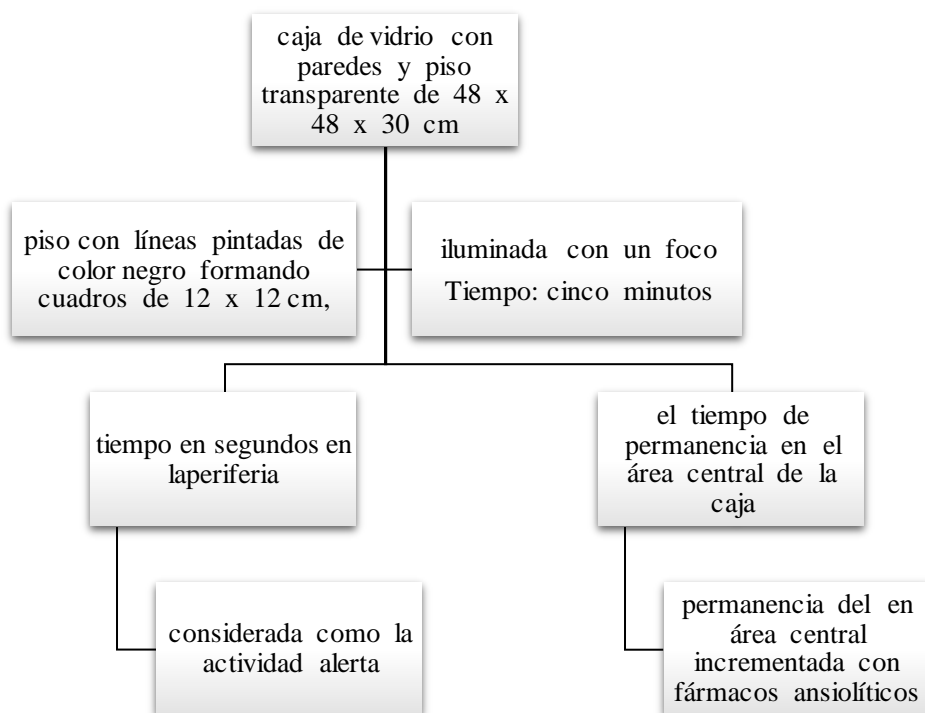


Figura 7-2: diseño del test de campo abierto

Realizado por: (Idrobo, 2016)

2.6.1.3. Test de luz-oscuridad (*light-dark test box*)

El test de luz-oscuridad consta de una caja de madera con dos compartimientos separados por una mampara o una pared en la que existe una abertura por la que el animal puede pasar de una zona a otra. Las medidas de la caja son de 45 x 27 x 27 cm. El suelo del compartimiento oscuro está

pintado de negro y ocupa un tercio de la caja. La zona adyacente tiene el suelo pintado de blanco. El suelo de ambos compartimientos está dividido en casillas de 9 x 9 cm.

La duración de la sesión es de 5 min. Al animal se le introduce en el compartimiento iluminado y con todo el cuerpo en dirección a la abertura o túnel. La sesión se graba en vídeo para su posterior análisis.

El parámetro conductual evaluado en esta prueba es, tiempo total que pasa el ratón en el compartimiento iluminado.

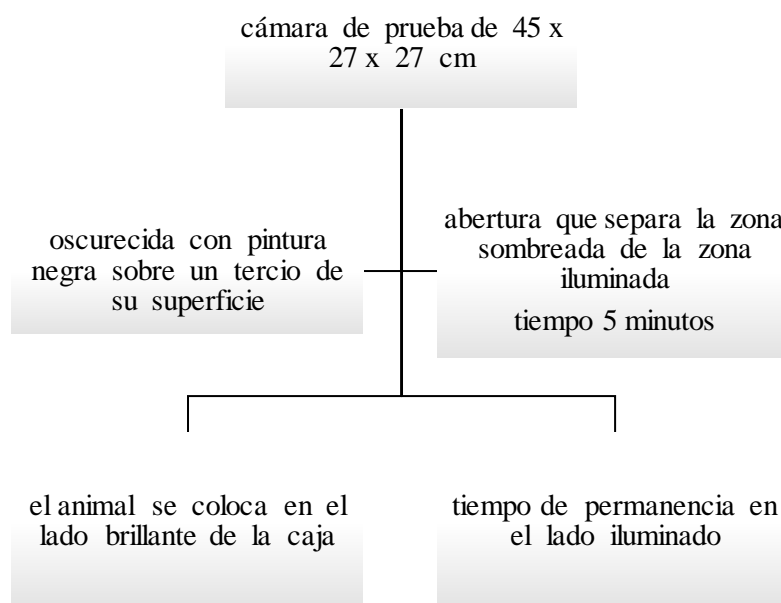


Figura 8-2: diseño de test de cuarto claro oscuro

Realizado por: (Idrobo, 2016)

2.6.1.4. Test de la chimenea

Esta prueba evalúa la capacidad de un ratón de subir marcha atrás por un tubo de vidrio del diámetro apropiado según sea el peso del ratón, y que está marcado a una distancia de 25 cm de uno de los extremos. Se introduce el ratón por el extremo del tubo más próximo a la marca y cuando el ratón haya alcanzado el extremo opuesto, se coloca el tubo en posición vertical e inmediatamente el ratón intenta ascender marcha atrás. Un ratón en condiciones normales consigue sobrepasar la marca en un tiempo inferior a 30 segundos. Si presenta incoordinación motriz no consigue hacerlo, se determina el tiempo en que demora salir el animal de re cola por el tubo de vidrio.

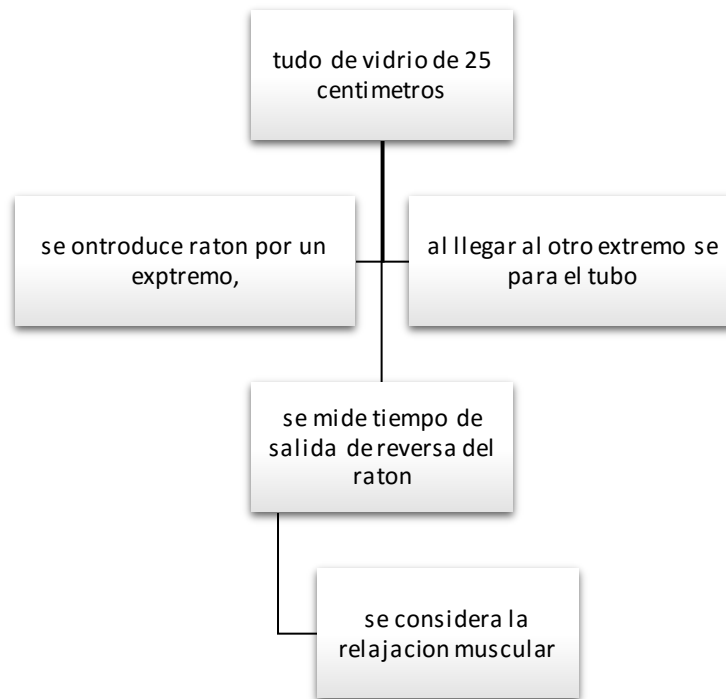


Figura 9-2: diseño del test de test de chimenea

Realizado por: (Idrobo, 2016)

2.7. Actividad cito tóxica

La actividad citotóxica de los extractos se realizó de acuerdo al procedimiento por Meyer, como se indica en el gráfico 10-2 los quistes de *Artemia salina* fueron obtenidos en la ciudad de Salinas y fueron almacenados en un lugar seco a una temperatura estable de 25 °C. En el ensayo se empleó una solución nutritiva con sales que asemeje al agua marina, para esto se usó cloruro de calcio, cloruro de potasio, cloruro de magnesio, cloruro de sodio y sulfato de sodio, para la eclosión de los huevos se utilizó una fuente de calor (reverbero) a temperatura no mayor a 37 grados y el campo estaba iluminado por una lámpara colocada a una distancia aproximada de 30 cm, y se dejó reposar por 24 horas. Se utilizaron 10 larvas que se sometieron a las concentraciones de 10, 100, 500 y 1000 ppm de los extractos utilizados. Además, se incluyó un grupo control con todos los elementos del ensayo, excepto la muestra a ensayar, con tres réplicas para cada grupo. Luego de 24 h se contaron las Artemias vivas para de esta forma determinar la concentración letal 50 (CL50) mediante la curva de mejor.

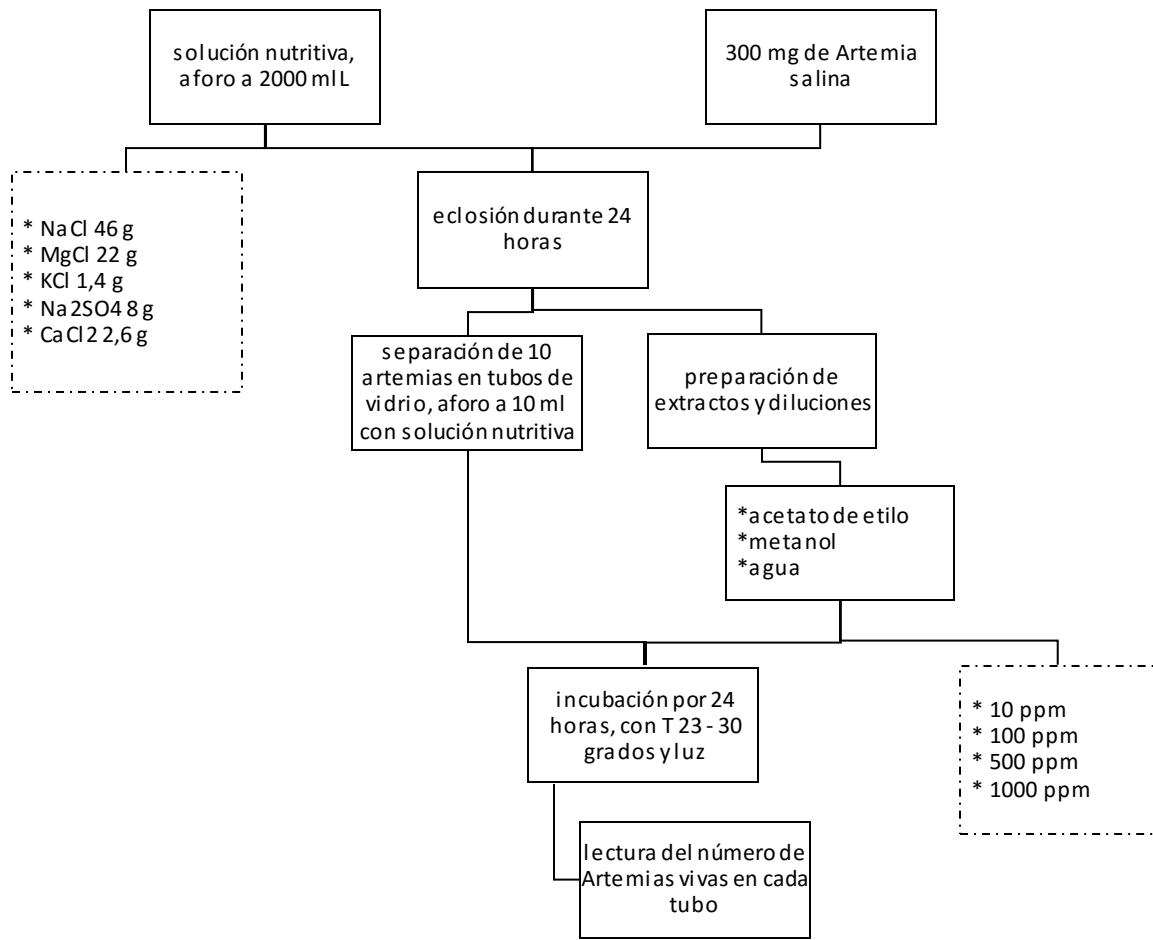


Figura 10-2: diagrama de procedimiento para técnica de cito toxicidad en *Artemia salina*

Realizado por: (Idrobo, 2016)

Para la preparación de los extractos y sus diluciones se tomó 100 mg de extracto seco de acetato de etilo y de metanol, y en el caso del acuoso 100 mg de planta seca y molida, esto se reconstituyó en 10 mL de solución de Propilenglicol al 15%, esta es la solución madre de 1000 ppm, de esto se tomó 1,5 mL y se diluyó con 1,5 mL de solución de propilenglicol, obteniendo extracto de 500 ppm, de la solución madre se tomó 0,5 mL y se aforó a 5 mL con solución de PG logrando extracto de 100 ppm, de esta dilución se tomó 0,5 mL y se aforó a 5 mL con PG esta es la última dilución de 10 ppm, esto se muestra en la figura 11-2.

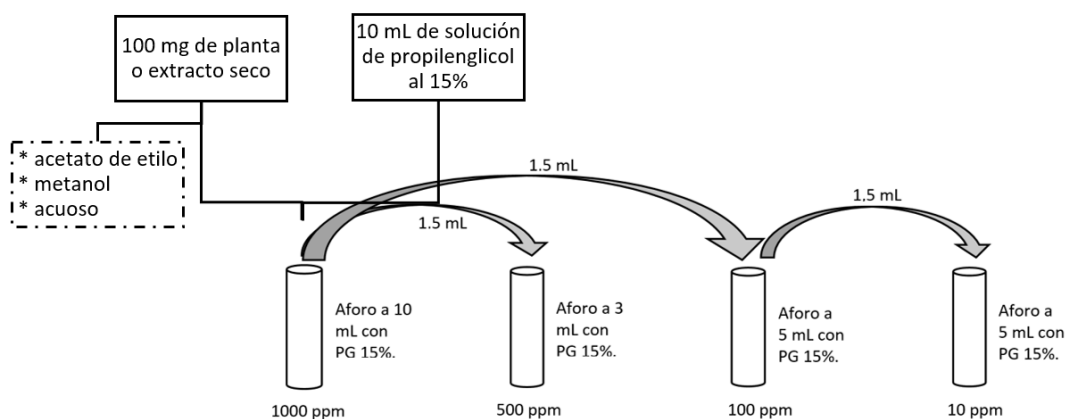


Figura 11-2: preparación de diluciones de extractos

Realizado por: (Idrobo, 2016)

2.8. Análisis estadístico

Los datos se tomarán individualmente de cada prueba, tomando en cuenta principalmente los tiempos según indique técnica.

Para el análisis estadístico se van a realizar dos análisis.

Un análisis por especie de *Pasiflora* de selección de extracto por su función ansiolítica en flores y hojas en el tiempo frente al Diazepam mediante el análisis estadístico usando el test de Anova de un factor, con un posible post Hoc con Tukey b, el cual nos va indicar grupos similares.

Este test se va a realizar para cada prueba realizada independientemente.

Un análisis individual comparativo entre extractos de igual solvente e igual parte de planta en diferente especie, para determinar acción ansiolítica entre pasifloras por solvente.

Es decir, ejemplo: Extracto lipófilo de hojas *P. manicata* vs. Extracto lipófilo de hojas de *P. tripartita*.

Además se propone hacer un ranking global con el objetivo de hacer una valoración global de cada uno de los extractos para determinar el mejor solvente para ejercer actividad ansiolítica.

CAPÍTULO III

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

3.1. Evaluación del efecto ansiolítico

El análisis del efecto ansiolítico se llevó a cabo en un tiempo aproximado de 30 días, en los cuales estaban distribuidos en secuencias de un día de diferencia, de 5 días de adaptación a cada grupo y uno para los análisis del efecto ansiolítico a cada grupo, se estudiaron 12 grupos, 6 de cada planta teniendo en cuenta hojas y flores usadas, a cada parte de la planta se le realizó 3 tipos de extractos, con administración constante de grupos de 50 mg/ kg de extracto seco reconstituido en solución de propilenglicol al 10%. Además un grupo control positivo a una concentración de 0,5 mg/kg de clonazepam y un blanco al cual se le administró polietilenglicol al 10%.

Los ensayos fueron realizados a cada ratón por única vez

Se realizaron cuatro modelos animales para la evaluación del efecto ansiolítico, la berinto cruz elevado (EPM), el ensayo de campo abierto (OFT), ensayo de cuarto claro y oscuro, y test de la chimenea, las consideraciones que con frecuencia se dan en el estudio son:

- Un mayor tiempo de permanencia en los brazos abiertos refleja menor ansiedad ante un entorno inmediato nuevo y novedoso que además genera vértigo.
- Un mayor tiempo de permanencia en los brazos cerrados refleja mayor miedo y ansiedad ante el entorno nuevo.
- Un mayor tiempo de permanencia en el centro del modelo OFT refleja menor ansiedad ante un entorno que sugiere miedo y estrés al animal, comparado con un bosque desierto en el cual los seres vivos de manera general tenemos miedo a ubicarnos en el centro en donde nos sentimos vigilados, amenazados.
- Un mayor tiempo de permanencia en la periferia refleja mayor ansiedad identificada por un reflejo de ubicarse hacia las esquinas, evitando la amenaza que supone el centro del modelo.
- Un mayor tiempo de permanencia en la zona clara del modelo, refleja menor ansiedad ante la claridad que no es tu entorno natural.

- Un mayor tiempo en el cuarto oscuro indica miedo y ansiedad, el ratón busca la oscuridad para sentirse más seguro.
- Un mayor tiempo en salir del tubo de vidrio indica una relajación muscular y tranquilidad ante la posición de cabeza.
- Un tiempo corto en salir del tubo indica estrés y miedo, se muestra desesperación por salir de la posición de cabeza.

Para mayor entendimiento de los tipos de extracto en el análisis estadístico se los codifico con tres letras, la primera es el tipo de planta, manicata (M) y tripartita (T), la segunda letra es la parte de la planta, hojas (H) y flores (F), y la tercera letra indica el tipo de extracto que se usó, acetato de etilo (E), metanol (M), y agua (A).

Tabla 1-3: codificación de grupos de extractos para evaluación de actividad ansiolítica

CÓDIGO	INTERPRETACIÓN
MHE	<i>P. manicata</i> , hojas, acetato de etilo
MFE	<i>P. manicata</i> , flores, acetato de etilo
THE	<i>P. tripartita</i> , hojas, acetato de etilo
TFE	<i>P. tripartita</i> , flores, acetato de etilo
MHM	<i>P. manicata</i> , hojas, metanol
MFM	<i>P. manicata</i> , flores, metanol
THM	<i>P. tripartita</i> , hojas, metanol
TFM	<i>P. tripartita</i> , flores, metanol
MHA	<i>P. manicata</i> , hojas, agua
MFA	<i>P. manicata</i> , flores, agua
THA	<i>P. tripartita</i> , hojas, agua
TFA	<i>P. tripartita</i> , flores, agua

Realizado por: (Idrobo, 2016)

3.1.1. Ensayo de Laberinto elevado (EPM)

Tabla 2-3: tiempo total transcurrido en brazos abiertos, Blanco (B), control positivo clonazepam (CZP), código de extractos (tabla 1-3)

#	B	MHE	MFE	THE	TFE	MHM	MFM
1	47	46	48	30	17	37	20
2	30	31	61	34	28	18	34
3	64	20	33	60	12	18	42
4	25	26	38	45	30	40	21
5	18	40	50	51	28	23	33

TFM	THM	MHA	MFA	THA	TFA	CZP
62	21	82	33	86	115	126
69	45	54	59	38	40	117
58	18	38	58	51	35	216
57	16	33	38	81	18	154
72	37	34	59	73	92	169

Unidireccional

ANOVA

LABERINTO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	72700,171	13	5592,321	14,315	,000
Dentro de grupos	21877,200	56	390,664		
Total	94577,371	69			

Subconjuntos homogéneos

LABERINTO

Tukey B^a

ENSAYO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
tripartita flores etilo	5	23,00	
manicata hojas metanol	5	27,20	
tripartita hojas metanol	5	27,40	
manicata flores metanol	5	30,00	
manicata hojas etilo	5	32,60	
blanco	5	36,80	
tripartita hojas etilo	5	44,00	
manicata flores etilo	5	46,00	
manicata hojas agua	5	48,20	

manicata flores agua	5	49,40	
tripartita flores agua	5	60,00	
tripartita flores metanol	5	63,60	
tripartita hojas agua	5	65,80	
control clonazepam	5		156,40

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

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

Pruebas post hoc

Los resultados del ensayo de laberinto el evado son mostrados en la tabla 2-3. El análisis ANOVA de un factor demuestra una diferencia entre dos grupos. Además el análisis demuestra que existen extractos sin actividad ansiolítica, demostrándose con valores de medias menores en referencia a grupo blanco. Se puede decir que no existe diferencia significativa entre los grupos experimentales y el blanco, pero si existe una diferencia significativa entre cada una de las muestras de ensayo y el control positivo.

3.1.2. Ensayo de Campo abierto

Tabla 3-3: tiempo total de permanencia en el centro del modelo, blanco (B), control positivo (CZP), código de extractos (tabla 1-3)

#	B	MHE	MFE	THE	TFE	MHM	MFM
1	0	8	0	0	11	5	6
2	3	10	12	17	5	9	3
3	8	0	5	18	9	8	5
4	9	22	9	5	7	5	4
5	5	14	8	0	12	6	6

TFM	THM	MHA	MFA	THA	TFA	CZP
8	4	9	10	12	14	150
4	12	15	13	7	17	100
5	5	5	14	8	7	180
2	5	8	6	8	10	200
10	3	7	11	6	12	100

Unidireccional

ANOVA

ABIERTO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	88921,443	13	6840,111	40,948	,000
Dentro de grupos	9354,400	56	167,043		
Total	98275,843	69			

Subgrupos homogéneos

ABIERTO

Tukey B^a

ENSAYO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
manicata flores metanol	5	4,80	
blanco	5	5,00	
tripartita flores metanol	5	5,80	
tripartita hojas metanol	5	5,80	
manicata hojas metanol	5	6,60	
manicata flores etilo	5	6,80	
tripartita hojas etilo	5	8,00	
tripartita hojas agua	5	8,20	
tripartita flores etilo	5	8,80	
manicata hojas agua	5	8,80	
manicata hojas etilo	5	10,80	
manicata flores agua	5	10,80	
tripartita flores agua	5	12,00	
control clonazepam	5		146,00

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

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

Prueba post hoc

ANOVA demuestra una diferencia entre grupos, uno el de control y otros los extractos y el blanco, lo que indica que no hay diferencias significativas entre extractos, además se muestra el extracto de metanol de hojas de *P. manicata* posee una actividad nula, por obtener un valor promedio menor al blanco.

3.1.3. Ensayo de campo claro/oscuro

Tabla 4-3: tiempo total de permanencia en cuarto claro del modelo, blanco (B), control positivo (CZP), cogido de extractos (tabla 1-3)

#	B	MHE	MFE	THE	TFE	MHM	MFM
1	30	52	105	150	56	127	120
2	52	65	95	38	87	78	102
3	27	35	57	86	93	112	96
4	13	58	121	103	84	180	78
5	48	46	53	53	106	123	130

TFM	THM	MHA	MFA	THA	TFA	CZP
53	190	143	100	112	136	239
67	171	74	129	79	115	281
73	81	106	127	94	127	300
63	101	136	125	91	97	270
69	106	98	122	70	103	268

Análisis estadístico

ANOVA

OSCURO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	200090,471	13	15391,575	22,390	,000
Dentro de grupos	38495,600	56	687,421		
Total	238586,071	69			

Subconjuntos homogéneos

OSCURO

Tukey B^a

ENSAYO	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
blanco	5	34,00				
manicata hojas etilo	5	51,20	51,20			

tripartita flores metanol	5	65,00	65,00	65,00		
tripartita flores etilo	5	85,20	85,20	85,20	85,20	
tripartita hojas etilo	5	86,00	86,00	86,00	86,00	
manicata flores etilo	5	86,20	86,20	86,20	86,20	
tripartita hojas agua	5		89,20	89,20	89,20	
manicata flores metanol	5		105,20	105,20	105,20	
manicata hojas agua	5			111,40	111,40	
tripartita flores agua	5			115,60	115,60	
manicata flores agua	5			120,60	120,60	
manicata hojas metanol	5				124,00	
tripartita hojas metanol	5				129,80	
control clonazepam	5					271,60

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

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

Prueba post hoc

El test de anova muestra una diferencia significativa entre grupos, obteniendo 5 grupos homogéneos, en uno de ellos se muestra solo el control (CZP 0,5 mg/Kg), lo que indica que ningún extracto se asemeja a la acción del fármaco, en este ensayo si se muestran grupos con actividad ansiolítica, siendo los de menos actividad el grupo (B) al que pertenece en blanco (PG 15%).

3.1.4. Test de la chimenea

Tabla 5-3: tiempo total que demora en salir del tubo de vidrio de cola el ratón, blanco (B), control de clonazepam (CZP), código de extractos (tabla 1-3)

#	B	MHE	MFE	THE	TFE	MHM	MFM
1	60	15	4	60	16	16	37
2	5	21	11	7	12	60	14
3	16	9	10	18	14	22	43
4	11	15	5	22	13	35	36
5	18	11	7	18	12	25	21

TFM	THM	MHA	MFA	THA	TFA	CZP
20	60	15	55	60	8	60
11	60	14	18	26	14	60
28	60	30	60	13	25	60

8	60	12	60	12	60	48
11	25	12	9	43	31	51

Análisis estadístico

ANOVA

CHIMENEA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	13645,200	13	1049,631	4,555	,000
Dentro de grupos	12905,600	56	230,457		
Total	26550,800	69			

Subconjuntos homogéneos

CHIMENEA

Tukey B^a

ENSAYO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
manicata flores etilo	5	7,40		
tripartita flores etilo	5	13,40		
manicata hojas etilo	5	14,20		
tripartita flores metanol	5	15,60		
manicata hojas agua	5	16,60		
blanco	5	22,00	22,00	
tripartita hojas etilo	5	25,00	25,00	25,00
tripartita flores agua	5	27,60	27,60	27,60
manicata flores metanol	5	30,20	30,20	30,20
tripartita hojas agua	5	30,80	30,80	30,80
manicata hojas metanol	5	31,60	31,60	31,60
manicata flores agua	5	40,40	40,40	40,40
tripartita hojas metanol	5		53,00	53,00
control clonazepam	5			55,80

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

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

Prueba post hoc

En este test se indica que si hay diferencias significativas de medias, existen tres subgrupos homogéneos, en el tercer grupo se encuentra el control positivo (CZP, 0,5 mg/kg) junto con 7 extractos de planta usados, siendo el más similar, el de hojas de *P. tripartita* en metanol, de igual

manera se muestra en el primer grupo extractos sin actividad miorelajante por obtener valores menores al grupo blanco (PG 10%), como el extracto de flores de *P. manicata* en metanol.

3.2. Relación entre extractos

Se realizó también una relación entre grupos, excluyendo al grupo control y grupo blanco, para poder definir diferencias entre tipo de planta, parte de la planta y tipo de extracto usado, para eso se realizó un análisis universal univariante en los cuatro ensayos realizados.

3.2.1. Relación entre extractos en ensayo de laberinto elevado

Se tomaron los datos de la tabla 2-3, en que muestra los resultados del tiempo total de permanencia en brazos abiertos del modelo.

Análisis estadístico

ANOVA

LABERINTO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	12406,200	11	1127,836	3,785	,001
Dentro de grupos	14301,200	48	297,942		
Total	26707,400	59			

Subgrupos homogéneos

LABERINTO

Tukey B^a

ENSAYO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
tripartita flores etilo	5	23,00		
manicata hojas metanol	5	27,20	27,20	
tripartita hojas metanol	5	27,40	27,40	
manicata flores metanol	5	30,00	30,00	30,00
manicata hojas etilo	5	32,60	32,60	32,60
tripartita hojas etilo	5	44,00	44,00	44,00
manicata flores etilo	5	46,00	46,00	46,00
manicata hojas agua	5	48,20	48,20	48,20

manicata flores agua	5	49,40	49,40	49,40
tripartita flores agua	5		60,00	60,00
tripartita flores metanol	5		63,60	63,60
tripartita hojas agua	5			65,80

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

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

Análisis factorial

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: LABERINTO

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo	123862,800 ^a	12	10321,900	34,644	,000
PLANTA	1058,400	1	1058,400	3,552	,066
PARTE	299,267	1	299,267	1,004	,321
EXTRACTO	4881,100	2	2440,550	8,191	,001
PARTE * EXTRACTO	1700,633	2	850,317	2,854	,067
PLANTA * EXTRACTO	1531,900	2	765,950	2,571	,087
PLANTA * PARTE	26,667	1	26,667	,090	,766
PLANTA * PARTE * EXTRACTO	2908,233	2	1454,117	4,881	,012
Error	14301,200	48	297,942		
Total	138164,000	60			

a. R al cuadrado = ,896 (R al cuadrado ajustada = ,871)

El análisis muestra que en el ensayo de laberinto elevado existen diferencias significativas, dando 3 grupos diferenciados, en este ensayo el extracto con mejores resultados es flores *P. tripartita* en metanol y hojas de *P. tripartita* acuoso, también se hizo un análisis por diferenciación de extractos y se muestra diferencias entre tipos de extractos usados, y cuando se toma en cuenta planta, parte y extracto, es decir hay cambios de actividad ansiolítica en dependencia el tipo de solvente usado en los extractos.

,

3.2.2. Relación entre extractos en ensayo de campo abierto

Se tomaron los datos de la tabla 3-3 en que muestra los resultados del tiempo total de permanencia en brazos abiertos del modelo.

Análisis estadístico

ANOVA

ABIERTO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	281,000	11	25,545	1,251	,281
Dentro de grupos	980,400	48	20,425		
Total	1261,400	59			

Subgrupos homogéneos

ABIERTO

Tukey B^a

ENSAYO	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
manicata flores metanol	5	4,80
tripartita flores metanol	5	5,80
tripartita hojas metanol	5	5,80
manicata hojas metanol	5	6,60
manicata flores etilo	5	6,80
tripartita hojas etilo	5	8,00
tripartita hojas agua	5	8,20
tripartita flores etilo	5	8,80
manicata hojas agua	5	8,80
manicata hojas etilo	5	10,80
manicata flores agua	5	10,80
tripartita flores agua	5	12,00

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

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

Análisis factorialc

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: ABIERTO

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo	4217,600 ^a	12	351,467	17,208	,000

PLANTA	,000	1	,000	,000	1,000
PARTE	,267	1	,267	,013	,910
EXTRACTO	183,900	2	91,950	4,502	,016
PARTE * EXTRACTO	58,633	2	29,317	1,435	,248
PLANTA * EXTRACTO	1,300	2	,650	,032	,969
PLANTA * PARTE	29,400	1	29,400	1,439	,236
PLANTA * PARTE *	7,500	2	3,750	,184	,833
EXTRACTO					
Error	980,400	48	20,425		
Total	5198,000	60			

a. R al cuadrado = ,811 (R al cuadrado ajustada = ,764)

El análisis anova muestra que no hay diferencias significativas entre grupos, tomando en cuenta todos los grupos de extractos de ambas plantas, mientras que el análisis univariante indica que sí hay una diferencia entre el tipo de extractos usados.

3.2.3. Relación entre extractos en ensayo de campo claro/oscuro

Se tomaron los datos de la tabla 4-3 en que muestra los resultados del tiempo total de permanencia en brazos abiertos del modelo.

Análisis estadístico

ANOVA

OSCURO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	32696,450	11	2972,405	4,019	,000
Dentro de grupos	35496,400	48	739,508		
Total	68192,850	59			

Subgrupos homogéneos

OSCURO

Tukey B^a

ENSAYO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
manicata hojas etilo	5	51,20		
tripartita flores metanol	5	65,00	65,00	
tripartita flores etilo	5	85,20	85,20	85,20

tripartita hojas etilo	5	86,00	86,00	86,00
manicata flores etilo	5	86,20	86,20	86,20
tripartita hojas agua	5	89,20	89,20	89,20
manicata flores metanol	5	105,20	105,20	105,20
manicata hojas agua	5		111,40	111,40
tripartita flores agua	5		115,60	115,60
manicata flores agua	5		120,60	120,60
manicata hojas metanol	5			124,00
tripartita hojas metanol	5			129,80

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

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

Prueba post hoc

Análisis factorial

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: OSCURO

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo	602486,600 ^a	12	50207,217	67,893	,000
PLANTA	322,017	1	322,017	,435	,512
PARTE	79,350	1	79,350	,107	,745
EXTRACTO	12465,100	2	6232,550	8,428	,001
PARTE * EXTRACTO	11703,100	2	5851,550	7,913	,001
PLANTA * EXTRACTO	3510,033	2	1755,017	2,373	,104
PLANTA * PARTE	1738,817	1	1738,817	2,351	,132
PLANTA * PARTE * EXTRACTO	2878,033	2	1439,017	1,946	,154
Error	35496,400	48	739,508		
Total	637983,000	60			

a. R al cuadrado = ,944 (R al cuadrado ajustada = ,930)

El test de campo claro/ oscuro da tres tipos de grupos homogéneos, donde el extracto con mejores resultados fueron en el hojas de P. tripartita en metanol y hojas de P. manicata en metanol. El análisis univariante muestra diferencias entre el uso de extractos y diferencias significativas tomando en cuenta las combinaciones de parte de planta y tipo de extracto, y tipo de planta y extracto.

3.2.4. Relación entre extractos en ensayo de chimenea

Se tomaron los datos de la tabla 5-3 en que muestra los resultados del tiempo total de permanencia en brazos abiertos del modelo.

Análisis estadístico

ANOVA

CHIMENEA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	9246,183	11	840,562	3,714	,001
Dentro de grupos	10862,800	48	226,308		
Total	20108,983	59			

Subgrupos homogéneos

CHIMENEA

Tukey B^a

ENSAYO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
manicata flores etilo	5	7,40		
tripartita flores etilo	5	13,40	13,40	
manicata hojas etilo	5	14,20	14,20	
tripartita flores metanol	5	15,60	15,60	
manicata hojas agua	5	16,60	16,60	
tripartita hojas etilo	5	25,00	25,00	25,00
tripartita flores agua	5	27,60	27,60	27,60
manicata flores metanol	5	30,20	30,20	30,20
tripartita hojas agua	5	30,80	30,80	30,80
manicata hojas metanol	5	31,60	31,60	31,60
manicata flores agua	5		40,40	40,40
tripartita hojas metanol	5			53,00

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

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

Análisis factorial

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: CHIMENEA

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo	48210,200 ^a	12	4017,517	17,752	,000
PLANTA	260,417	1	260,417	1,151	,289

PARTE	558,150	1	558,150	2,466	,123
EXTRACTO	3437,633	2	1718,817	7,595	,001
PARTE * EXTRACTO	2277,300	2	1138,650	5,031	,010
PLANTA * EXTRACTO	152,633	2	76,317	,337	,715
PLANTA * PARTE	1915,350	1	1915,350	8,463	,005
PLANTA * PARTE * EXTRACTO	644,700	2	322,350	1,424	,251
Error	10862,800	48	226,308		
Total	59073,000	60			

a. R al cuadrado = ,816 (R al cuadrado ajustada = ,770)

En el test de la chimenea, el test de anova muestra tres grupos homogéneos, de los cuales los que mejor actividad miorelajante poseen son los extractos de hojas de *P. tripartita* en metanol y de flores de *P. manicata* acuoso. Tomando en cuenta el estudio univariante se muestra una diferencia significativa en el tipo de extracto, y la relación de parte de la planta y extracto, esto se evidencia en el test de anova siendo que los extractos con acetato de etilo poseen la menor actividad miorelajante.

Al obtener el resultado de la interacción por factores en las cuatro pruebas, se determinó hacer otro análisis de varianza considerando como único factor el extracto, por es este parámetro el único que en los cuatro test presenta diferencia significativa, obteniendo los resultados que se muestran en la tabla 6-3

Tabla 6-3: resultados de análisis ANOVA de un factor (tipo de extracto) general.

<i>FACTOR</i>	<i>Laberinto elevado</i>	<i>Campo abierto</i>	<i>Campo claro/oscur</i>	<i>Chimenea</i>
<i>Extracto</i>	Ac. de etilo <i>a</i> Metanol <i>a</i> Agua <i>b</i>	Ac. de etilo <i>a</i> Metanol <i>ab</i> Agua <i>b</i>	Ac. de etilo <i>a</i> Metanol <i>b</i> Agua <i>b</i>	Ac. de etilo <i>a</i> Metanol <i>b</i> Agua <i>b</i>
<i>F</i>	0,003	0,011	0,003	0,005

Los resultados indican que si hay diferencia significativa entre el uso de algún tipo de extracto, siendo el más diferente el de acetato de etilo.

3.3. Evaluación del efecto citotóxico en Artemia salina

Tala: 7-3: valores del estudio citotóxico en Artemia salina de los diferentes tipos ex extractos usados.

grupo	10,00	100,00	500,00	1000,00
MHE	7,67	5,33	3,00	0,00
MFE	8,00	7,00	3,00	0,33
THE	8,33	7,33	3,67	1,67
TFE	10,00	7,67	6,00	3,00
MHM	8,00	7,00	3,00	0,00
MFM	10,00	8,33	0,00	0,00
TFM	9,33	8,33	6,00	3,66
THM	8,67	7,33	3,67	1,67
MHA	10,00	8,33	5,33	2,33
MFA	9,66	7, 33	4,00	0,66
THA	8,00	5,33	3,33	0,33
TFA	8,67	7,00	2,67	1,00

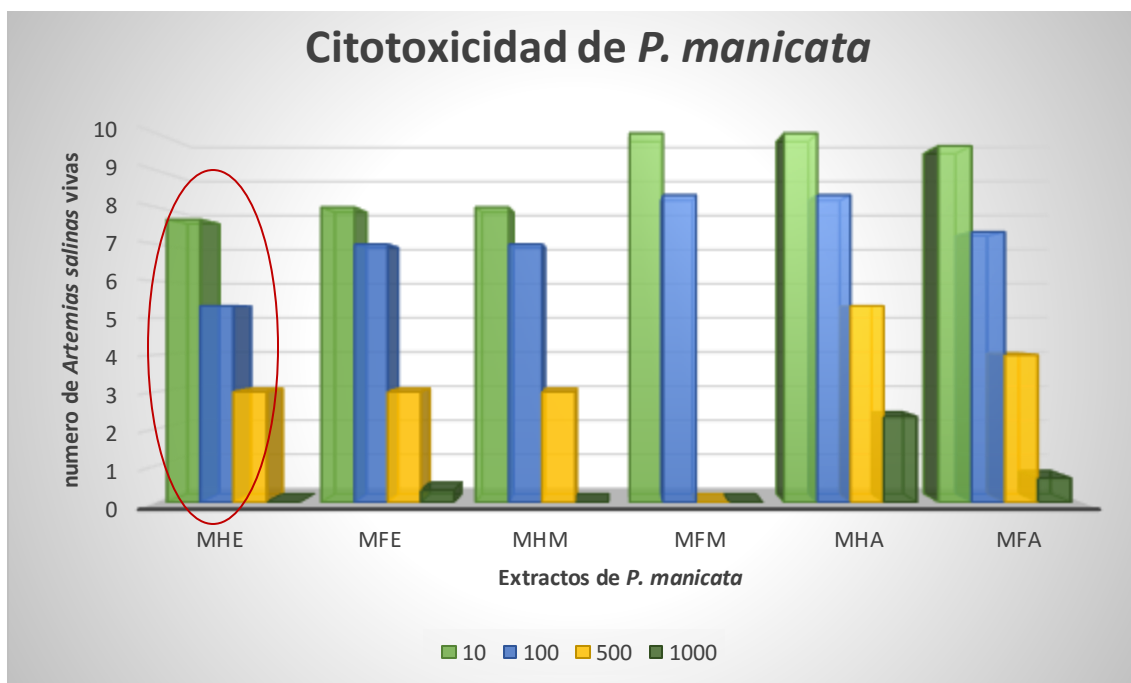


Figura 1-3: niveles de citotoxicidad de los extractos de Pasiflora manicata a las diferentes concentraciones.

Realizado por: (Idrobo, 2016)

En la figura se muestra la secuencia de *Artemias salinas* vivas de los extractos por concentración de *Pasiflora manicata*, donde el extracto con mas crustáceos muertos es el de hojas en acetato de etilo, mientras que el más seguro con menor cantidad de *Artemias* muertas es el de hojas en agua.

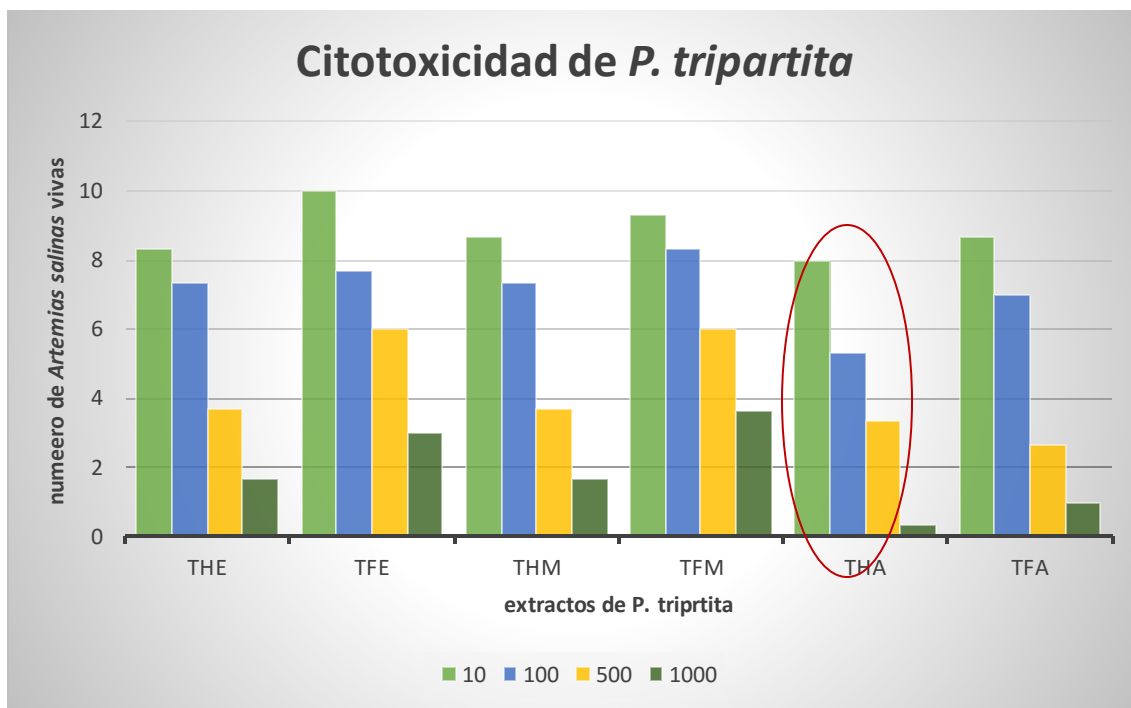


Figura 2-3: niveles de citotoxicidad de los extractos de *Pasiflora manicata* a las diferentes concentraciones.

Realizado por: (Idrobo, 2016)

En la figura se muestra los extractos de *P. tripartita* en el ensayo de citotoxicidad en *Artemia salina*, donde el extracto con más *Artemias* vivas, es decir el más seguro es el flores en acetato de etilo, y el que posee menos *Artemias* es el de hojas en agua.

Tabla 8-3: valores de dosis letal media de cada grupo de estudio.

grupo	DL (50)
MHE	75,15
MFE	116,65
THE	190,63
TFE	507,93

MHM	110,73
MFM	124,63
TFM	675,48
THM	204,27
MHA	440,34
MFA	227,25
THA	90,84
TFA	145,32

Realizado por: (Idrobo, 2016)

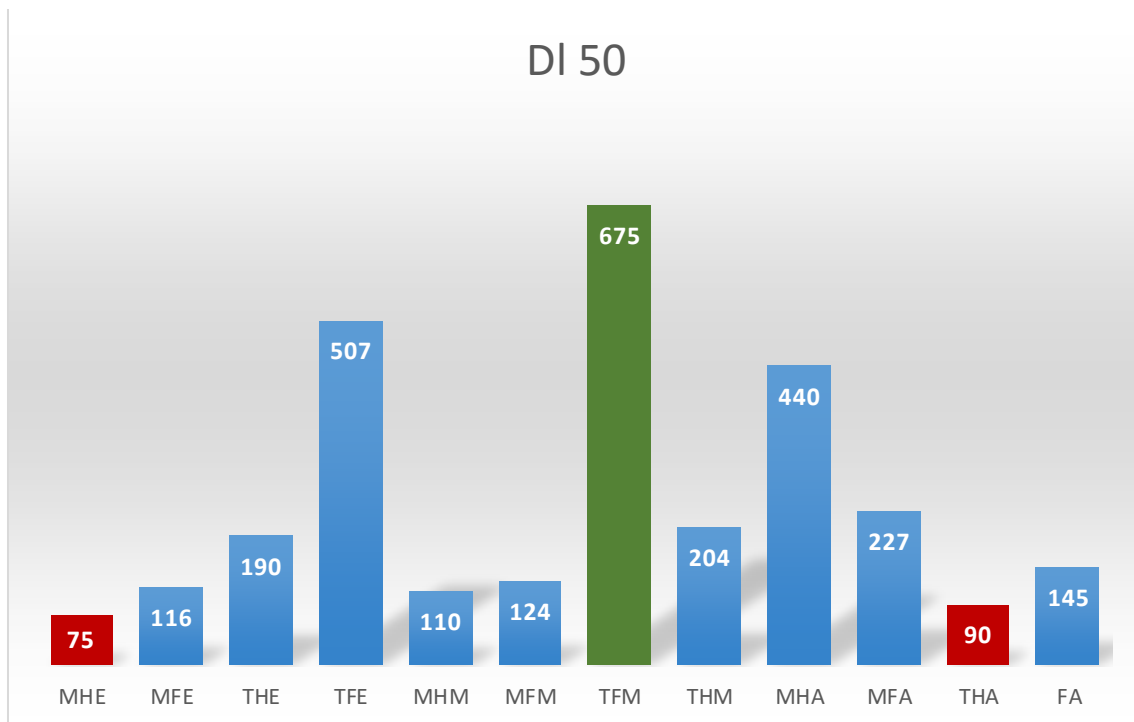


Figura 3-3: dosis letal media de todos los extractos analizados.

Realizado por: (Idrobo, 2016)

Los valores de dosis letal media indican de manera más clara la citotoxicidad en *Artemia salina*, obteniendo como extracto más tóxico el de hojas de *P. manicata* en acetato de etilo, seguido por es de hojas de *P. tripartita* en agua, mientras que el extracto más seguro es el de flores de *P. tripartita* en metanol.

3.4. CONCLUSIONES

Al analizar los grupos de extractos de *Pasifloras* con el grupo placebo (blanco), se determinó que algunos extractos no poseían ninguna actividad ansiolítica o actividad insignificante para su uso como es el caso de flores de *P. tripartita* en acetato de etilo.

En el estudio factorial por tipo de extractos se evidenció cual fue el mejor extracto con actividad ansiolítica, en el ensayo de laberinto elevado considerando la variable “tiempo total de permanencia en brazos abiertos” el mejor extracto fue el de hojas de *Pasiflora tripartita* en extracto acuoso y flores de *P. tripartita* en metanol.

En el modelo de campo abierto, como variable “tiempo total de permanencia en el centro del modelo” se obtienen resultados negativos al considerarse que no hay diferencias entre extractos, esto puede deberse al diseño del modelo usaron al poseer una pared transparente de la cual generaba ansiedad en los ratones, mientras que en el ensayo de campo claro/oscuro y en el de chimenea, ambas pruebas no condicionadas, el extracto de hojas de *Pasiflora tripartita* en metanol seguido por el extracto de hojas de *Pasiflora manicata* en metanol presentan la mayor actividad ansiolítica.

En general el top tres de los extractos usados son en primer lugar en extracto de hojas de *P. tripartita* en metanol, en segundo lugar el de hojas de *P. manicata* en metanol y en tercer lugar el de flores de *P. tripartita* en metanol.

Mediante el análisis *in vivo* se demuestra la existencia de actividad ansiolítica en varios de los extractos, aunque en los cuatro ensayos realizados se comprobó que ninguno de los extractos se iguala o supera la acción ansiolítica del control positivo, clonazepam.

En el análisis de citotoxicidad realizado en *Artemia salina*, se llegó a la conclusión de que el extracto de flores de *P. tripartita* en metanol es el más seguro para su uso al tener una DI 50 de 675 ppm, mientras que los extractos de hojas de *P. manicata* en acetato de etilo seguido por hojas de *P. tripartita* en agua son los más tóxicos al tener las DI 50 de 75 y 90 ppm respectivamente.

En el estudio de tipos de extractos se demostró que si existe diferencias en los resultados por el tipo de extracto usado, habiendo diferencias entre el uso de acetato de etilo siendo el más inadecuado y metanol como el que mejor resultados obtiene.

3.5. RECOMENDACIONES

Para el análisis *in vivo* se recomienda a las autoridades pertinentes adquirir equipo necesario para la evaluación conductual, principalmente cámaras detectoras de movimiento y distancia, y mejorar el diseño de los ya existentes.

Después de haber analizado los extractos de *Pasifloras* se recomienda a quien corresponda elaborar una investigación considerando un tema de estudio para la “dosificación in vivo de *Pasiflora tripartita* en metanol” para determinar la dosis óptima para actividad ansiolítica y comprobar con más confiabilidad si existe igualdad al fármaco usado, de igual manera, conjuntamente con la dosificación, realizar el estudio de toxicidad in vivo para comprobar el metabolismo inocuo en un ser superior.

GLOSARIO

%	Porcentaje
° C	Grados Celsius
BZD	Benzodiazepinas
Citotóxico	Tóxico a células
CZP	Clonazepam
cm	Centímetros
EPM	Laberinto en cruz elevado (Elevated plus-maze)
g	Gramos
Kg	Kilogramos
mg	Miligramo
ml	Mililitro
OFT	Ensayo de campo abierto (Open Field Test)
PG	Propilenglicol
ppm	Parte por millón $\mu\text{g}/\text{ml}$
T	Temperatura

BIBLIOGRAFÍA

ANDRÉS. M, 2013, Pasifloras de Costa Rica.

<http://familiapassifloraceacr.blogspot.com/2011/04/la-familia-passifloraceae.html>

2015-12-12

ASHTON. M, MONOGRAFIA SOBRE EL TRATAMIENTO DE LA SUSPENSION DE LAS BENZODIACEPINAS, Newcastle University, Inglaterra, 2002, pág. 4-8.

<http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha00.htm>

2015-12-13

BRAILOWSKY. S, las sustancias de los sueños: neuropsico farmacología, 1era edición, - editorial Fondo de Cultura Económica, México, 1995, pág. 19-25.

http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/130/html/sec_26.html

2015-12-15

BRAVO. M, 2013, Psicofarmacología Para Psicólogos, España, ansiolíticos e hipnóticos, pág.: 47 – 53.

CAÑIGUERAL. S, DELLACASSA. E, BALDONI. A, Plantas Medicinales y Fitoterapia: Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo, *Lat. Am. J. Pharm*, vol. 22, Buenos Aires, Argentina, 2003, pág. 1-3.

http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf

2015 -12 -21

CARO. D, Evaluación in vivo Del Efecto Ansiolítico De Los Extractos Acuosos Obtenidos Del *Plantago major L.* (Llantén) y DE LA *Mentha viridis L.* (Yerbabuena), 2013, Universidad de Cartagena, pág. 2-4

<http://190.25.234.130:8080/jspui/bitstream/11227/2121/1/0.%20EVALUACION%20IN%20VI%20DEL%20EFECTO%20ANSIOLITICO%20DE%20PM%20Y%20MV.pdf>

2015 -12 – 21

CARRETERO. M, plantas medicinales para alteraciones del sueño, ansiedad y depresión (III), 2015, pág. 4-6.

<https://botplusweb.portalfarma.com/Documentos/2015/6/10/86274.pdf>

205-12-21

CHÁVEZ, HERNÁN, manual de atención primaria de salud mental del ministerio de salud del Ecuador, 1era edición, trastornos de la ansiedad, Ecuador, 2015, paginas 34 – 50.

<https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/MANUAL%20ATENCION%20PRIMARIA%20EN%20SALUD%20MENTAL.pdf>

2015-12-2

CONTI, N, Historia de la Ansiedad: Textos Escogidos, 1a edición. – Buenos Aires: Polemos, EDITORIAL POLEMOS S. A, 2007, - Buenos Aires, Argentina, pág. 8- 11.

<http://www.gador.com.ar/iyd/psiquiatria/pdf/Historia%20Ansiedad.pdf>

2015-12-23

DONOSO. A, PLANTAS MEDICINALES PARA EL INSOMNIO, *Centro de Investigaciones sobre Fitoterapia*, Editorial Complutense, Madrid - España, Septiembre de 2008, pág. 30 - 33.

<http://www.infito.com/PUBLICACIONES/libro%20insomnio%20completo.pdf>

2015-12-23

ESPAÑA, Encuesta Domiciliaria sobre Consumo de Drogas en España, (población de 15 a 64 años) y Encuesta sobre Drogas a población escolar, 2002 (estudiantes de 14 a 18 años), *Revista española de drogodependencias*, vol. 30, N 4, España, 2005, pág. 15-25.

http://www.aesed.com/image/Monog_RevEspDrog.pdf

2015-12-23

GEOSALUD, Tratamientos de los trastornos de ansiedad, Salud mental,

http://www.geosalud.com/Salud_Mental/medicamentos-trastornos-ansiedad.html

GUTIÉRREZ. I, SIMÓN. K, MERCADO. F, Mecanismo Celular y Molecular de la Adicción a Benzodiazepinas, *salud mental*, vol.36 no.4, México, jul/ago. 2012.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33252013000400007

2015-12-23

IMSS, Guía de práctica clínica, Diagnóstico y Tratamiento de los trastornos de la ansiedad en el adulto, consejo de salubridad general, México, 2014 pág. 8 – 9.

http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/392_IMSS_10_Ansiedad/GR_R_IMSS_392_10.pdf

2015-12-13

INEC, encuesta salud, bienestar y envejecimiento SABE, salud mental en el Ecuador, 2009, pag. 18.25.

<http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Infografias/SaludMental.pdf>

2015-12-15

LOPEZ. M, Manual de Plantas Medicinales Para Guinea Ecuatorial, España, Editorial FRS, 1era Edición, Mayo 2012, pág. 10 – 12.

<http://docplayer.es/1867434-Manual-de-plantas-medicinales-para-guinea-ecuatorial.html>

2015-12-13

LUNA. M, Ansiedad y Depresión, *clínica de la ansiedad*, Madrid – España, 2002, pág. 2-4.

<http://www.clinicadeansiedad.com/02/128/Ansiedad-y-depresion.htm>

2015-12-13

MARTA ZOE LEMUS RODRÍGUEZ Y AMAURY CHONG QUESADA, Desarrollo tecnológico de un producto natural de acción sedante: comprimidos de Pasiflora, *Revista CENIC Ciencias Químicas*, Vol. 40, No. 2, 2009, Santiago de Cuba, pág. 2-5.

<http://revista.cnic.edu.cu/revistaCQ/sites/default/files/articulos/CQ-2009-2-101-103.pdf>

2015-12-14

MINISTERIO DE CULTURA Y PATRIMONIO, Ecuador Patrimonio Alimentario: El poder curativo del taxo en la región andina, Abril, 2015, pág. 5-10.

MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO, Guía de Práctica Clínica Para el Manejo de Pacientes con Trastornos de Ansiedad en Atención Primaria, 2010, España, pág. 21 – 22.

http://www.guiasalud.es/GPC/GPC_430_Ansiedad_Lain_Entr_compl.pdf

2015-12-15

MINISTERIO DE SALUD PUBLICA, Protocolos Terapéuticos Ecuatoriano, dirección de normalización, 1era Edición, 2012, pág. 22-28.

<http://www.farmacologiavirtual.org/Descargas/protocoloscompletos/ProtocolosTerap%C3%A9uticosEcuador2012.pdf>

2015-12-15

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA, Informe Sobre el Sistema de Salud Mental en el Ecuador Utilizando el Instrumento de Evaluación para Sistemas de Salud Mental de la OMS, 2008, Ecuador, pág. 2-14.

http://www.who.int/mental_health/ecuador_who_aims_report.pdf

2015-12-13

NORIEGA. P, CALERO. D, LARENAS. C, MALDONADO. M, VITA FINZ. P, COMPONENTES VOLÁTILES DE LOS FRUTOS DE *Vasconcellea Pubescens* A. DC. Y *Passiflora tripartita var. Mollissima* (KUNTH) USANDO LA METODOLOGÍA HS-SPME-GC/MS, *La Granja: Revista de las ciencias de la vida*, Ecuador, 2013, pág. 4-12.

<http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8847/1/Componentes%20volatiles%20de%20los%20frutos%20de%20Vasconcellea%20pubescens.pdf>

2015-12-15

OCAMPO. J, RESTREPO. M, COPPND. G, CAENTANO. M, VILLEGAS. A, SALAZAR. M, Diversidad de la familia Passifloraceae en la zona cafetera de Colombia, Universidad Nacional de Colombia, Cali – Colombia, 2009, pág. 5-9.

https://agritrop.cirad.fr/565123/2/document_565123.pdf

2015-12-15

OMS, 2007, definición de salud mental, <http://www.who.int/features/qa/62/es/>.

OMS, definición de la depresión, <http://www.who.int/topics/depression/es/>

PALLO.M, Evaluación del Efecto Ansiolítico del Extracto Hidroalcohólico de Flor de Granadilla (*Passiflora ligularis*) en Ratones (*Mus musculus*). (Tesis), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador, 2014, pág. 22-24.

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2452/1/56T00319.pdf>

2015-12-15

POLANCO. A, LORENZ. K, VARGAS-IRWIN. M, GÓNGORA. E, modelos animales: una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad animal, centro de investigaciones en biomodelos, *Suma Psicológica*, Vol. 18 No 2, noviembre 2011, pág. 12-14

<http://www.scielo.org.co/pdf/sumps/v18n2/v18n2a11>

2015-12-15

QUE ES LA ANSIEDAD Y COMO SE PRODUCE, Clínica de la ansiedad.
<http://www.clinicadeansiedad.com/02/168/Que-es-la-ansiedad-y-por-que-se-produce--.htm>

REA. V, Evaluación del efecto ansiolítico del extracto Hidroalcohólico de flor de Badea (*Passiflora Quadrangularis*) En Ratones (*Mus Musculus*) (Tesis), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2014, pág. 4-9.

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3793>

2015-12-14

RENOJO. J, PREDOMO. D, ROLDAN. G., Colombia Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas, *Universitas Médica*, vol. 52, núm. 1, Pontificia Universidad Javeriana Bogotá marzo 2011 pp. 78-89

<http://www.redalyc.org/pdf/2310/231019866006.pdf>

2015-12-16

REYES-TICAS. A, TRASTORNOS DE ANSIEDAD GUIA PRACTICA PARA DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO, *Biblioteca virtual en salud*. Honduras, 2010, Disponible en: <http://www.bvs.hn/Honduras/pdf/TrastornoAnsiedad.pdf>

2015-12-18

RIOFRIO. K, Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de taxo (*Passiflora tripartita* var. *Mollissima*) en ratones (*Mus musculus*). (Tesis), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2014, pág. 8-10.

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3198?show=full>

2015-12-14

RUBIO, G. El Tratamiento De Loa Trastornos De Ansiedad a Lo Largo De La Historia, *Congreso Virtual de Psiquiatría*, Marzo 2000.

http://www.psiquiatria.com/congreso/mesas/mesa34/conferencias/34_ci_e.htm

2015-12-16

RUIZ. A, GARCÍA. A, NELLAR. C, CARRANZA. A, Consumo de fitofármacos y apifármacos en el Hospital Docente Clínico quirúrgico Gral. Calixto García Iñiguez, *Rev. Cubana de Plantas Medicinales*, Vol.10, N.2, Habana, Cuba, Mayo-ago. 2005.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962005000200013&script=sci_arttext

2015-12-15

SALUD EN LAS AMÉRICAS, Ecuador, condiciones de salud y sus tendencias, trastornos mentales, disponible en:
http://www.paho.org/saludenlasamericas/index.php?id=40:ecuador&option=com_content

SIERRA. J, ORTEGA. V, Ansiedad, angustia y estrés: tres conceptos a diferenciar, *revista mal-estar e subjetividade*, Vol. 3, N. 1, Brasil, Marzo, 2003, Pág. 10 – 59.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=27130102>
2015-12-16

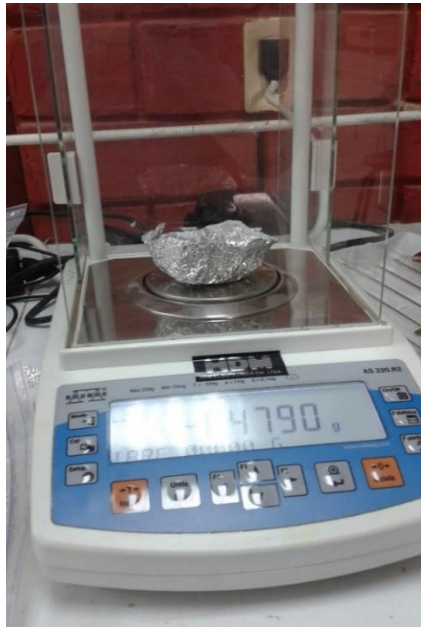
VERGARA. J, LIZCANO. A, Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de los Extractos Etanólicos y/o Aceites Esenciales de las Especies Vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* Frente a Microorganismos Patógenos y Fitopatógenos, (tesis de posgrado), Pontificia Universidad Javeriana, Julio 2008, Colombia, pág. 12-18.

ZUBIRI. F, HONORATO. J, Y GASCÓ. P, Servicio de Farmacología Clínica - Clínica Universitaria de Navarra - Pamplona. Atención Primaria. Centro de Salud de Iturrama. Pamplona, curso de farmacología clínica aplicada, España, 2011, pág. 3-4.
http://cepcordoba.org/prevencionConsumoDrogas/documentos/anexo1/14_benzodiacepinas.pdf
2015-12-15

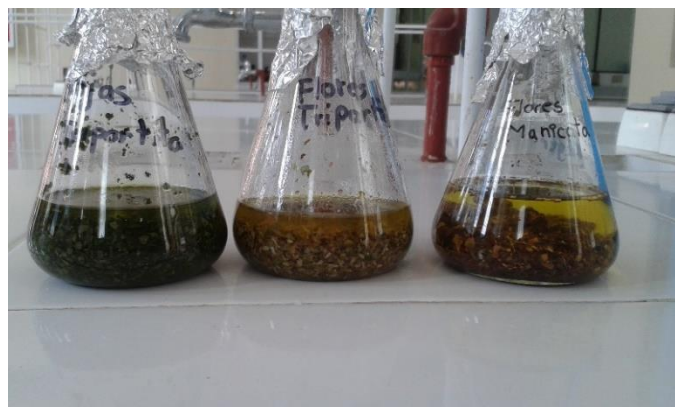
ANEXOS



Anexo 1: Materia prima vegetal seca



Anexo 2: balanza para pesado de materia vegetal



Anexo 3: macerado en metanol



Anexo 4: secado de materia vegetal



Anexo 5: zonificación de extractos



Anexo 6: codificación de frascos para almacenamiento



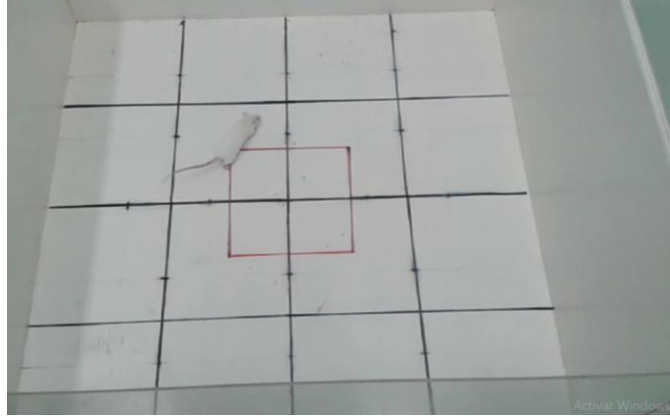
Anexo 7: sistema de concentración de extractos por rota vapor.



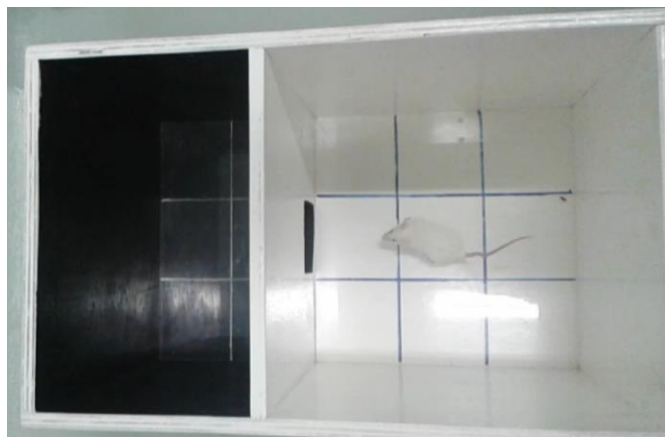
Anexo 8: envasado de extractos secos.



Anexo 9: cubierta segura para humedad con parafina
Anexo 10: almacenamiento de extractos secos, codificados.



Anexo 11: modelo de test de campo abierto



Anexo 12: modelo de test de campo claro/oscuro



Anexo 13: modelo de test de laberinto elevado



Anexo 14: cánula de administración para vía oral



Anexo 15: preparación se solución nutritiva para citotoxicidad



Anexo 16: evaluación de citotoxicidad de los extractos.