



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

**“DETERMINACIÓN DE LA DOSIS EFECTIVA PARA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Passiflora edulis* Y *Passiflora quadrangularis* EN RATONES *Mus musculus* MEDIANTE ADMINISTRACIÓN ORAL”.**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

**“BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO”**

**AUTOR: DIEGO GEOVANNY NIQUINGA GUAMBO**

**TUTORA: DRA. SUSANA ABDO**

**RIOBAMBA-ECUADOR**

**2017**

© 2017, DIEGO GEOVANNY NIQUINGA GUAMBO

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

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El tribunal de Trabajo de Titulación certifica que el trabajo de investigación: “DETERMINACIÓN DE LA DOSIS EFECTIVA PARA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Passiflora edulis* Y *Passiflora quadrangularis* EN RATONES *Mus musculus* MEDIANTE ADMINISTRACIÓN ORAL”, de responsabilidad del señor Diego Geovanny Niquinga Guambo, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Susana Abdo

**DIRECTORA DE TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

BQF. Diego Vinueza M.Sc

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Ing. Mario Villavrés

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**NOTA TRABAJO ESCRITO**

.....

.....

**DOCUMENTALISTA      SISBIB  
ESPOCH**

Yo, Diego Geovanny Niquinga Guambo soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este proyecto de titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

---

Diego Geovanny Niquinga Guambo

CI. 180478627-3

## **DEDICATORIA**

A Dios por darme la vida y permitirme alcanzar esta meta, por haberme brindado la oportunidad de culminar esta meta, dándome experiencias que me formaron como ser humano.

A mi familia que por sobre todas las cosas me ha demostrado su unión y su fortaleza. A mi madre por ser una mujer luchadora quien es mi ejemplo a seguir, a mi padrastro Wilmer que siempre a velado por mi progreso, a mi hermano.

Y a ti, Nataly, mi esposita hermosa, quien ha estado siempre conmigo sobre las adversidades animandome cada vez que caía. Definitivamente eres mi vida.

Diego G.

## **AGRADECIMIENTO**

El más sincero agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por brindarme la oportunidad de formarme como profesional y en calidad humana.

A Susana Abdo, mi tutora por su apoyo y predisposición para ayudar en el avance de mi tesis.

A Diego Vinueza que ha sido el pilar fundamental de la base del conocimiento de este trabajo de titulación y ha sido también un amigo para todos los Pasifloros.

A mis amigos, Fabián Silva y Martha Guamán que me han brindado su apoyo en todo momento.

Diego G.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>TAG:</b>	Trastorno de Ansiedad Generalizado
<b>OMS:</b>	Organización Mundial de Salud
<b>GABA:</b>	ácido $\gamma$ -aminobutírico
<b>MAO:</b>	monoamino oxidasa
<b>ISRS</b>	Selectivos de la Recaptación de Serotonina
<b>RIMA:</b>	Inhibidores Selectivos y Reversibles de la Monoaminoxidasa
<b>NaSSA:</b>	Antidepresivos Noradrenérgicos y Serotoninérgicos Específicos
<b>IRNS.</b>	Inhibidores de la Recaptación de Serotonina y Noradrenalina
<b>SNC:</b>	Sistema Nervioso Central
<b>APA:</b>	Asociación de Psiquiatras Americanos
<b>CIE:</b>	Clasificación Internacional de Enfermedades
<b>DSM:</b>	Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales
<b>BZD:</b>	Benzodicepina
<b>EPM:</b>	Elevated Plus maze (Laberinto Elevado en Cruz)
<b>OFT:</b>	Open Field Test (Campo Abierto)
<b>msnm:</b>	metros sobre el nivel del mar
<b>CCF:</b>	Cromatografía en Capa Fina
<b>PEG:</b>	polietilenglicol
<b>N°:</b>	número
<b>°C:</b>	grados Celsius
<b>UV:</b>	ultravioleta
<b>nm:</b>	nanómetro+
<b>Fm:</b>	fase móvil
<b>Rf:</b>	franja de referencia

<b>FTEQ:</b>	Flavonoides totales expresados como miligramo equivalentes de quercetina
<b>g:</b>	gramo
<b>mg:</b>	miligramo
<b>Kg:</b>	kilogramo
<b>Gl/gl:</b>	grados de libertad
<b>Sig:</b>	significancia
<b>min:</b>	minutos
<b>i.p:</b>	intraperitoneal
<b>UV:</b>	Ultravioleta
<b>M:</b>	Molar



## TABLA DE CONTENIDO

PORTADADA .....	i
DERECHOS DE AUTOR .....	ii
PAGINA DE CERTIFICACIÓN.....	iii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO .....	vi
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	vii
TABLA DE CONTENIDO.....	ix
INDICE DE TABLAS.....	xii
INDICE DE FIGURAS.....	xiii
INDICE DE GRAFICOS.....	xiv
INDICE DE ANEXOS .....	xv
RESUMEN.....	xvi
SUMARY .....	xvii
INTRODUCCIÓN .....	1

## CAPITULO I

1.	MARCO TEÓRICO.....	4
1.1.	Antecedentes de la investigación .....	4
1.2.	Bases Teóricas.....	7
1.2.1.	<i>Salud mental</i> .....	7
1.2.2.	<i>Ansiedad</i> .....	7
1.2.3.	<i>Comportamientos ansiosos</i> .....	8
1.2.4.	<i>Trastornos de ansiedad</i> .....	8
1.2.5.	<i>Clasificación de los trastornos de ansiedad</i> .....	8
1.2.5.1.	<i>Trastorno de ansiedad generalizada</i> .....	10
1.2.5.2.	<i>Fobia específica</i> .....	10
1.2.5.3.	<i>Trastorno de pánico</i> .....	10
1.2.5.4.	<i>Trastorno de ansiedad por separación</i> .....	11

1.2.5.5.	<i>Mutismo selectivo</i> .....	12
1.2.5.6.	<i>Trastorno de ansiedad social (fobia social)</i> .....	12
1.2.5.7.	<i>Agorafobia</i> .....	12
1.2.5.8.	<i>Trastorno de ansiedad inducido por sustancias/medicamentos</i> .....	12
1.2.6.	<b><i>Severidad de los trastornos de ansiedad</i></b> .....	13
1.2.7.	<b><i>Neurobiología de la ansiedad</i></b> .....	13
1.2.7.1.	<i>Neuroanatomía de la ansiedad</i> .....	13
1.2.8.1.	<i>Tratamiento farmacológico</i> .....	17
1.2.8.2.	<i>Terapias alternativas</i> .....	23
1.2.9.	<b><i>Género Passiflora</i></b> .....	25
1.2.9.1.	<i>Passiflora edulis (Maracuyá)</i> .....	26
1.2.9.2.	<i>Passiflora quadrangularis (Badea)</i> .....	28
1.2.10.	<b><i>Modelos animales para el estudio de la ansiedad</i></b> .....	29

## CAPITULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	32
2.1.	<b>Material Vegetal</b> .....	32
2.2.	<b>Materiales, equipos y reactivos</b> .....	33
2.3.	<b>Preparación de extractos</b> .....	35
2.3.1.	<i>Recolección, lavado y secado del material vegetal.</i> .....	36
2.3.2.	<i>Preparación de extractos liofilizados</i> .....	36
2.4.	<b>Métodos y técnicas</b> .....	37
2.4.1.	<i>Cromatografía en capa fina (CCF)</i> .....	37
2.4.2.	<i>Cuantificación de flavonoides</i> .....	38
2.4.3.	<i>Determinación de la actividad ansiolítica</i> .....	39
2.4.3.1.	<i>Laberinto elevado en cruz</i> .....	40
2.4.3.2.	<i>Cuarto claro/oscuro</i> .....	41
2.4.3.3.	<i>Campo abierto/Open Field (OF)</i> .....	42
2.5.	<b>Tratamiento estadístico</b> .....	44

## CAPITULO III

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS, DISCUSION Y ANALISIS DE RESULTADOS</b> .....	45
3.1.	<b>Rendimiento del extracto</b> .....	45
3.2.	<b>Cromatografía en capa fina (CCF)</b> .....	45
3.3.	<b>Cuantificación de flavonoides totales</b> .....	48

<b>3.4.</b>	<b>Evaluación de la actividad ansiolítica .....</b>	<b>48</b>
<b>3.4.1.</b>	<b><i>Laberinto elevado en cruz (EPM) .....</i></b>	<b>48</b>
<b>3.4.3.</b>	<b><i>Test de campo abierto .....</i></b>	<b>56</b>
<b>3.4.3.1.</b>	<b><i>Numero de cuadros recorridos.....</i></b>	<b>56</b>
<b>3.4.4.</b>	<b><i>Test chimenea .....</i></b>	<b>61</b>
<b>3.4.4.1.</b>	<b><i>Tiempo que tarda en salir.....</i></b>	<b>61</b>
 <b>CONCLUSIONES.....</b>		<b>67</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>		<b>68</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>		
<b>ANEXOS</b>		

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1</b>	Clasificación de Trastornos de Ansiedad según el DSM-5 y la CIE-10: equivalencias .....	9
<b>Tabla 2-1</b>	Tiempo de vida media de las benzodiazepinas y sus metabolitos .....	19
<b>Tabla 3-1</b>	Plantas con efectos ansiolíticos y sus posibles mecanismos de acción.....	25
<b>Tabla 1-2</b>	Lista de materiales, equipos, reactivos .....	33
<b>Tabla 2-2</b>	División y codificación de grupos <i>Passiflora edulis</i> y <i>Passiflora quadrangularis</i>	39
<b>Tabla 3-2</b>	Parámetros observados en el modelo de ansiedad .....	43
<b>Tabla 1-3</b>	Porcentaje de rendimiento de hojas de <i>P. edulis</i> y <i>Passiflora quadrangularis</i> .....	45
<b>Tabla 2-3</b>	Rf obtenidos mediante cromatografía en capa fina.....	46
<b>Tabla 3-3</b>	Rf de compuestos estándares .....	47
<b>Tabla 4-3</b>	Resultados de cuantificación de flavonoides totales.....	48
<b>Tabla 5-3</b>	Número de entradas a brazos .....	48
<b>Tabla 6-3</b>	Porcentaje de tiempo en brazos abiertos, % .....	49
<b>Tabla 7-3</b>	Test Anova para número de entrada a brazos .....	49
<b>Tabla 8-3</b>	Test Anova de porcentaje de tiempo en brazos abiertos .....	49
<b>Tabla 9-3</b>	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de número de entradas.....	49
<b>Tabla 10-3</b>	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de porcentaje de tiempo en brazos abiertos.....	50
<b>Tabla 11-3</b>	Test t de Student de número de entradas a brazos para comparación de especies de <i>Passiflora</i> .....	51
<b>Tabla 12-3</b>	Test t de Student de porcentaje de tiempo en brazos abiertos para comparación de especies de <i>Passiflora</i> .....	52
<b>Tabla 13-3</b>	Tiempo de permanencia en el cuarto claro, minutos .....	53
<b>Tabla 14-3</b>	Test Anova para el tiempo en cuarto claro .....	54
<b>Tabla 15-3</b>	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en cuarto claro .....	54
<b>Tabla 16-3</b>	Test t de Student de tiempo en cuarto claro para comparación de especies de <i>Passiflora</i> .....	55
<b>Tabla 17-3</b>	Número de cuadros recorridos en campo abierto .....	56
<b>Tabla 18-3</b>	Tiempo en centro de campo abierto, minutos .....	56
<b>Tabla 19-3</b>	Test de Anova para cuadros recorridos en campo abierto .....	56
<b>Tabla 20-3</b>	Test Anova de tiempo en centro de campo abierto.....	57
<b>Tabla 21-3</b>	Test post-hoc Duncan de grupos homogéneos de cuadros recorridos .....	57
<b>Tabla 22-3</b>	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en el centro .....	57
<b>Tabla 23-3</b>	Test t de Student de cuadros recorridos para comparación de especies.....	59
<b>Tabla 24-3</b>	Test t de Student de tiempo en centro comparación de especies. ....	59
<b>Tabla 25-3</b>	Tiempo que tarda en salir, minutos.....	61
<b>Tabla 26-3</b>	Test Anova de tiempo que tarda en salir.....	61
<b>Tabla 27-3</b>	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo que tarda en salir...	61
<b>Tabla 28-3</b>	Test t de Student de tiempo que tarda en salir para comparación de especies de <i>Passiflora</i> .....	62

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1</b>	Niveles de atención en salud mental en Ecuador .....	7
<b>Figura 2-1</b>	Esquema de los cambios fisiológicos y psicológicas de un ataque de pánico.....	11
<b>Figura 3-1</b>	Mecanismo de acción de las Benzodiazepinas .....	20
<b>Figura 4-1</b>	<i>Passiflora edulis</i> (maracuyá) .....	26
<b>Figura 5-1</b>	<i>Passiflora quadrangularis</i> (Badea) .....	28
<b>Figura 1-2</b>	Punto de recolección de <i>P. edulis</i> .....	32
<b>Figura 2-2</b>	Punto de recolección de <i>P. quadrangularis</i> .....	33
<b>Figura 1-3</b>	Cromatografía en capa fina (CCF) para flavonas glicosiladas .....	46

## INDICE DE GRAFICOS

<b>Gráfico 1-2</b>	Diseño de trabajo para determinación de dosis efectiva para actividad ansiolítica .....	35
<b>Gráfico 2-2</b>	Flujograma para la preparación de extractos .....	36
<b>Gráfico 3-2</b>	Flujograma de cromatografía en capa fina (CCF) .....	37
<b>Gráfico 4-2</b>	Flujograma de cuantificación de flavonoides totales.....	38
<b>Gráfico 5-2</b>	Flujograma para la evaluación de la actividad ansiolític .....	40
<b>Gráfico 1-3</b>	Medias de número de entrada a brazos .....	51
<b>Gráfico 2-3</b>	Medias de porcentaje de tiempo en brazos abiertos.....	51
<b>Gráfico 3-3</b>	Medias de tiempo en cuarto claro .....	55
<b>Gráfico 4-3</b>	Medias de cuadros recorridos en campo abierto.....	58
<b>Gráfico 5-3</b>	Medias de tiempo en el centro .....	58
<b>Gráfico 6-3</b>	Medias de tiempo que tarda en salir .....	62

## INDICE DE ANEXOS

- Anexo A.** Instalaciones Bioterio ESPOCH
- Anexo B.** Lecho de animales de experimentación
- Anexo C.** Sonicación de extractos
- Anexo D.** Eliminación de solvente
- Anexo E.** Liofilización de extractos
- Anexo F.** Extractos liofilizados
- Anexo G.** Espectrofotómetro
- Anexo H.** Cromatografía de *Passiflora*, observado UV
- Anexo I.** Extracto liofilizado de *P. edulis* reconstituido
- Anexo J.** Administración del extracto liofilizado a ratones
- Anexo K.** Laberinto Elevado
- Anexo L.** Campo Abierto
- Anexo M.** Cuarto Claro/Oscuro
- Anexo N.** Chimenea

## RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la dosis efectiva de los extractos etanólicos de Maracuyá *Passiflora edulis* y Badea *Passiflora quadrangularis* en ratones *Mus musculus* por administración oral; el estudio se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales y Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. El material vegetal se recolectó, se secó, se extrajo con etanol al 85% y posteriormente se liofilizó. Los flavonoides de los extractos fueron analizados por cromatografía en capa fina (CCF) y cuantificados por espectrofotometría UV. La actividad ansiolítica fue evaluada en 60 ratones, los cuales fueron divididos en grupos de cinco ratones, a cinco grupos se les administró cinco diferentes dosis (25, 50, 100, 200, 300 mg/kg) una por grupo, un grupo blanco (propilenglicol 15%) y un grupo control (clonazepam 0,5mg/kg). La actividad ansiolítica se evaluó con cuatro test: laberinto en cruz elevado (EPM), campo abierto (OFT), cuarto claro/oscuro y actividad miorrelajante (chimenea). Los parámetros medidos fueron: número de entradas a brazos, porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en cuarto claro, cuadros recorridos, tiempo en el centro, tiempo que tarda en salir de la chimenea. El porcentaje de extracción de hojas secas de *P. edulis* fue de 9,96 % y *P. quadrangularis* 12,32 %. Por CCF se identificaron isovitexina, vitexina-2''-O-glucósido en extracto de *P. edulis* y en *P. quadrangularis* isovitexina y/o isovitexina-2''-O-ramnósido y/o vitexina-2''-O-ramnósido. El extracto liofilizado de hojas de *P. edulis* contiene  $81,0 \pm 0,06$  FTEQ /g de flavonoides y el de *P. quadrangularis* de  $81,6 \pm 4,18$  FTEQ/g. Se concluye que la dosis con mayor actividad ansiolítica del extracto liofilizado de *P. edulis* fue de 25 mg/kg y 100 mg/kg para *P. quadrangularis*; por lo que se constituyen dosis eficaces para el tratamiento de la ansiedad en ratones. Se recomienda determinar la toxicidad aguda a partir de 300 mg/kg.

**Palabras Clave:** <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <FARMACOLOGÍA>, <EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES>, <ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA>, <TEST DE EVALUACIÓN ANSIOLÍTICA>, <MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)>, <BADEA (*Passiflora quadrangularis*)>, <RATONES (*Mus musculus*)>.



## ABSTRACT

The objective of this research was determined the effective dose of Ethanolic extracts of Passion Fruit (*passiflora edulis*) and badea (*passiflora quadrangularis*) in mice (*Mus musculus*) by oral administration; the study was realized in the Lab of Natural Products and Vivarium of the Escuela Superior de Chimborazo. The plant material was collected, dried, extracted with ethanol with 85% and then it was lyophilized. The flavonoids of the extracts were analyzed by thin layer chromatography (CCF) and quantify by Spectrometry UV. Anxiolytic activity was assessed in 60 mice, which were divided into groups of five mice. Five groups were given five different doses (25, 50, 100, 200, 300 mg/kg). One per white group (15% propylene glycol) and one control group (clonazepam 0.5 mg / kg). The anxiolytic activity was evaluated with four tests: elevated cross labyrinth (EPM), open field (oft), light / dark room and myorelaxant activity (chimney).The measured parameters were: number of entrances to arms, percentage of time in open arms, time in clear room, recognized pictures, time in the center, time that it takes to leave the chimney.The percentage of extraction of dry leaves of *P. edulis* was 9.96 % and *P. quadrangularis* 12, 32%. For (CCF) thin layer chromatography it was identified: isovitexin, vitexin -2 ", -0-glucose in extract of *P. edulis* and in *P. quadrangularis* isovitexin and/or isovitexin -2 ", -0- Rhamnosid and/or vitexin -2 ", -0- Rhamnosid. The lyophilized extract of *P. edulis* contains 81, 0 ± 0, 06 FTEQ/g of Flavonoids and *P. quadrangularis* of 81, 6 ± 4, 18 FTEQ/g. It is concluded that the dose with higher anxiolytic activity of the lyophilized extract of *P. edulis* was 25 mg/kg and 100 mg/kg *P. quadrangularis*; therefore effective doses are formed for the treatment of anxiety in mice. It is recommended to determine the acute toxicity from 300 mg / kg.

**Clue words:** <PHARMACOLOGICAL ENGINEERING TECHNOLOGY AND SCIENCES>, <FLAVONOID EXTRACTION>, <ANXIOLYTIC ACTIVITY>, <ANXIOLYTIC EVALUATION TEST>, <PASSION FRUIT (*Passiflora edulis*) >, <BADEA (*Passiflora quadrangularis*)>, <MICE (*Mus musculus*) >.

## INTRODUCCIÓN

Los trastornos mentales tienen una alta prevalencia y son actualmente una de las causas principales de morbilidad y sufrimiento, muchos de los cuales se agravan ya que estos trastornos no reciben una atención eficaz y oportuna. La terapéutica de este tipo de trastornos es muy amplia y extendida a nivel mundial aunque varían en distintas regiones. (Khon et al, 2010. URL: <http://www.who.int/bulletin/volumes/82/11/khon1104abstract/es/>).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reveló que aun países con ingresos medianos o altos existe desigualdad en recursos y servicios de salud mental. Estos informes han proporcionado en América Latina una mejor comprensión sobre la magnitud y la brecha de tratamiento existente; en cuanto a los adultos con trastornos de ansiedad y afectivos la brecha terapéutica mediana es de 73,5% en la región de las Américas. (Khon, 2014, pp. 7-8)

La prevalencia en atención primaria del trastorno de ansiedad generalizada en 14 países es del 12% según la OMS. Existe una elevada morbilidad de trastornos de ansiedad debido principalmente al escaso énfasis en su diagnóstico y consiguiente tratamiento no es el adecuado. Los trastornos mentales afectan al 10% de la población a nivel mundial y su prevalencia aumenta cerca del 50% anualmente.

Se estima que para el 2016- 2030 los costos de los trastornos psicológicos en 36 países se elevarán a \$ 147000 millones (asesoramiento psicosocial y farmacoterapia), lo cual incrementa la productividad al 5% reflejándose en \$ 399000 millones. Sin embargo, de la inversión realizada en la actualidad, solo el 3% de los presupuestos sanitarios son destinados a salud mental, el 1 % para países con bajos ingresos y el máximo de 5% en países con ingresos altos según el Atlas de la Salud Mental de la OMS 2014 (Organización Mundial de la Salud, 2016, URL: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/es/>)

Según el Informe sobre Salud Mental de la OMS 2008, en Ecuador solamente el 1.2% del presupuesto del Ministerio de Salud Pública se destina para salud mental; del cual el 59% se asigna a hospitales psiquiátricos. En hospitales psiquiátricos el mayor diagnóstico y prevalencia es esquizofrenia mientras que a nivel ambulatorio son los trastornos de ansiedad.

La depresión y distimia según el Ministerio de Salud de Ecuador está en el área 11 de Salud Mental y Trastornos del Comportamiento; y se consideran como Prioridades de Investigación de Salud 2013-2017; El objetivo principal es optimizar los recursos de la investigación e influir positivamente en el mejoramiento de salud y alcanzar los objetivos que se plantean en el Buen Vivir. (Ministerio de Salud Pública Ecuador, 2016, pp. 3-24)

La ansiedad es una reacción emocional normal que activa las operaciones defensivas, desarrolla la personalidad, contribuye al logro de metas y eleva el nivel de trabajo y de conducta del ser humano. La reacción de ansiedad puede elevarse y llegar a ser patológica y encaminar al desarrollo de enfermedades relacionadas incluyendo los trastornos de ansiedad. Generalmente la ansiedad se refiere a un estado temporal de tensión, miedo y anhelo. Los tratamientos para trastornos de la ansiedad van desde psicoterapia hasta tratamiento farmacológico, el objetivo de todas las terapias concuerdan en aliviar síntomas, evitar recaídas y secuelas. (Reyes-Ticas, 2016, p. 9)

Se han desarrollado fármacos barbitúricos y benzodiazepinas; sin embargo el margen terapéutico muy estrecho de los barbitúricos ha sido causa de mortalidad, esto ha provocado retiros del mercado de benzodiazepinas como el tetrazepam por acusaciones de 648 efectos secundarios graves según la Agencia Nacional Francesa del Medicamento de la Unión Europea.

Los efectos adversos de mayor importancia de las benzodiazepinas son la sedación, debilidad muscular, vértigo, cefalea, depresión, trastornos visuales, alteraciones gastrointestinales, además la suspensión de estos medicamentos provoca síndrome de abstinencia. (Organización Mundial de la Salud, 2010, pp. 10-15)

A largo plazo, el uso de benzodiazepinas aumenta el riesgo de desarrollar demencia; aumenta en un 50 % en personas consumidoras de benzodiazepinas que en personas que nunca las ha consumido. Según la revista British Medical Journal (BMJ), el consumo ansiolítico eleva al 50% la probabilidad de padecer Alzheimer. La búsqueda de nuevos fármacos ansiolíticos, antidepressivos más eficaces y mejor tolerados ha incrementado (Psicofarmacología), sin embargo las investigaciones ha presentado dificultades a lo largo del tiempo ya que faltan estudios que demuestren las mejores farmacoterapias a largo plazo. (Salazar et al, 2010, pp.128-130)

Una alternativa para tratamiento de ansiedad son las plantas de la familia *Passifloraceae*; existen registros de que algunas especies de esta familia posee efectos ansiolíticos entre otros. Las especie

*Passiflora edulis* y *Passiflora quadrangularis* son típicas de las regiones tropicales y subtropicales, *P. edulis* es cultivada con fines comerciales mientras que *P. quadrangularis* es cultivada con menor magnitud. El presente estudio de investigación tiene como objetivo determinar la dosis efectiva para actividad ansiolítica del extracto etanólico de hojas de *Passiflora edulis* y *Passiflora quadrangularis* en ratones *Mus musculus*; utilizando modelos de comportamiento como: Test de Cruz Elevado, Test de Campo abierto, Test de Cuarto Claro-Oscuro, Chimenea.

## CAPITULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Antecedentes de la investigación

El termino ansiedad procede del latín *anxietas* proveniente de la raíz indoeuropea “*angh*” la cual significa “no solo” y del vocablo “*ango*” que significa angustia, ambos términos eran utilizados en la antigüedad haciendo referencia a varios significados como constricción, angostamiento, achicamiento y sufrimiento. En el siglo XVII, fueron estudiadas la melancolía y la neurosis como patologías del sistema nervioso cuyo tratamiento era el opio. (Pichot 1999,pp.S22-S28; Sarudiansky, 2013, p.20)

En 1895 comienza a desarrollarse conceptos de neurosis y ansiedad bajo criterios de Sigmund Freud que entendió la ansiedad como una señal de peligro procedente de impulsos del individuo. En la primera versión del Manual de Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-I) de 1952 se incluyeron las reacciones fóbicas, obsesivas y de ansiedad, posteriormente en su tercera edición la DSM-III diferenció la angustia y ansiedad generalizada. (Tonina, 2010 pp.48-50; Rubio, 2010, p. 22)

Las herramientas farmacológicas para la ansiedad eran deficientes, posteriormente el tratamiento farmacológico utilizado a principios del siglo XX consistía en hidrato de cloral y anfetaminas; para la década de los 50 se desarrollaron los antidepresivos tricíclicos y barbitúricos, como sedantes e inductores del sueño; sin embargo, su estrecho margen de seguridad farmacológica dio motivos para investigar nuevos compuestos.

En los años 80 se reduce una invención de la terapia farmacológica para los trastornos afectivos, tales como: Antidepresivos Noradrenérgicos y Serotoninérgicos Específicos (NaSSA), Inhibidores de la Recaptación de Serotonina y Noradrenalina (IRNS), Inhibidores Selectivos de

la Recaptación de Serotonina (ISRS), Inhibidores Selectivos y Reversibles de la Monoaminoxidasa (RIMA), y agentes que combinan la inhibición de la recaptación de serotonina con el bloqueo de los receptores postsinápticos 5-HT<sub>2</sub> (nafazodona). (Salazar et al, 2010, pp. 128-130)

La búsqueda de fármacos ansiolíticos que no sean sedantes e inhiban la actividad locomotora, además que no posean efectos adversos como ataxia, dependencia ha llevado a estudios con fármacos benzodiazepínicos como el imidazenil, agonista parcial con efectos adversos menos severos que los fármacos tradicionales. (Thompson et al, 1995, pp. 1307-1312)

El compuesto ELB139, un agonista de los receptores GABA<sub>A</sub>, y modulador de la serotonina resultó como más idóneo para la ansiedad en modelos animales como el laberinto elevado, cuarto claro-oscuro y la prueba de conflicto de Vogel; indican el efecto ansiolítico de este compuesto sin sedación, asimismo la actividad motora no fue significativamente afectada y tampoco desarrolla tolerancia, (Lagen et al, 2005, p. 718-724)

Sin embargo, los estudios de ELB-139 presumiblemente han discontinuado, pues el compuesto se encuentra descatalogado por su empresa elbion NV. (EU Clinical Trials Register 2006; ebion NV 2007)

En las últimas décadas se han realizado investigaciones basadas en el uso de plantas medicinales, como terapias alternativas para el tratamiento de estos trastornos afectivos, por tal motivo los productos naturales en el mercado farmacéutico ha ido creciendo ya que sus efectos terapéuticos han sido comprobados en modelos experimentales lo cual ha permitido validar los productos desarrollados. (Rejón-Orantes et al, 2011, p. 80)

Se estima que la población tiene preferencia por el uso de productos naturales porque lo consideran como productos seguros por el hecho de proceder de la naturaleza, sin embargo la posibilidad de producir efectos adversos y presentar interacciones es muy probable. Varias especies conocidas han sido estudiadas como la hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*), Kava-kava (*Piper methysticum*), *Ginkgo biloba*, para terapias como depresión y ansiedad. (Díaz et al, 2012, p. 20)

En 1996, en una publicación de British Medical se corrobora el uso de la hierba de San Juan como antidepressivo mediante meta análisis de su efectividad, en varios ensayos y análisis se demuestran

una mejoría entre el 50 y el 80% ante los tratamientos farmacológicos tradicionales. Los efectos adversos de la hierba de San Juan fueron estudiados por Woelk H. en 1994, un 2,4 % de los pacientes presentaron alergias, fatiga, labilidad emocional, prurito, efectos gastrointestinales, aumento de peso. (Sanabria, 2012, p. 33)

El género *Passifloraceae* ha sido muy amplio, tanto de hojas como de sus tallo, flores y frutos; las especies más estudiadas han sido *P. edulis* y *P. alata*, sin embargo sus mecanismos de acción no son conocidos, en Sudamérica la infusión de las partes aéreas para tratar epilepsia, fiebre, relajación muscular. Estudios en modelos animales comprueban su actividad hipertensiva, potenciador del sueño, relajante, analgésico, sin toxicidad. En *Passiflora incarnata*, se atribuye sus efectos estimulantes a los flavonoides y a los fitosteroles la actividad ansiolítica. (Taborda, 2013, p.27; Sanabria, 2012, pp.34-35)

Estudios realizados mediante análisis HPLC-PDA en extracto acuoso (infusión) y alcohólico 40% de hojas de *P. edulis* muestra la presencia de Vicenina-2, 6,8-di-c-glicosilcrisina, saponinas, vitexina, isovitexina, orientina, e isoorientina. (Petry et al. 2001; De-Paris et al. 2002; Zucolotto et al. 2012)

Estudios fitoquímicos de hojas de *P. quadrangularis* revelan la presencia de flavonoides, Vitexin-2''-O-rhamnosido, alcaloides, saponinas, triterpenos y esteroides. (Zucolotto et al. 2012; Castro et al. 2007)

Estudios farmacológicos de *P. edulis* han sido realizados con varias especies de otros países, demostrando su aplicabilidad no solo como ansiolítico sino para otras dolencias ajenas al sistema nervioso; con menor peso en investigación en *P. quadrangularis* se ha investigado su aplicabilidad como ansiolítico, no existe un peso en la investigación de pasifloras ecuatorianas para determinar su uso terapéutico.

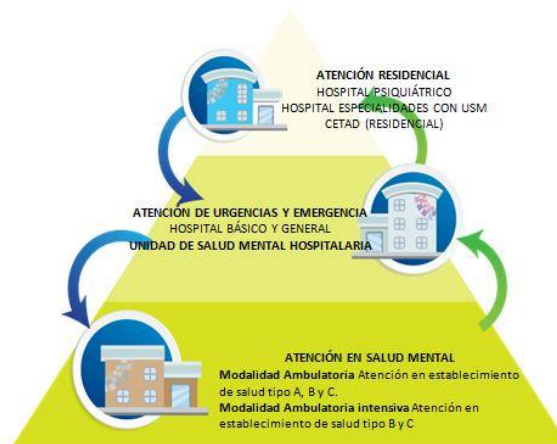
La OMS ha definido pautas para la aprobación de fitofármacos apoyándose en metodologías confiables, de esta manera se universalizan los estudios experimentales para garantizar los productos de origen vegetal. (Ruiz, 2005, p.8)

## 1.2. Bases Teóricas

### 1.2.1. Salud mental

“La salud mental abarca una amplia gama de actividades directa o indirectamente relacionadas con el componente de bienestar mental 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»”. (OMS, 2016, URL: [http://www.who.int/topics/mental\\_health/es/](http://www.who.int/topics/mental_health/es/))

El MSP del Ecuador ha incluido a la salud mental dentro de la planificación en sus tres niveles de atención en salud. (Acuerdo Ministerial 00004927), a través de la Dirección de Salud Mental desde el 2005.



**Figura 1-1 Niveles de atención en salud mental en Ecuador**

**Fuente:** (Ministerio de Salud Pública, 2012, URL: <http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/Piramide-SM.jpg>)

### 1.2.2. Ansiedad

La ansiedad es una reacción normal y esperable en situaciones de tensión, es decir una anticipación a preocupaciones futuras asociada con la tensión muscular y comportamiento; puede alertar de peligros, preparar y actuar. (Oquendo, 2017, p 1.)

La ansiedad, no es una respuesta única ni propia de los seres humanos sino que la mayoría de los animales la poseen. Inconscientemente es una respuesta o activación de los sentidos para



responder de manera rápida eficaz y segura ante un peligro. Se puede decir que la supervivencia de especies está estrechamente ligada a la ansiedad, pues la respuesta de ha permitido la subsistencia de especies a lo largo de la evolución incluyendo a los seres humanos. (Caseras, 2012, p. 13-17)

### **1.2.3.            *Comportamientos ansiosos***

Consisten en la evitación de situaciones ansiógenas o incapacidad de pensar claramente y dominar el miedo; la mayoría de las personas quieren ocultar los síntomas para controlarse. Ciertas conductas patológicas pueden ser:

- **Compulsiones:** actitudes repetitivas en ocasiones absurdas con el fin de calmar la ansiedad. Estas conductas son muy notorias y visibles: lavarse las manos, oraciones, caminar de un lado a otro, etc.
- **Conductas contrafóbicas:** Enfrentamiento conductual contra la ansiedad y la fobia a través de la compañía de alguien o algún objeto que aunque no realice un papel de protección genera tranquilidad.
- **Otras conductas:** consumo de alcohol o drogas, incapacidad de controlarse, etc.

### **1.2.4.            *Trastornos de ansiedad***

Alteraciones conductuales que comparten características de miedo y ansiedad extremos y persistentes. El miedo corresponde a una respuesta emocional a situaciones reales o imaginarias, la ansiedad es una respuesta de anticipación a eventos próximos. Las respuestas a diferentes situaciones son catalogadas como tipos particulares de respuesta al miedo y ansiedad. (American Psychiatric Association, 2013, p. 189-190)

### **1.2.5.            *Clasificación de los trastornos de ansiedad***

Existen varios tipos de trastornos de ansiedad, cada tipo posee características sintomatológicas particulares que las diferencian entre sí. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 7-8).

Existen clasificaciones de acuerdo a varios criterios psicológicos y clínicos para lograr diagnosticar y diferenciar a una persona con algún tipo de trastorno de ansiedad, se recogen dos criterios de clasificación:

- Organización Mundial de la Salud, OMS. CIE-10.
- Asociación de Psiquiatras Americanos, APA (DSM-5)

En CIE-10 se agrupan los trastornos en categorizaciones, de tal modo que la ansiedad está ubicada en seis grupos, mientras en la DSM-5 se menciona una clasificación menos compleja pero con información discriminatoria entre cada tipo:

**Tabla 1-1 Clasificación de Trastornos de Ansiedad según el DSM-5 y la CIE-10**

<b>CIE-10</b>	<b>DSM-5</b>
<b>Trastorno de ansiedad fóbica (F40)</b>	
Fobias sociales	Trastorno de ansiedad social (fobia social)
Fobias específicas	Fobia específica
Agorafobia	Agorafobia
<b>Otros trastornos de ansiedad (F41)</b>	
Trastorno de pánico	Trastorno de pánico
Trastorno de ansiedad generalizada	Trastorno de ansiedad generalizada
Trastorno mixto ansioso-depresivo	
Otro trastorno mixto de ansiedad	
Otros trastornos de ansiedad especificos	Otros trastornos de ansiedad especificado
Otros trastornos de ansiedad, no especificado	Otro trastorno de ansiedad no especificado
<b>Trastornos emocionales con inicio específicas de la infancia (F93)</b>	
trastorno de ansiedad de separación de la infancia	Trastorno de ansiedad por separación
Trastorno de ansiedad fóbica de la infancia	
Trastorno de ansiedad social de la infancia	
<b>Trastornos del comportamiento social de comienzo habitual en la infancia y adolescencia. (F94)</b>	Continuará

Continúa	
Mutismo selectivo	Mutismo selectivo
<b>Los trastornos mentales y del comportamiento debido al uso de sustancias psicoactivas (F10-F19)</b>	Trastorno de ansiedad inducido por sustancias/medicamentos
<b>Otros trastornos mentales debidos a lesión o disfunción cerebral o a enfermedad somática (F06)</b>	
Trastorno de ansiedad orgánico.	Trastorno de ansiedad debido a otra afección médica

**Fuente:** (American Psychiatric Association, 2013, p. 189-233; OMS, 2016, URL: <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en>)

**Realizado por:** NIQUINGA, D, 2017

#### ***1.2.5.1. Trastorno de ansiedad generalizada***

Implica preocupación excesiva y persistente acompañada de inquietud, fatiga, dificultad para concentrarse, insomnio, tensión muscular, lo cual interfiere con las actividades diarias. Estos síntomas salen presentarse a raíz de las cosas cotidianas como el trabajo, salud de familiares, tareas, el auto, cosas pendientes. (Oquendo, 2017, [https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?\\_ga=1.36369696.1435825802.1485902611](https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?_ga=1.36369696.1435825802.1485902611))

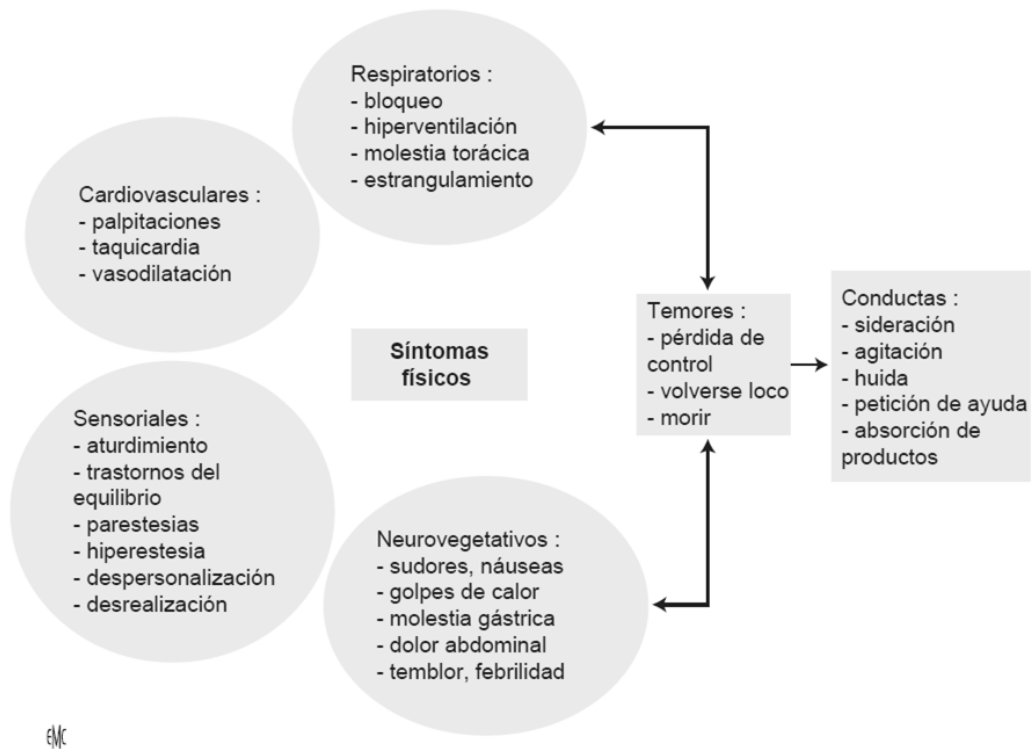
#### ***1.2.5.2. Fobia específica***

Miedo a situaciones o cosas específicas, generalmente animales, sangre, inyecciones, truenos, altura, oscuridad, espacios cerrados. Las situaciones de fobia específica pueden dar lugar al pánico. (OMS, 2016)

#### ***1.2.5.3. Trastorno de pánico***

Se presenta como una respuesta al miedo, o situaciones inesperadas, al parecer los ataques de pánico se producen sin ninguna razón. El síntoma principal de este trastorno son los ataques frecuentes de pánico acompañado de malestar psicológico y físico. Al experimentar un ataque de

pánico se podría creer que se trata de un ataque al corazón o alguna enfermedad similar, los síntomas característicos de un ataque de pánico se describen a continuación en la Figura 2-1



**Figura 2-1 Esquema de los cambios fisiológicos y psicológicas de un ataque de pánico**

**Fuente:** (Pelissolo, 2012, pp.1-10)

Las crisis de pánico no se limitan solo como trastorno de ansiedad sino que también puede ser catalogada como otro trastorno mental, ya que pueden ocurrir con otros trastornos como en trastorno de estrés postraumático. Generalmente este trastorno se presenta entre los 22 y 23 años de edad. (Parekh, 2017, URL: [https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?\\_ga=1.36369696.1435825802.1485902611](https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?_ga=1.36369696.1435825802.1485902611))

#### **1.2.5.4. Trastorno de ansiedad por separación**

Ansiedad por el rechazo a la separación de las aquellas personas por las cuales siente apego o afecto; la característica esencial de este tipo de ansiedad excesiva es el alejamiento del hogar o de personas de su vínculo familiar; aunque el predominio de este tipo de ansiedad es en la infancia también puede encontrarse casos en edad adulta. Los factores de riesgo asociados conocidos son: muerte de mascota, cambio de escuela, divorcio de los padres, separación de las figuras de apego. (American Psychiatric Association, 2013, p. 190-195)

#### **1.2.5.5.** *Mutismo selectivo*

Es la incapacidad para hablar en ciertas interacciones sociales aunque en otra situación la persona hable sin dificultad, por ejemplo en la escuela, reuniones de familia, etc.; dicha dificultad de hablar no se debe a la falta de conocimiento ni por trastorno de fluidez. Este trastorno es más probable en niños que en adolescentes o adultos. (American Psychiatric Association, 2013, p. 195-196)

#### **1.2.5.6.** *Trastorno de ansiedad social (fobia social)*

Nivel de incomodidad significativa en situaciones sociales en que el individuo está expuesto u otro entorno social por sentirse avergonzado, humillado o rechazado. Ejemplos característicos son conocer gente nueva, hablar en público, comer con desconocidos, etc. (Parekh, 2017, URL: [https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?\\_ga=1.36369696.1435825802.1485902611](https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?_ga=1.36369696.1435825802.1485902611))

#### **1.2.5.7.** *Agorafobia*

Conjunto de temores, desproporcionados, irracionales e involuntarios al salir de casa, el individuo se siente indefenso en situaciones diferentes e incluso podría desencadenar crisis de pánico al no poder salir de esa situación fácilmente, como entrar a una tienda, utilización de transporte público, multitudes, lugares cerrados, espacios abiertos, entre los más importantes. Es notoria la evitación de la persona de las situaciones que conducen a la agorafobia y es frecuente que desee estar acompañado por alguien más. (Díez-Quevedo, et al, 2002, pp.60-65)

#### **1.2.5.8.** *Trastorno de ansiedad inducido por sustancias/medicamentos*

Trastorno de ansiedad debido a sustancias (abuso de drogas, medicamentos, toxina). El pánico o ansiedad se produce durante, después o abstinencia del consumo de la sustancia ingerida. De acuerdo a la codificación CIE-10 estos trastornos se encuentran subclasificados en el grupo de “Trastornos mentales y del comportamiento debidos al consumo de sustancias psicótropas” y se denominan para casi la mayoría de sustancias así: Trastornos mentales y del comportamiento debidos al consumo de (nombre de la sustancia), como pueden ser alcohol, cannabinoides, opioides, sedantes o hipnóticos, cocaína, otros estimulantes (incluyendo la cafeína), alucinógenos,

tabaco, disolventes volátiles y múltiples drogas o de otras sustancias psicótropas. (American Psychiatric Association, 2013, p. 226-230)

### **1.2.6. Severidad de los trastornos de ansiedad**

La ansiedad posee tres niveles, según su gravedad:

- Trastorno leve: Un trastorno de ansiedad leve solo provoca una ligera variación en las actividades diarias.
- Trastorno moderado: Provoca una alteración de las actividades cotidianas sin interrumpir sus actividades.
- Trastorno severo: Altera sustancialmente la vida diaria, generando disfunción del individuo y sintomatología psicótica a través de ideas homicidas o suicidas. (Heinze & Camacho, 2010, pp. 7-8)

### **1.2.7. Neurobiología de la ansiedad**

La responsabilidad de preservar la vida mediante reacciones de huida, lucha, cólera, miedo, ansiedad y actividad sexual recae en la existencia de un sistema neuronal. Anatómicamente se involucran al sistema límbico, la amígdala y el locus cerúleo, conjuntamente con sus mecanismos químicos permite a un mejor entendimiento de las bases neurobiológicas de la ansiedad. (Reyes-Ticas, 2016 pp. 15,16)

#### **1.2.7.1. Neuroanatomía de la ansiedad**

La amígdala

Está ubicada en el lóbulo temporal, coordina y regula las reacciones de alarma. Esta estructura anatómica envía señales al hipocampo, corteza prefrontal, sensorial, hipotálamo, tálamo, núcleos dorsales del vago, estriatum, locus ceruleus, núcleos parabranciales. Dichas proyecciones dirigen sistemas neurohumorales, autonómicos y musculosqueléticos asociados con respuestas de ansiedad y miedo. También es un centro de regulación, evalúa los estímulos exteroceptivos e interoceptivos que desencadenan las respuestas conductuales de alarma. Su función estaría mediada por receptores benzodiazepínicos, noradrenérgicos, y 5HT-1A. (Reyes-Ticas, 2016 pp. 15,16)

## Tálamo

Se ubica en el centro del diencefalo; es un canalizador de los estímulos ambientales hacia la corteza. Al existir una lesión en este órgano la reacción de miedo desaparece.

## Hipotálamo

Es uno de los componentes del diencefalo localizándose desde la región óptica hasta los cuerpos mamilares. Una de sus funciones es la activación del sistema simpático actuando en la liberación neuropéptica y neuroendocrina, lo cual genera la segregación de corticotropina, vasopresina y oxitocina.

## Hipocampo

Esta estructura mantiene vínculos con las áreas corticales y el sistema límbico. Posee receptores 5HT-1A lo cual es controlado por sus agonistas como la buspirona; tiene un papel fundamental en el control de la ansiedad.

## Locus cerúleo

Los receptores GABA-benzodiazepínicos y serotoninérgicos regulan la acción de norepinefrina, la constituye la mayoría en el locus cerúleo. Al núcleo paragigantocelularis y al núcleo prepositus hipogloso llega la información interoceptiva; la información de estímulos exteroceptivos ingresa por la corteza insular, orbital e infralímbica. El cual es activado cuando disminuye la presión sanguínea, variaciones en la termorregulación, recibe estímulos nocivos o amenazantes siendo de vital importancia para la supervivencia.

## Substancia gris periacueductal

Los estímulos amenazantes son inducidos hacia la amígdala, permitiendo así en la sustancia gris periacueductal lateral el desarrollo de una actividad defensiva; sin embargo, se produce un

"congelamiento" de la sustancia gris periacueductal ventrolateral en situaciones de amenaza menor.

#### Corteza orbitofrontal

Recepta las interacciones entre el sistema límbico y la información sensorial, interpreta los eventos significativos, los selecciona y planea respuestas conductuales frente situaciones de peligro. Los receptores 5HT-2 son las estructuras mayoritarias por lo que se asume su participación en los sentimientos.

#### *1.2.7.2. Neurotransmisores las respuestas de ansiedad*

El individuo reacciona frente a estímulos corporales (internos o externos) poniendo en marcha una serie de reacciones lo cual conduce finalmente a la formación de signos físicos y psíquicos característicos de algún tipo de trastorno de ansiedad según sea el estímulo.

#### Noradrenalina

Es una catecolamina precursora de la tirosina, la cual por acción de la enzima Tirosina-Hidroxilasa y Dopa-descarboxilasa produce dopamina, la cual a su vez da origen a la noradrenalina. Las conexiones de las vías adrenérgicas ascendentes (córtex, diencéfalo y sistema límbico) y descendentes (formación reticular de la médula) le otorga participación en los estados de ánimo, alerta y vigilancia.

#### Dopamina

Corresponde el 50% de catecolaminas presentes en el cerebro. La vía dopaminérgica de mayor importancia tiene origen en la sustancia negra. La dopamina regula el control de los movimientos, expresión de los estados anímicos, afectivos, y juicio crítico.



## Serotonina (5HT)

Neurotransmisor conocido por poseer un efecto tonificador de la musculatura lisa en los vasos sanguíneos, sintetizada en la neurona (núcleo y terminaciones), a partir del triptófano. La biodegradación del neurotransmisor en la hendidura sináptica e intracelularmente a través de la enzima Mono Amino Oxidaza (MAO). Se conocen siete tipos básicos de receptores de la serotonina: 5 HT-1; 5 HT-2; 5 HT-3, 5 HT-4; 5 HT-5, 5 HT-6; 5 HT-7.

La 5HT participa en el control hipotalámico, las secreciones de la hipófisis, entre otras, la adrenocorticotropina (ACTH) que en situaciones de ansiedad se incrementa y a su vez estimula la producción de cortisol en la corteza adrenal.

La serotonina tiene un efecto modulador general, inhibe por acción directa o por estimulación del GABA, por lo que se relaciona con los trastornos de ansiedad.

## Ácido Gamma Amino Butírico (GABA)

Las neuronas cerebrales en su mayoría GABA y Glutamato, encontrándose distribuido en todo el cerebro. La disminución de las respuestas al miedo se debe al efecto de las vías gabaérgicas, debido a los receptores GABA de la amígdala e hipocampo. Se describen tres tipos de receptores: los inotrópicos GABA-A y los metabotópicos (GABA-B y GABA-C).

Los receptores GABA-A posee una diversidad estructura ya que se conocen siete subtipos de receptores (dos subunidades  $\alpha$ , dos  $\beta$  y una  $\gamma$ ) de los cuales cinco están asociados a la formación de canales iónicos, se diferencian en la cinética de los canales y en la afinidad por el GABA. La fijación del GABA tiene lugar en la subunidad  $\beta$  mientras que en la interfase  $\alpha$  y  $\gamma$  se fijan las benzodiazepinas, Los receptores GABA $\alpha$  inhiben los impulsos nerviosos al abrir los canales de cloro. Están situados en la membrana plasmática post-sináptica y se relaciona con los receptores benzodiazepínicos convirtiéndose en receptores muy importantes ya que muchos neurofármacos ansiolíticos actúan sobre ellos; Los receptores GABA-B y GABA-C no tienen relación con sitios de unión con benzodiazepinas. (Flórez, 2014, pp.450-451; Psicoeducacion, URL:

<http://psicoeducacion.org/trastornos-de-ansiedad/angustia-sintoma-y-cultura/neurotransmisores-en-las-respuestas-de-ansiedad/>)

### **1.2.8. Tratamientos de la ansiedad**

Cada trastorno de ansiedad posee características únicas, pero la mayoría de trastornos a respondido bien a la combinación (aunque pueden realizarse individualmente) de dos tipos de tratamiento: psicoterapia (cognitiva y de conducta), y farmacológico. Los medicamentos no curan los trastornos de ansiedad pero significan alivio para los trastornos. (Parekh 2017, URL: [https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?\\_ga=1.36369696.1435825802.1485902611](https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?_ga=1.36369696.1435825802.1485902611) )

Con la terapia adecuada se pueden reducir o eliminar sus síntomas al cabo de varias sesiones terapéuticas, es de resaltar que los trastornos de ansiedad no se logran eliminar al instante. Conjuntamente la psicoterapia y la medicación adecuada pueden desempeñar un papel importante en la mejoría del paciente, sin embargo debe entenderse de que algunos de los fármacos tienen efectos adversos, sin embargo, no todas las combinaciones terapéuticas han sido fructíferas en la mejoría de pacientes, especialmente con fármacos ansiolíticos actuales. (American Psychological Association, 2010; Stein, Hollander & Rothbaum, 2010)

#### **1.2.8.1. Tratamiento farmacológico**

Se considera fármaco ansiolítico a aquel que alivie u elimine los síntomas de la ansiedad, pero sin producir ansiedad o sueño. Durante mucho tiempo con el uso de fármacos barbitúricos, meprobamato y benzodiazepinas se consideraba los efectos en el orden ansiolítico-sedante-hipnótico de acuerdo a la progresividad de sus dosis, sin embargo en el caso de los barbitúricos era difícil diferenciar entre efecto sedante e hipnótico. (Flórez, 2014, pp.448-449)

##### **1.2.8.1.1. Benzodiazepinas y derivados**

Sus acciones farmacológicas se centran en la producción de ansiólisis, sedación, hipnosis, anticonvulsivantes y miorelajación central. Son los medicamentos de elección para tratar el

trastorno de ansiedad generalizada a corto plazo, el alprazolam y otras benzodiazepinas de elevada potencia se utilizan en trastornos de pánico. (Flórez, 2014, p. 448-449)

La diferencia de potencia de las benzodiazepinas es notoria entre sí de hasta 20 veces de otra benzodiazepinas: 0.5 mg de alprazolam equivalen a 10 mg de diazepam; es decir tomar 6 mg de alprazolam equivalen a tomar 120 mg aproximadamente de diazepam. Es muy importante tomar en cuenta esta diferencia entre benzodiazepinas, aún más si se trata de cambiar la terapia a otro fármaco. (Ashton, 2010, URL: <http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>)

Hay presencia de receptores benzodiazepínicos en receptores GABA, la unión de benzodiazepinas con un receptor incrementa la acción del GABA, y consecuentemente los neurotransmisores cerebrales excitativos disminuyen (serotonina, acetilcolina, noradrenalina)

Se diferencian tres tipos de receptores benzodiazepínicos de acuerdo a su ubicación, afinidad de ligandos y estructura. (Barreto, 2003, pp. 2-8)

- BZ1: están ubicados mayormente en la corteza cerebral, cerebelo, hipocampo; zolpidem, es el fármaco de mayor afinidad con estos receptores.
- BZ2: Se encuentran en la médula espinal, hipocampo y corteza cerebral; son de elevada afinidad con todas las benzodiazepinas.
- BZ3: presentan alta afinidad a las benzodiazepinas y están presentes en el riñón, testículo, hígado, SNC, membranas mitocondriales.

#### Clasificación

. Las benzodiazepinas ansiolíticas se clasifican de acuerdo a la duración de su efecto:

- Benzodiazepinas de acción prolongada: poseen una vida media de 24 horas o más, y su biotransformación da lugar a formación de metabolitos activos. A esta agrupación pertenecen el clonazepam, clobazepam, clorazepato y diazepam.

- Benzodiazepinas de acción intermedia: tienen una vida media entre 5 a 24 horas. Su biotransformación forma metabolitos activa e inactivos, pertenecen al grupo el alprazolam, lorazepam, bromazepam y temazepam.
- Benzodiazepinas de acción corta: La vida media de estos fármacos es menor a cinco horas, en su biotransformación no se forman metabolitos activos, son de este grupo el triazolam, midazolam y oxazepam.(Aristil, 2012, p. 68)

La tabla 2-1 muestra los fármacos benzodiazepínicos y la vida media de los metabolitos activos y secundarios; así como las aplicaciones terapéuticas más importantes de acuerdo a la clasificación ansiolítica.

**Tabla 2-1 Tiempo de vida media de las benzodiazepinas y sus metabolitos**

Fármaco	Semivida del fármaco original (h)	Metabolito activo	Semivida del metabolito (h)	Duración global de la acción	Aplicaciones más importantes
Zolpidem*	2	No	–	Ultracorta (~4 h)	Hipnótico
Lorazepam, oxazepam, temazepam, lormetazepam	8-12	No	–	Corta (12-18 h)	Ansiolítico, hipnótico
Alprazolam	6-12	Derivado hidroxilado	6	Media (24 h)	Ansiolítico, antidepresivo
Nitrazepam	16-40	No	–	Media	Hipnótico, ansiolítico
Diazepam, clordiazepóxido	20-40	Nordiazepam	60	Larga (24-48 h)	Ansiolítico, relajante muscular El diazepam se usa como antiepiléptico
Flurazepam	1	Desmetilflurazepam	60	Larga	Ansiolítico
Clonazepam	50	No	–	Larga	Antiepiléptico, ansiolítico (sobre todo en la manía)

\* El zolpidem no es una benzodiazepina, pero actúa de forma similar. La zopiclona es similar.

Fuente: (Rang and Dale, 2012, p.533)

### Mecanismo de acción

La acción selectiva de las benzodiazepinas sobre los receptores GABA<sub>A</sub> (mediadores en la transmisión sináptica inhibitoria), facilita la apertura de los canales de cloruro los que actúan de manera alostérica incrementando la afinidad del GABA por el receptor. En la Figura 3-1 se muestra la mecanización a travez del cual las benzodiazepinas actúan. (Rang and Dale, 2012, p.533-534)



**Figura 3-1 Mecanismo de acción de las Benzodiazepinas**

Fuente: (Raffa, Rawls and Beyzarov, 2008, p. 66)

## Efectos adversos

Las benzodiazepinas causan deterioros leves de la memoria, sedación, disminuir el estado de alerta y el tiempo de reacción, alterar al control de los movimientos, tienen el potencial de generar hábito, dependencia y abuso especialmente en pacientes con trastornos de personalidad o farmacodependientes (incluido el alcoholismo); además potencian el efecto sedante de otros fármacos; también demuestran otras reacciones adversas como irritabilidad, agresión, amnesia, e incluso incremento de la ansiedad hasta crisis de pánico. Por otro lado, la pronta interrupción de tratamientos con benzodiazepinas (acción corta) sin combinación con otros fármacos puede dar lugar a una ansiedad mayor acompañada de convulsiones. Las benzodiazepinas no se deben administrar en mujeres embarazadas, pueden producir malformaciones craneofaciales. (Goodman & Gilman, 2012, p.414)

La combinación de benzodiazepinas con otros fármacos antidepresivos, con drogas y/o alcohol incrementa su potencial, y causar la muerte. (NARCONON, 2017, URL: <http://www.narconon.org/es/informacion-drogas/farmacos-prescripcion/benzodiazepinas.html>)

## Tolerancia y dependencia

La tolerancia puede aparecer después de un periodo de consumo habitual o prolongado de benzodiazepinas. La concentración inicial deja de ser suficiente y por consiguiente se receta cada vez más para alcanzar el efecto terapéutico deseado o hasta la combinación de benzodiazepinas para potenciar su efecto. Existe poca evidencia sobre la tolerancia que se desarrolla luego de meses de administración, sin embargo se ha logrado mostrar que estos fármacos podrían agravar los cuadros ansiosos. La ansiedad aparece con mayor intensidad cuando el consumo de benzodiazepinas es continuo, puede llegar a desarrollar crisis de pánico y agorafobia. El desarrollo de esta sintomatología es causada por la tolerancia a efectos ansiolíticos, y produce síntomas de abstinencia aunque esté en terapia con benzodiazepinas. (Ashton, 2010, URL: <http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>)

Al suspender de manera repentina el consumo de benzodiazepinas puede producir síntomas y signos como recidiva, rebote, abstinencia.

La dependencia a BZD puede provocar síntomas y signos por su suspensión, entre ellos recidiva, rebote, abstinencia que se desarrollan en un período de semanas hasta meses de consumo recurrente y a dosis elevadas. Por tal motivo se debe discontinuar el 25% por semana.; cuando esta discontinuación es muy vertiginosa se recomienda cambiar la terapia de una benzodiazepina de vida media corta por otra con vida media prolongada, pero con la misma potencia.

Los casos de adicción, con comportamientos compulsivos a la obtención de estos fármacos son poco frecuentes, pero causa mayor propensión a suicidios. La combinación de sustancias como el alcohol, barbitúricos y drogas induce al sueño y el paciente puede dormir hasta 24 horas. Se necesita un antagonista como el flumazenil para contrarrestar su efecto. (Barreto, 2003, pp. 1-14)

### 1.2.8.1.2. Inhibidores selectivos de recaptación de serotonina (ISRS)

Poseen eficacia demostrada en tratamientos de trastornos de ansiedad generalizada, crisis de pánico, ansiedad social, y trastornos obsesivo-compulsivos. Los ISRS más conocidos son

fluoxetina, paroxetina, sertralina, citalopram, escitalopram, fluvoxamina. (Goodman & Gilman, 2012, p. 397)

#### Mecanismo de acción

Bloquea la recaptación del neurotransmisor y provoca un aumento y prolongación de la neurotransmisión serotoninérgica. La mayor disponibilidad sináptica de serotonina estimula a los receptores postsinápticos de 5HT, somatodendríticos y presinápticos reguladores de la liberación de serotonina y actividad neuronal serotoninérgica. (Goodman & Gilman, 2012, p. 405)

#### Reacciones adversas

Entre los efectos adversos más importantes se consideran que provocan náuseas, nerviosismo pero desaparecen al poco tiempo, disfunción sexual por lo que el cambio de fármaco a otro tipo de ansiolítico es frecuente, diarrea, insomnio, inquietud, mareo. (Chávez-León et al, 2008 pp. 309-319)

#### 1.2.8.1.3. Inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (ISRN)

La venlafaxina y sus metabolitos desmetilados, la desvenlafaxina, la duloxetina y el milnaciprano son los más reconocidos para trastornos de ansiedad y el dolor, son los antidepresivos no tricíclicos, sin embargo actúan de manera análoga a los efectos de algunos antidepresivos tricíclicos. (Goodman & Gilman, 2012, p.407)

#### Mecanismo de acción

Inhiben transportadores de serotonina y noradrenalina y provocan incremento en la neurotransmisión serotoninérgica y/o noradrenérgica. La inhibición de los transportadores de serotonina activa los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>1D</sub>; mediante este efecto se produce una retroalimentación negativa que disminuye la neurotransmisión serotoninérgica hasta que los autorreceptores se desensibilizan, de esta manera la serotonina aumenta en la sinapsis y puede interactuar con receptores 5-HT postsinápticos. (Goodman & Gilman, 2012, p. 407)

#### 1.2.8.1.4. Buspirona

Agonista parcial de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> indicado para tratar trastornos de ansiedad generalizada, pero no es efectivo en el tratamiento de fobias, tiene afinidad moderada por receptores dopaminérgicos D2 cerebrales, carece de acciones hipnóticas, anticonvulsivante y miorrelajante, no desarrolla dependencia, tampoco produce trastornos cognitivos ni psicómotors, produce disforia por lo tanto no incita al abuso de buspirona. Es importante mencionar que no interactúa con otros depresores del SNC ni con el alcohol, lo cual es un inconveniente mayoritario en el uso de benzodiazepinas. El inconveniente con este fármaco es que su efecto ansiolítico puede tardar en desarrollarse de hasta dos semanas, además en pacientes tratados con benzodiazepinas no es notorio el efecto y puede deberse a la existencia de síntomas de abstinencia a las benzodiazepinas. (Rang and Dale, 2012, p. 538; Flórez, 2014, p. 455-456)

#### Mecanismo de acción

Posee un perfil farmacológico distinto al de las benzodiazepinas ya que su acción no se vincula al receptor GABA, sin embargo según Florez, (2014) su efecto final sobre la transmisión serotoninérgica no se ha estudiado por completo.

#### Reacciones adversas

Los efectos secundarios son menos fuertes que en el caso de las benzodiazepinas, entre los más frecuentes los mareos, náuseas, cefaleas, nerviosismo, insomnio, fatiga, excitación, sudoración. (Rang and Dale, 2012, p. 538; Flórez, 2014, p. 456)

#### 1.2.8.2. *Terapias alternativas*

#### Aromaterapia

Es una terapia a base de aromas sintéticos o naturales causando efectos terapéuticos. El estrés, hipertensión y ansiedad han presentado mejoría después de tratamientos en estudios comprobados



con aceites esenciales. Las células olfativas de la nariz transmiten impulsos eléctricos hacia la amígdala, lóbulo temporal, tálamo, hipotálamo y se canalizan hacia el centro del sistema humoral. (Pamplona, 2006, p. 52)

Los aceites esenciales de lavanda son uno de los más estudiadas, especialmente en aromaterapia para la ansiedad, se describen propiedades de las flores como ansiolíticas, antiepasmódicas, cicatrizantes, migrañas nerviosas. Se consideran responsables de estos efectos al linalol, alcohol terciario alifático y el éster acetato de linalilo. Especies como Bergamota, Geranio, Mandarina, Menta, Romero, Sándalo, entre otras poseen aceites esenciales útiles para trastornos de ansiedad (Avello *et al.*, 2006, p.89)

Según (Vásquez, García and Cerquín, 2016 p.21-30; Soto-Vásquez *et. al*, 2017, p.121-125) los resultados son favorables para tratamientos de ansiedad en combinación con la meditación consciente lo que solidifica la posibilidad de utilizarlos como terapias alternativas.

## Fitoterapia

La utilización de las plantas de diversas formas para combatir las dolencias es sin duda uno de las más antiguas prácticas, y es la fitoterapia la medicina más cercana a la medicina convencional moderna; sin embargo se considera que el efecto de las plantas naturales se debe al conjunto de sustancias presentes en un extracto.

Las plantas más reconocidas para tratamientos de la ansiedad y estrés han sido la valeriana, pasiflora, espino blanco, hierba de San Juan, otras menos estudiadas para ansiedad son la manzanilla, melisa. Parece ser que el espino blanco es útil en la disipación de trastornos de ansiedad por su efecto leve sobre el SNC y miorelajación, reduce sensaciones de vértigo y ansiedad, e insomnio.

Aunque los mecanismos de acción de la medicina herbolaria no es tan esclarecida como los fármacos convencionales, se cree que algunas plantas como *R. rosea* y *C. sativus*, poseen actividad ansiolítica y puede deberse a mecanismos en las vías neurológicas (Sistemas GABAérgico, serotoninérgico y noradrenérgico) similares a los fármacos ansiolíticos, Al

comparar el efecto de *H. perforatum* con inhibidores selectivos de recaptación de serotonina se produjo una diferencia significativa a favor del tratamiento fitoquímico . En la Tabla 3-1 se muestran especies herbarias y sus efectos ansiolíticos, así como su posible mecanismo de acción a tra vez de los cuales se presume que produce el efecto ansiolítico. (Saki, Bahmani & Rafieian-Kopaei, 2014, p. S34-S42)

**Tabla 3-1 Plantas con efectos ansiolíticos y sus posibles mecanismos de acción.**

Planta	Uso clínico	Posible mecanismo	Compuesto principal
<i>Echium amoenum</i> (borraja)	Ansiedad, depresión	Mecanismo desconocido	Ácido Rosmarinico Tessinina
<i>C. sativas</i> (safron)	Ansiedad, depresión	Inhibición de la recaptación de serotonina, Dopamina, norepinefrina, GABA agonismo, antagonismo del receptor de NMDA,	Safranal
<i>Lavandula spp.</i> (lavanda)	Ansiedad, depresión, tensión somática	GABA modulación	Linalol, Acetato de linalilo,
<i>Albizia julibrissin</i> (mimosa)	Ansiedad	Afinidad de unión del receptor 5-HT1a y 5-HT2c	Julibrósido
<i>R. rosea</i>	Ansiedad, depresión	Inhibición de Monoamino oxidasa	Rosavin

Fuente: (Saki, Bahmani & Rafieian-Kopaei, 2014, p. S36-S37)

### 1.2.9. Género *Passiflora*

El género *Passiflora* es el principal de la familia *Passifloraceae* de los 12 géneros existentes, crecen en zonas tropicales y templadas hasta 3000 m.s.n.m., el 90% de pasifloras son nativas de América. La familia *Passifloraceae* posee alrededor de 500 especies conocidas, la mayoría es de uso ornamental o comercial. Las pasifloras comerciales para su consumo son las badea (*Passiflora quadrangularis*), maracuyá (*Passiflora edulis*), gulupa (*Passiflora edulis*), granadilla (*Passiflora ligularis*), y la curuba (*Passiflora mollissima*), los nombres comunes cambian en distintos países. (Carvajal-De Pabón et al, 2014, pp. 187)

Las pasifloras son arbustos y hierbas trepadoras, generalmente poseen zarcillos auxiliares y su tallo es herbáceo o leñoso de acuerdo a la especie, las hojas son alternas y pueden ser enteras, lobuladas, palmeadas o en ocasiones compuestas. (Sánchez, 2016, p. 9)

En el siglo XIX se descubrió el efecto sobre el SNC como sedante y ansiolítico de la pasionaria (*Passiflora incarnata*), estudios posteriores confirmaron su actividad. En una investigación doble ciego con oxacepam a 30 mg/Kg se comprueba la eficacia de su efecto. (Akhondzadeh et al, 2001 pp. 363-367)

En general las passifloras contienen flavonoides, se especula que el flavonoide Crisina actúe como agonistas en los receptores benzodiazepínicos. Los efectos secundarios reportados por uso de pasifloras son escasos. (García, Gómez & Puente, 2002, p. 54-55)

#### 1.2.9.1. *Passiflora edulis* (Maracuyá)



**Figura 4-1** *Passiflora edulis* (maracuyá)

Fuente: <http://www.tradewindsfruit.com/content/passionfruit.htm>

División taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Violales

Familia: Passifloraceae

Género: *Passiflora*

Especie: *Passiflora edulis*

#### Distribución y hábitat

Es una especie nativa de regiones tropicales y subtropicales de Centro y Sudamérica, se cultivan comercialmente en Colombia, Mexico, Brasil, Ecuador y Perú principalmente. (Melorose et al. 2005, p.148)

#### Características botánicas

Es una planta trepadora perenne que puede llegar a medir hasta nueve metros de longitud, tallo ligeramente ondulado o cilíndrico, rígido y leñoso, se adhiere a soportes a través de zarcillos espirales características de pasifloras. Las hojas son de color verde oscuro trilobuladas alternas con márgenes finamente dentados. Las flores son de gran viscosidad y se presentan solitarias a lo largo de nuevos brotes, normalmente es blanca con tintes que van desde el rojo hasta azul pálido. (Taborda, 2013, p. 7-9)

#### Composición fotoquímica

La composición química de jugo del fruto de *P. edulis* muestra mayor cantidad de flavonoide y alcaloides y en mediana cantidad saponinas de tipo esteroideal y quinonas.

En extractos etanólicos de hojas de *P. edulis* se encuentran mayormente cumarinas y en mediana cantidad saponinas triterpenoides y taninos catéquicos. Compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides, aceites y terpenoides. (Rojas y Tomás, 2010, pp.23-29)

Otra investigación en extracto alcohólico de hojas de *P. edulis* indica alcaloides y flavonoides como compuestos mayoritarios, seguido de quinonas, compuestos lactónicos, compuestos

fenólicos, resinas de azúcares y de baja presencia triterpenos, resinas y antocianinas. (Cazorla, 2013, p.65)

Estudios más avanzados en hojas de *P. edulis* confirman la presencia de compuestos como vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina mediante análisis HPLC-PDA, (De-Paris *et al.*, 2002, p. 6)

### 1.2.9.2. *Passiflora quadrangularis* (Badea)



**Figura 5-1** *Passiflora quadrangularis* (Badea)

**Fuente:** <http://www.sabelotodo.org/agricultura/enredaderas/imagenes/granadillareal.jpg>

División taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniidae

Orden: Violales

Familia: Passifloraceae

Género: *Passiflora*

Especie: *Passiflora quadrangularis*

## Distribución y hábitat

Esta especie de pasiflora llamada comúnmente en nuestro país como “badea” es una especie de las zonas intertropicales. Esta planta crece desde el nivel del mar hasta 1000 msnm entre 17 y 25 °C. (Robayo, 2013, p. 15)

## Características botánicas

La badea es una especie trepadora con tallo cuadrangular alcanzando de 10 a 20 m, sus hojas son verde claro de forma ova de aproximadamente 20 cm de longitud y 12 cm de ancho. El fruto es una baya ovoide, semillas de color negro, duras y aplanadas, están cubiertas por un arilo, característica que comparten las especies de este género, en general el fruto presenta un sabor dulce ligeramente ácido con un aroma agradable. (Robayo, 2013, p. 15; Sánchez, 2016, p. 25)

## Composición fitoquímica

En extractos de hojas existen mayoritariamente aceites, grasas, lactonas, cumarinas, triterpenos, saponinas, taninos, flavonoides. Las flores poseen aceites, grasas, triterpenos, taninos, flavonoides y la presencia de glicósidos cianogénicos, (Muñoz, 2016, p. 58)

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

Se realizan investigaciones con el fin de simular los trastornos ansiosos humanos en animales de experimentación, de esta manera se asume que el miedo en animales es la equivalencia de la ansiedad de los humanos. Durante años la investigación se ha utilizado animales para comprender los trastornos de ansiedad y buscar sus terapias, se describen dos tipos de modelos, uno con respuestas condicionadas y otro modelo con respuestas no condicionadas. (Polanco & Vargas -Irwin , 2011, p. 142)

### **1.2.10.1. Modelos de respuesta condicionada**

Estos modelos controlan precisamente la conducta animal; se fundamenta en la evaluación de respuestas específicas ante un estímulo (choque eléctrico). Los animales previamente son entrenados para estos ensayos y requieren varios grupos de control y se eliminan varios factores como el apetito, funciones motoras, aprendizaje.

Se describen dos modelos animales de respuesta condicionada, el primero y más antiguo es el modelo asociativo o pavloviano, usado para establecer los factores que influyen en la respuesta condicionada y sus mecanismos. Estudios con este modelo han sido de gran importancia en la explicación de la recaída, la etiología de la ansiedad, el miedo condicionado y su tratamiento. El segundo modelo condicionado es el modelo de condicionamiento instrumental u operante. (Polanco & Vargas -Irwin, 2011, p. 142)

### **1.2.10.2. Modelos de respuesta no condicionada**

Estos modelos animales preclínicos se utilizan para estudios fisiológicos relacionados con el miedo y la ansiedad, para examinar nuevos fármacos, estudiar fenómenos conductuales, y su etiología. Estos modelos animales imitan los trastornos humanos y reducen el tiempo y costo de las investigaciones ya que existe una extensa gama de técnicas experimentales. Sin embargo, a pesar de la facilidad de uso de estos modelos resulta complejo el estudio del comportamiento. Los modelos de respuesta no condicionada más importantes son: Campo abierto, Laberinto elevado en cruz, Laberinto T-elevado, Cuarto claro/oscuro, interacción social. (Litvin *et al.*, 2008, p. 81-99).

Laberinto elevado en cruz (EPM).- Es el test de mayor fundamento y aceptabilidad en investigaciones para determinación selectiva de fármacos ansiolíticos y sustancias ansiogénicas, Normalmente los ratones manifiestan miedo en los brazos abiertos y superficie elevada, los fármacos ansiolíticos disminuyen la ansiedad e incrementan el tiempo de exploración en los brazos abiertos, los ansiogénicos actúan de manera contraria. Las benzodiazepinas y balproato disminuyen la actividad motora y aumentan el tiempo exploratorio en los brazos abiertos. (Vogel, 2008, p. 626)

Campo abierto (OFT).- Es un modelo para el estudio del comportamiento en general, miedo y la ansiedad. Este test determina la respuesta cuando el animal es expuesto a un evento estresante (espacio abierto) sin posibilidad de escapar de él. Existen variaciones del aparato en tamaño, textura del piso, sonido, iluminación. Se realizan mediciones como distancia recorrida, deambulaci3n, ubicaci3n del animal, movimientos corporales como el acicalamiento, olfateo, estiramiento. (Polanco & Vargas -Irwin, 2011, p. 142)

Caja luz/oscuridad.- Los ratones tienen preferencia con el cuarto oscuro, sin embargo los ratones tienden a explorar espacios novedosos (cuarto claro) o incrementa el n3mero de transiciones despu3s de un tratamiento con ansiol3ticos. Las mediciones m3s destacadas son el tiempo de permanencia en el espacio claro y el n3mero de transiciones. (Rej3n-Orantes, 2011, p. 83)

Chimenea.- Es una prueba sencilla que permite medir la actividad calmante y relajante muscular. Esta prueba puede ser utilizada como una prueba adicional a las pruebas que determinan actividad relajante muscular. (Vogel, 2008, p. 579)



## CAPITULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

La presente investigación es de tipo exploratoria, correlacional, con diseño experimental. Mediante el presente trabajo se investiga la dosis efectiva para la actividad ansiolítica de extractos de hojas de *Passiflora quadrangularis* y *Passiflora edulis* in vivo en ratones *Mus musculus* a diferentes concentraciones mediante cuatro test; los resultados obtenidos se comparan frente a un fármaco ansiolítico ACEPRAN®.

El presente trabajo de titulación se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos naturales y en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

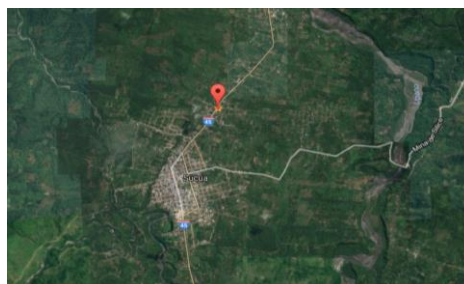
#### 2.1. Material Vegetal

Las hojas de *P. edulis* fueron recogidas en el cantón Sucúa, Provincia de Morona Santiago a una altura aproximada de 900 msnm. Las coordenadas de la ubicación donde se recolectó la planta:

Latitud: -2.440879970785822,

Longitud: -78.16345096068173

Elevación: 900 msnm



**Figura 1-2 Punto de recolección de *P. edulis***

Fuente: GPS

Las hojas de *P. quadrangularis* fueron recogidas en la ciudad de Macas, provincia de Morona Santiago a una altura aproximada a 1033 msnm. Las coordenadas de la ubicación del punto de recolección fueron:

Latitud: -2.30097003132986

Longitud: -78.12165201092154

Elevación: 1033 msnm



**Figura 2-2** Punto de recolección de *P. quadrangularis*

Fuente: GPS

## 2.2. Materiales, equipos y reactivos

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

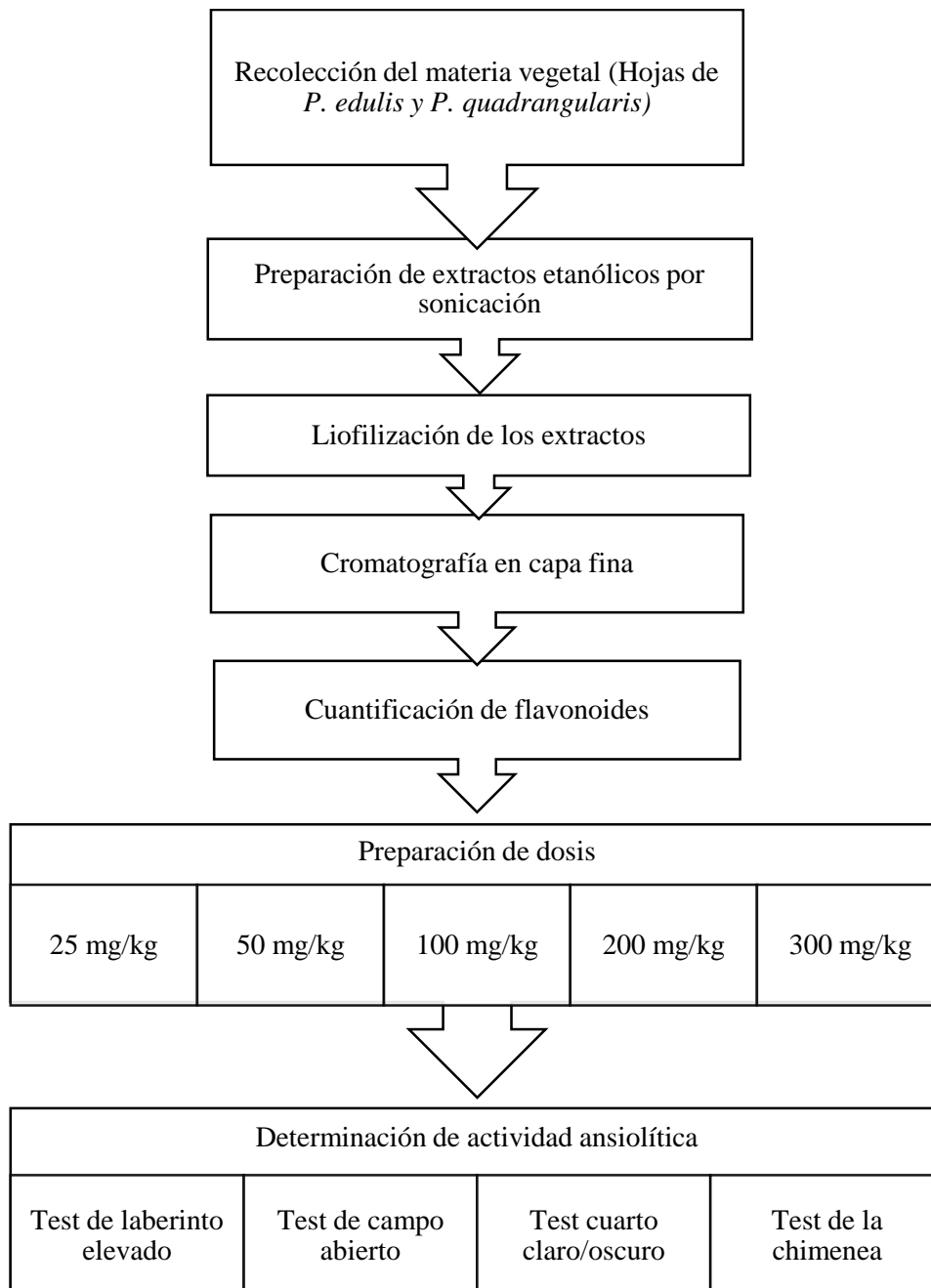
<b>Elaboración de extracto liofilizado</b>			
<b>Materiales</b>		<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Balones esmerilados	250	Balanza analítica.- Balanza	Agua clorada
mL		electrónica	Alcohol etílico 85%
Espátula		Marca: RADWAG	Nitrógeno líquido
Trípode		Estufa.- Marca: Mermet	
Embudo simple		Molino de cuchillas.- Marca:	
Algodón higroscópico		Arthur H. Thomas C.O	
Varilla de agitación		avapor.- R 110	
		Sonicador .- Marca: Branson	
		2510	
		Congelador	Continuará

Continúa	Liofilizador.- Marca: Thermo MicroModulyo Freeze Dryer	
<b>Cuantificación de flavonoides</b>		
<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Balón aforado de 25 mL	Espectrofotómetro.- S-2150	Nitrito de Sodio 5%
Tubos de vidrio 10 mL	Spectrophotometer Agitador magnético	Tricloruro de aluminio 10% Hidróxido de sodio 1M Agua bidestilada
<b>Cromatografía en capa fina (CCF)</b>		
<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Cuba cromatográfica	Cámara UV.- Chromato Vue	Solución de 200 ppm de
Capilares	modelo cc20	extracto liofilizado
Aspersor		Ácido acético glacial
Placa cromatográfica	Vórtex	Ácido fórmico
Micropipeta automática de 250 uL		Cloroformo ACS
Puntas amarillas de 100 uL		Metanol Acetato de etilo
<b>Evaluación de la actividad ansiolítica</b>		
<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Tubos de vidrio 10 mL	Balanza analítica.- Balanza	Reactivo biológico:
Pera	electrónica	Ratones ( <i>mus musculus</i> )
Pipeta aforada 2 mL	Marca: RADWAG Balanza	hembras procedentes del
Bandejas de plástico	digital	Bioterio de la Universidad de Guayaquil Peso promedio: 25-35 g Sexo: hembras Edad: adultas Propilenglicol 15% Clonazepam 2,5mg/mL

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

### 2.3. Preparación de extractos

La metodología utilizada se describe en el Gráfico 1-2.



**Gráfico 1-2 Diseño de trabajo para determinación de dosis efectiva para actividad ansiolítica**

Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

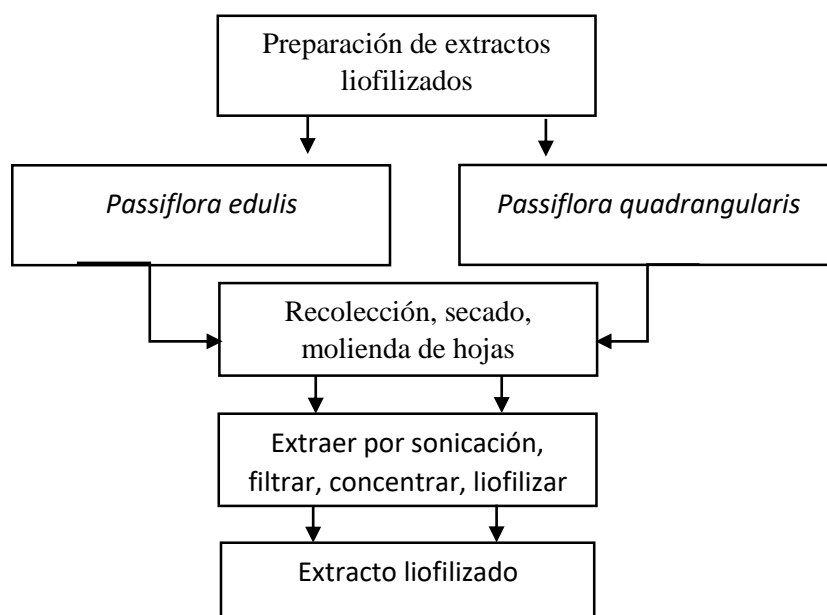
### 2.3.1. *Recolección, lavado y secado del material vegetal.*

La materia vegetal recogida fue lavada con solución de hipoclorito diluido, se eliminó el exceso de agua y se secó en la estufa a 40°C. Las hojas secas fueron trituradas y se almacenó protegiendo de la humedad para su posterior tratamiento.

### 2.3.2. *Preparación de extractos liofilizados*

Los extractos de hojas de *P. edulis* y *P. quadrangularis* fueron preparados individualmente para cada especie. Se mezcló 50 g de material vegetal seco y triturado con etanol al 85 % a una relación 1:5 etanólica, la mezcla se dejó 30 minutos en reposo y se sometió 30 minutos de sonicación, se filtró el extracto obtenido en algodón higroscópico con la ayuda de un embudo simple y trípode. El filtrado se concentró en el rotavapor para eliminar el alcohol de la solución, el extracto concentrado se filtró por segunda vez y se puso en congelación por 48 horas. La congelación se mantuvo con nitrógeno líquido formando un cristal eutéctico durante la liofilización. Se calculó el rendimiento del extracto. (Carrión & García, 2010 pp.39-41)

Se siguió la metodología del gráfico 2-2.



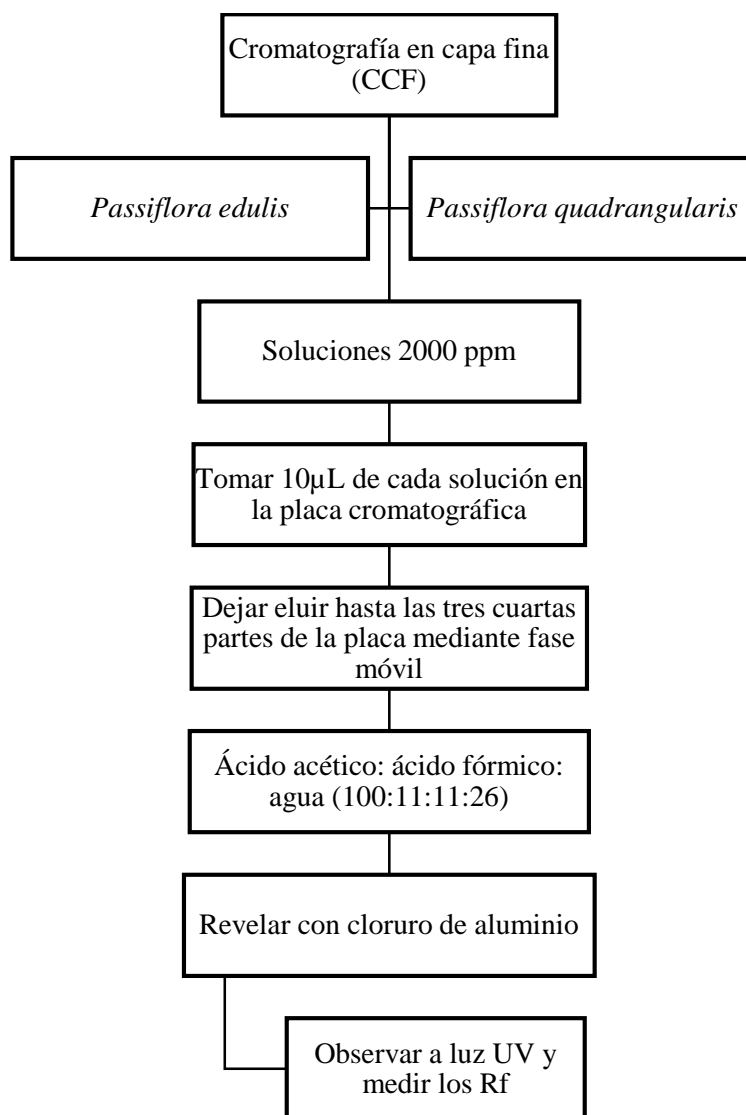
**Gráfico 2-2** Flujograma para la preparación de extractos

Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

## 2.4. Métodos y técnicas

### 2.4.1. Cromatografía en capa fina (CCF)

Se siguió la metodología para determinación de glicósidos flavónicos. Se prepararon soluciones alcohólicas de 2000 ppm y se depositó 10  $\mu$ L en la placa cromatográfica. Se colocó la placa en la cuba para cromatografías hasta que el solvente recorra las  $\frac{3}{4}$  partes de la placa; la fase móvil utilizada para la cromatografía fue ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26). La placa se retiró de la cuba, se dejó secar y se reveló con Cloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ); La placa se observó en la cámara UV y se midieron los Rf. (Wagner & Bladt, 1996, p. 196)

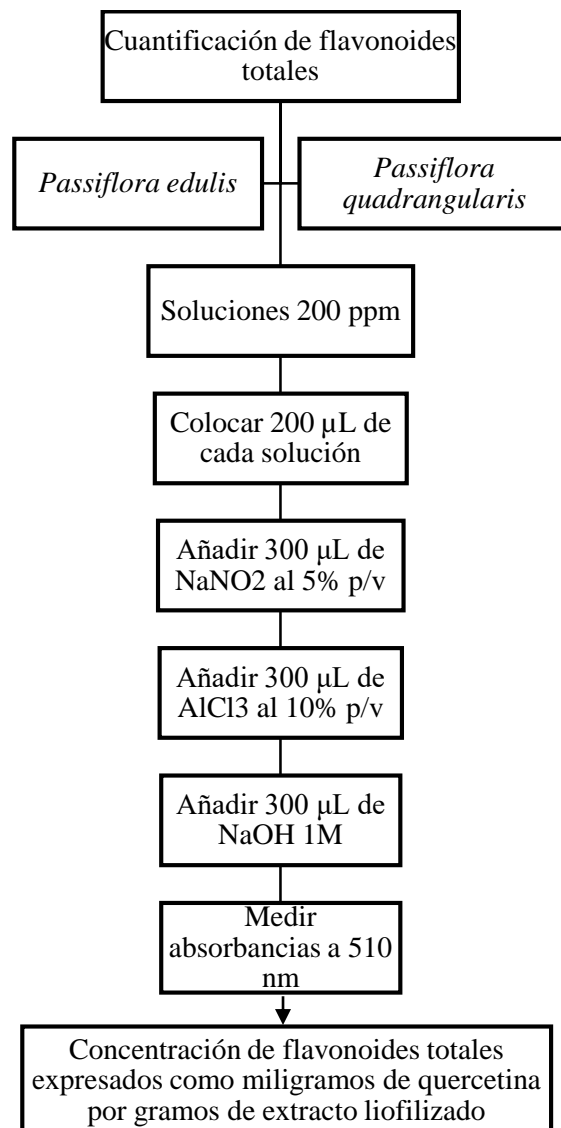


**Gráfico 3-2** Flujograma de cromatografía en capa fina (CCF)

Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

#### 2.4.2. Cuantificación de flavonoides

El contenido flavónico en los extractos liofilizados para cada especie se realizó por ensayos triplicados mediante espectrofotometría. Se tomó 200  $\mu\text{L}$  de una solución del extracto de 200 ppm y se añadió 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  al 5% p/v, se homogenizó y dejó en reposo por 5 minutos, luego se añadieron 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10% p/v, la mezcla se agita y se deja en reposo durante 6 minutos, por último se añade 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  1M. Se midieron las absorbancias en el espectro fotómetro 6 minutos después de la última adición de reactivo, a 510 nm y se empleó una curva de calibración de 20 a 100 ppm de estándar de quercetina. Los flavonoides se expresan como miligramos de quercetina por gramos de extracto bruto liofilizado. (Boukhris et al, 2013, pp. 1206-1213)



**Gráfico 4-2** Flujograma de cuantificación de flavonoides totales

Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

### 2.4.3. *Determinación de la actividad ansiolítica*

La investigación se realizó en ratones hembra de la especie *Mus musculus*, de edad adulta, nulíparas y de peso entre 26 – 36 g. Las condiciones de mantenimiento y de adaptación de los animales en el bioterio comprendieron ciclos de 12 h de luz/oscuridad por 30 días y con una temperatura de 23°C. Además tenían acceso libre a comida y agua.

Los ratones fueron trasladados 30 minutos antes del experimento para favorecer su ambientación. El estudio siguió el mismo modelo en las dos especies de pasiflora.

Los extractos liofilizados fueron reconstituidos con vehículo (propilenglicol 15%) y se administró en varias dosis conforme a la tabla 2-2; El volumen administrado a cada raton fue aproximadamente 0,2 mL de solución. Se esperó 30 minutos posteriores a la administración para realizar la evaluación de los test para actividad ansiolítica.

**Tabla 2-2 División y codificación de grupos *Passiflora edulis* y *Passiflora quadrangularis***

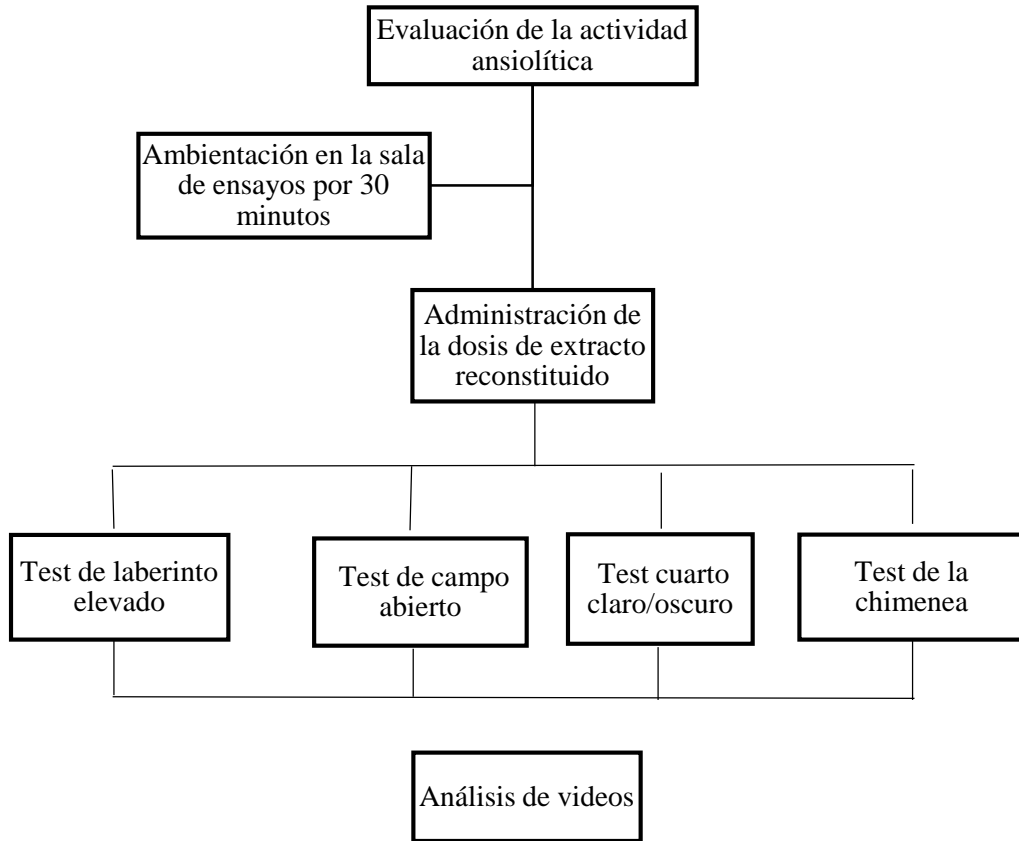
	Concentración	Número de ratones	Código
Clonazepam	0,5 mg/kg	5	CONTROL
Propilenglicol	15%	5	BLANCO
<i>Passiflora edulis</i> (PE)	25 mg/ kg	5	PE-D1
	50 mg/ kg	5	PE-D2
	100 mg/ kg	5	PE-D3
	200 mg/ kg	5	PE-D4
	300 mg/ kg	5	PE-D5
<i>Passiflora quadrangularis</i> (PQ)	25 mg/ kg	5	PQ-D1
	50 mg/ kg	5	PQ-D2
	100 mg/ kg	5	PQ-D3
	200 mg/ kg	5	PQ-D4
	300 mg/ kg	5	PQ-D5

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

Se realizaron cuatro test de respuesta no condicionada para evaluar la actividad ansiolítica: Laberinto elevado en cruz, campo abierto, cuarto claro/oscuro y chimenea, en orden consecutivo;



los instrumentos de evaluación fueron desinfectados previamente para cada test con etanol 10%. Cada prueba fue grabada por un lapso de 5 minutos para su posterior análisis de comportamiento de los animales. El gráfico 3-2 muestra los ensayos efectuados



**Gráfico 5-2 Flujograma para la evaluación de la actividad ansiolítica**

Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

#### 2.4.3.1. *Laberinto elevado en cruz*

El laberinto se encuentra elevado a 50 cm por encima del suelo, está compuesto por dos brazos abiertos de 30cm x 5cm de manera perpendicular y dos brazos cerrados perpendiculares de 30cm x 5cm x 25cm, conectados por una plataforma central de 5cm x 5cm. Los animales de experimentación fueron colocados transcurridos treinta minutos después de la administración oral, en el centro del laberinto con la cabeza en dirección hacia un brazo cerrado; el ratón permanece 5 minutos en el laberinto y es filmado durante ese tiempo para luego observar los siguientes parámetros:

- **Porcentaje de tiempo de en brazos abiertos (TBA):** Se consideró que el animal se encuentra en el brazo abierto cuando las cuatro patas del roedor se encuentran en el brazo abierto. Los fármacos ansiolíticos, al disminuir la ansiedad del ratón aumentan el tiempo de exploración de los brazos abiertos; al contrario, si un fármaco es ansiogénico incrementará el tiempo de permanencia en los brazos cerrados. (Vogel, 2008, p.626)

- **Numero de entrada en brazos (EB)** Según (Expósito, 1994) considera como entrada al brazo cuando el roedor ingresa las cuatro patas en cualquier brazo, ya sea abierto cerrado, el número de entradas se contabiliza durante 5 minutos. El laberinto elevado en cruz debe limpiarse con etanol al 10% antes de efectuar cada prueba. De acuerdo con (Komada, Takao y Miyakawa 2008), el número total de entradas en brazos son considerados como un índice de actividad general. Autores como (Becerra-García et al., 2007; Ramos, A. 2008) mencionan que los ratones en situaciones ansiosas disminuyen el número de entradas en brazos abiertos. Si un tratamiento disminuye el número total de entradas en los brazos y la preferencia por los brazos abiertos de manera similar podría ser catalogada como ansiogénica o sedante. (Lister 1990, pp.321-340)

#### **2.4.3.2. Cuarto claro/oscuro**

Es un test de comportamiento simple de Crawley y Goodwin (1980) para detectar sustancias con actividad ansiolítica, El instrumento utilizado consiste en una caja de madera 45x27x27cm dividido en dos compartimentos de 18x27cm pintado de color negro (cuarto oscuro) y de 27x27cm pintado de color blanco (cuarto claro), la pared central que divide los compartimentos posee un orificio rectangular de 7.5 x 7.5 cm que conecta el un compartimento con el otro. La prueba se inició colocando al ratón en la parte central del cuarto claro con la cabeza en dirección al cuarto oscuro. Se grabó 5 minutos para evaluar el tiempo de permanencia en el cuarto claro.

- **Tiempo en cuarto claro (TCC):** Se consideró al tiempo que permanece el animal en el cuarto claro cuando tiene sus cuatro patas en el compartimento blanco; el aparato debe ser limpiado con etanol 10% para cada ensayo. Los ratones exploran un ambiente nuevo, pero naturalmente tienden a retirarse de propiedades aversivas (campo claro) por lo que pasaran normalmente mayor tiempo en el compartimento oscuro (Cárdenas y Navarro 2002, pp.18-32).

Según Vogel, 2008 después de un tratamiento con ansiolíticos se incrementan el comportamiento exploratorio, las transiciones entre los dos compartimentos y mayor actividad locomotora.

#### **2.4.3.3.** *Campo abierto/Open Field (OF)*

Es uno de los test más antiguos y muy utilizados en psicofarmacología para el estudio del comportamiento en general, miedo y ansiedad según el criterio de (Litvin et al. 2008, pp.82-83). El instrumento para este ensayo consiste en una caja de madera de 60cm x 60cm de color blanco con una de las paredes de policarbonato para una fácil visualización, la superficie está dividido en 16 cuadros de 15cm x 15cm con líneas negras y un cuadro central de contorno rojo. El ensayo fue grabado durante 5 minutos y se evaluaron los siguientes parámetros:

- **Cuadros recorridos (CRE):** Se consideró a este parámetro como el número total de cuadros recorridos en toda la superficie del campo abierto en 5 minutos de duración del ensayo. Se tomó en cuenta como un cuadro recorrido cuando el ratón toca el siguiente cuadro con sus cuatro patas. De acuerdo con (Cárdenas y Navarro 2002, pp.18-32) administración de ansiolíticos, estimulantes (anfetamina) y anticolinérgicos tienden a incrementar la actividad locomotora, sin embargo los ansiolíticos reducen comportamientos de miedo. Las benzodiazepinas incrementan la locomoción de animales en espacios no familiarizados. (Lister 1990, pp.321-340)
- **Tiempo de permanencia en el centro (TC):** Tiempo de permanencia en el cuadro de contorno rojo ubicado en el centro del campo abierto. Normalmente la mayoría de los ratones tienen tendencia a pasar la mayor parte del tiempo en la periferia del campo abierto (tigmotaxis), el efecto ansiolítico hace que los ratones incrementen el tiempo en el centro del campo abierto; sin embargo la permanencia en el centro del OF depende del tamaño del equipo, cepa, iluminación, etc. (Gould, Dao y Kovacsics 2009, pp.1-20)

#### **2.4.3.4.** *Chimenea*

El test de la chimenea de Boissier et al. (1960) permite evaluar la capacidad tranquilizante y relajación muscular, puede ser utilizada como un test adicional a otros ensayos de relajación muscular. El instrumento utilizado para este ensayo consiste en un tubo de vidrio transparente de 28mm x 20cm; se colocó el ratón en el interior del tubo sobre una superficie vertical para que el ratón quede en posición vertical y con la cola hacia arriba. En este ensayo se analizó el siguiente parámetro:

- **Tiempo que tarda en salir:** el tiempo en minutos que el ratón logra salir completamente del tubo en condiciones normales un ratón sale del tubo en menos de 0.5 minutos. (Expósito, 2007, pp.127-128). El test es considerado positivo cuando el raton logra salir del tubo en menos de 0.5 minutos, cuando el raton ha suerado este tiempo o no ha logrado escapar en retroceso del tubo se considera que el tratamiento utilizado es sedante. (Saravia Gómez et al. 1998, p.10)

Posterior a todos los ensayos los animales de experimentación fueron sacrificados con éter. Para la determinación de la dosis más adecuada de cada especie de pasifloras se correlacionó los test realizados y sus variables analizadas mostrados en la Tabla 3-2.

**Tabla 3-2 Parámetros observados en el modelo de ansiedad**

Test	Variable medida	Medición
Laberinto elevado en cruz	Entradas en los brazos (EB):	Actividad locomotora. (Rodgers& Dalvi, 2002, p. 806)
	Porcentaje de tiempo en brazos abiertos (TBA)	Actividad ansiolítica (Rodgers& Dalvi, 2002, p. 806)
Campo abierto	Cuadros recorridos (CRE)	Actividad locomotora.(Litvin et al, 2008, p. 324)
	Tiempo en el centro (TC)	Actividad ansiolítica. (Litvin et al, 2008, p. 324)
Cuarto claro/oscuro	Tiempo en cuarto claro (TCC)	Actividad ansiolítica. (Litvin et al, 2008, 124)
Chimenea	Tiempo que tarda en salir (TQS)	Relajación muscular y tranquilizante (Vogel, 2002, p. 396)

**Fuente:** (Litvin et al, 2008, 124; Rodgers& Dalvi, 2002, p. 806; Vogel, 2002, p. 396 )

### ***2.5. Tratamiento estadístico***

El análisis estadístico se realizó con el software IBM SPSS Statistics 22, se realizaron pruebas de normalidad donde se estableció la distribución normal de la muestra. El análisis de dosis se realizaron con el test Anova, post hoc HDS tukey y Duncan según el caso, el análisis para comparar las especies de pasifloras se realizó utilizando el test T – student para muestras independientes.

## CAPITULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSION Y ANALISIS DE RESULTADOS

En el estudio realizado se obtuvo los siguientes resultados:

#### 3.1. Rendimiento del extracto

Se obtuvieron los siguientes rendimientos de los extractos etanólicos al 85% liofilizado de hojas de *P. edulis* y *P. quadrangularis*:

**Tabla 4-3 Porcentaje de rendimiento de hojas de *P. edulis* y *Passiflora quadrangularis***

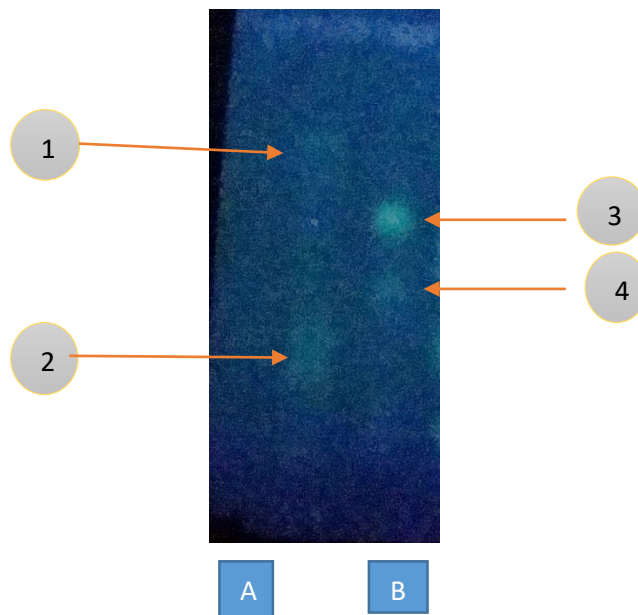
ESPECIE VEGETAL	Cantidad obtenida (mg de extracto liofilizado/g de hojas secas)	Porcentaje de rendimiento
<i>Passiflora edulis</i>	94,6 mg /g de hojas	9,46 %
<i>Passiflora quadrangularis</i>	123,2 mg /g de hojas	12,32 %

Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

El porcentaje de extracción obtenido del extracto alcohólico de hojas de *P. edulis* es fue 9,46% y 12,32 % para *P. quadrangularis*. En estudios realizados por Muñoz (2016) y Teleguario (2008) el porcentaje de rendimiento obtenido en las hojas de *P. edulis* y *P. quadrangularis* es del 18.4 y 20,31% respectivamente. La diferencia de estos resultados mencionados con el presente estudio, es que se realiza una liofilización al extracto obtenido lo cual disminuye el peso por la ausencia de solvente. Esta relación es similar a la expresada por Alonso (2004) al deducir que existe una relación 5:1 de extracto seco, frente a extractos fluidos (1:1) masa extracto/volumen de solvente.

#### 3.2. Cromatografía en capa fina (CCF)

Se realizó la cromatografía en capa fina y se obtuvieron los siguientes resultados:



**Figura 3-3** Cromatografía en capa fina (CCF) para flavonas glicosiladas

Cromatografía del extracto etanólico (85%) liofilizado de hojas de *Passiflora edulis* (A) y *Passiflora quadrangularis* (B) para flavonoides observada mediante lámpara UV cercano. Fs. Sílica Gel con fluorescencia a 254 nm, Fm: acetato de etilo: ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26). **Fuente:** NIQUINGA, Diego, 2017

Los Rf obtenidos para el extracto liofilizado de hojas de *Passiflora edulis* (A) y *Passiflora quadrangularis* (B) fueron los siguientes:

**Tabla 5-3** Rf obtenidos mediante cromatografía en capa fina.

Extracto etanólico al 85% de hojas para flavonoides de <i>Passiflora edulis</i> (A)		Extracto etanólico al 85% de hojas para flavonoides de <i>Passiflora quadrangularis</i> (B)	
Compuesto	Rf	Compuesto	Rf
1	0.67	3	0.55
2	0.25	4	0.4

**Realizado por:** Niquinga, Diego, 2017

Según Wagner y Bladt, (1996); los estándares puros de vitexina, orientina y compuestos similares son los que se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 3-3** Rf de compuestos estándares

<b>Compuesto</b>	<b>Rf</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Rf</b>
Vitexina	0.6-0.65	Vitexina-2''-O-glucósico	0.28
Isovitexina	0.54	Isovitexina-2''-O-glucósico	0.2
Isovitexina-2''-O-ramnósido	0.41	Isoorientina	0.45
Vitexina-2''-O-ramnósido	0.41	Orientina	0.57
Rutina	0.4	Schaftoside	0.80

Fuente: (Wagner & Bladt, 1996, p.230)

Realizado por: Niquinga, Diego, 2017

Relacionando los resultados obtenidos con los datos de bibliografía en Wagner & Bladt (1996) se puede presumir que en el compuesto número 1 correspondería a isovitexina, el compuesto 2 a vitexina-2''-O-glucósico. Según Pereira *et al.*, (2004, pp.241-248) en un estudio comparativo, los flavonoides isoorientina, orientina, ácidos carboxílicos como el ácido caféico, están presentes en hojas de *P. edulis*; sin embargo, en el mismo estudio se realizan comparaciones entre muestras de *P. incarnata* procedentes de Brasil e Italia encontrándose diferencias significativas, los compuestos encontrados no fueron similares o al menos su concentración era muy diferente aunque se tratara de la misma especie. Otro autor (Zucolotto *et al.*, 2009, pp.1221-1226) aisló compuestos C-glicósidos de *P. edulis* brasileñas a partir de un extracto acuoso por infusión, los compuestos encontrados fueron Isoorientina, vicenina-2, espinosina y 6,8-di-C-glicosil-crisina. Se presume que las diferencias encontradas en el contenido de flavonoides entre estudios de diferentes autores es influenciado por el cultivo y el clima y la localización al que se encuentran expuestas las plantas. (Pereira *et al.*, 2004, pp.241-248)

El compuesto 3 correspondería a la posible presencia de vitexina, y el compuesto 4 a isovitexina-2''-O-ramnósido y/o vitexina-2''-O-ramnósido. Según bibliografía el compuesto principal encontrado en hojas de *P. quadrangularis* es vitexin-2''-O-rhamnoside. (Zucolotto *et al.*, 2012, pp.232-239; Gazola y Gesion 2013, pp. 158-163). Un estudio reciente de Muñoz, (2016, p.46) reporta la presencia de Vitexin -2 "O'Glucósido, Vitexin 2" O-ramnosido, Orientina y Vitexina en hojas de *P. quadrangularis*. Al igual que en el caso de *P. edulis*, las variaciones en la composición se debe a factores ambientales, entre el más influyente está la exposición a la luz UV-B que desarrolló un aumento de flavonoides en cultivos de callo de *P. quadrangularis*. (Melorose *et al.*, 2005, p.185)



### 3.3. Cuantificación de flavonoides totales

Se realizó la cuantificación de flavonoides totales por triplicado, mediante espectrofotometría. Se utilizó una curva de calibración de estándar de quercetina cuya ecuación de la recta fue  $y=0.001x + 0.0015$  y su coeficiente de relación  $R^2=0.999$ .

**Tabla 4-3** Resultados de cuantificación de flavonoides totales

Extracto	Flavonoides totales expresados como mg equivalentes de quercetina/g extracto liofilizado
Extracto etanólico al 85% de hojas de <i>P. edulis</i>	<b>81.0 ± 0.63</b>
Extracto etanólico al 85% de hojas de <i>P. quadrangularis</i>	<b>81.6 ± 4.18</b>

Media ± desviación estándar de 3 determinaciones.

**Realizado por:** NIQUINGA, Diego, 2017

La concentración de flavonoides en el extracto liofilizado de hojas de *P. quadrangularis* fue de  $81.6 \pm 4.18$  FTEQ/g, de acuerdo a estudios anteriores en extracto hidroalcohólico 70% de hojas de *Passiflora quadrangularis* fue de 11.76 mg quercetina/g extracto hidroalcohólico. El extracto liofilizado de *P. edulis* presentó  $79.5 \pm 2.19$  FTEQ/g, según investigaciones anteriores el extracto alcohólico de hojas de *P. edulis* presenta 15.6 mg/g de planta. La diferencia en este caso podría deberse al tipo de extracto realizado, pues en ésta investigación se realizó una liofilización al extracto hidroalcohólico. (Muñoz, D, 2016, p. 50; Cazorla, M, 2013, p. 67)

### 3.4. Evaluación de la actividad ansiolítica

#### 3.4.1. Laberinto elevado en cruz (EPM)

**Tabla 5-3** Número total de entradas en brazos

CONTROL +.	BLANCO	<i>Passiflora edulis</i> (PE)					<i>Passiflora quadrangularis</i> (PQ)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
0,60	11,60	8,40	3,80	4,60	2,40	2,80	3,20	2,60	5,20	1,00	2,40
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
0,89	7,77	3,8	,79	3,29	0,55	1,30	1,92	,34	3,11	0,71	2,51

Media ± desviación estándar de cinco determinaciones.  $p < 0.05$

**Realizado por:** NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 10-3 Porcentaje de tiempo en brazos abiertos, %**

CONTROL	BLANCO	<i>Passiflora edulis</i> (PE)					<i>Passiflora quadrangularis</i> (PQ)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
97,52	4,33	33,47	30,53	24,40	17,40	19,33	19,07	19,47	26,73	7,80	22,60
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
4,80	3,93	14,12	7,67	11,76	3,15	9,94	7,81	5,42	8,85	4,48	20,18

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones.  $p < 0.05$

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 11-3 Test Anova para número de entrada a brazos**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	543,250	11	49,386	5,203	,000
Dentro de grupos	455,600	48	9,492		
Total	998,850	59			

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017.

**Tabla 12-3 Test Anova de porcentaje de tiempo en brazos abiertos**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	31032,648	11	2821,150	29,712	,000
Dentro de grupos	4557,563	48	94,949		
Total	35590,211	59			

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017.

**Tabla 13-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de número de entradas.**

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CONTROL	5	,6000		
PQ-D4	5	1,0000		
PE-D4	5	2,4000	2,4000	
PQ-D5	5	2,4000	2,4000	
PQ-D2	5	2,6000	2,6000	Continuará

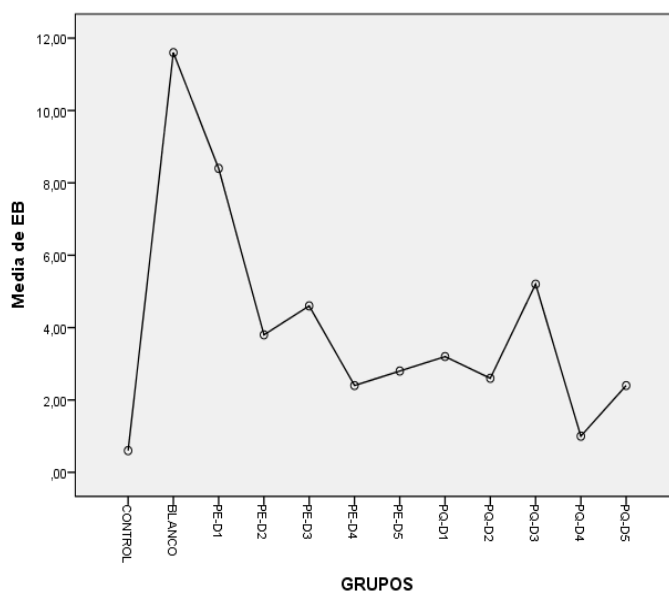
Continúa					
PE-D5	5	2,8000	2,8000		
PQ-D1	5	3,2000	3,2000		
PE-D2	5	3,8000	3,8000		
PE-D3	5	4,6000	4,6000		
PQ-D3	5	5,2000	5,2000	5,2000	
PE-D1	5		8,4000	8,4000	
BLANCO	5			11,6000	
Sig.		,451	,118		,073

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 14-3:** Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

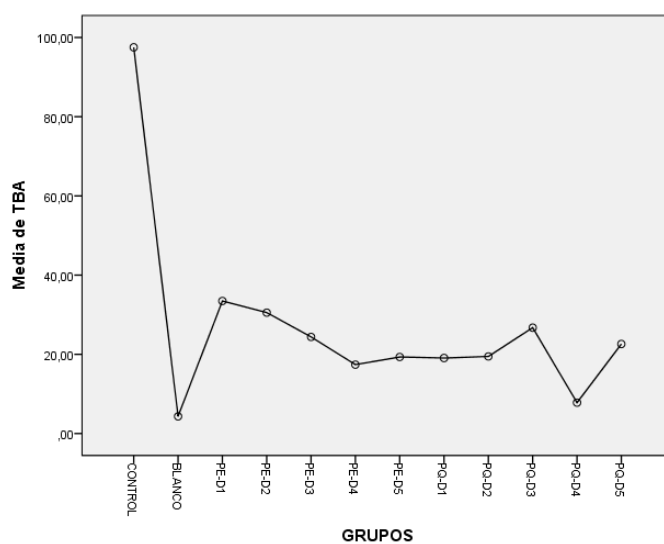
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
BLANCO	5	4,3320			
PQ-D4	5	7,8000	7,8000		
PE-D4	5	17,4000	17,4000	17,4000	
PQ-D1	5	19,0667	19,0667	19,0667	
PE-D5	5	19,3340	19,3340	19,3340	
PQ-D2	5	19,4667	19,4667	19,4667	
PQ-D5	5	22,6000	22,6000	22,6000	
PE-D3	5	24,4000	24,4000	24,4000	
PQ-D3	5		26,7333	26,7333	
PE-D2	5			30,5340	
PE-D1	5			33,4680	
CONTROL	5				97,5200
Sig.		,078	,120	,304	1,000

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017



**Gráfico 6-3** Medias de número de entrada a brazos

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017



**Gráfico 7-3** Medias de porcentaje de tiempo en brazos abiertos

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 15-3** Test t de Student de número de entradas a brazos para comparación de especies de Passiflora

EB	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	1,929	48	0,060

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 16-3: Test t de Student de porcentaje de tiempo en brazos abiertos para comparación de especies de Passiflora**

TBA	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	1,811	48	0,076

**Realizado por:** NIQUINGA, Diego, 2017

El test Anova (Tabla 7-3; Tabla 8-3) muestra diferencia significativa en las dos variables medidas. En el número de entradas a brazos el análisis post-hoc HSD Tukey (Tabla 9-3); se forman 3 grupos homogéneos. Las dosis PQ4 PE4 PQ5 PQ2 PE5 PQ1 PE2 PE3 forman un grupo homogéneo con el grupo Control indicando que a esas dosis existe depresión en la actividad locomotora.

Los tratamientos PE-D1, PQ-D3 forman un grupo homogéneo con el Blanco, indicando que a estas dosis la actividad locomotora no ha sido afectada. E El test t-Student Tabla (11-3) demuestra que no hay diferencia significativa entre el extracto liofilizado de *P. edulis* y *P. quadrangularis*.

El porcentaje de tiempo en brazos abiertos análisis post-hoc HSD Tukey (Tabla 10-3); se forman 4 grupos homogéneos y se puede observar que ninguna dosis forma grupo homogéneo con el control. Sin embargo, PE-D1, PE-D2, PQ-D3, PE-D3, PQ-D5, PQ-D2, PE-D5, PQ-D1, PE-D4, forman parte del grupo más cercano al control lo cual indica actividad insolítica considerable. El test t-Student (Tabla 12-3) muestra que no hay diferencia significativa entre el extracto liofilizado de *P. edulis* y *P. quadrangularis*.

Se observa que la actividad ansiolítica de *P. edulis* es inversamente proporcional a la concentración mientras que en el caso de *P. quadrangularis* es directamente proporcional a la concentración de cada uno de los extractos liofilizados.

En cuanto al extracto liofilizado de *P. edulis*, el número de entradas a brazos PE4 PE5 PE2 PE3 forman grupo homogéneo con el control por lo cual se determina que la actividad locomotora se ve afectada en estas dosis. Existe una diferencia evidente en el grupo control con el tratamiento PE-D1 acercándose a la media del número de entradas en brazos del grupo blanco.

En el porcentaje de tiempo en brazos abiertos no se forma un grupo homogéneo con el control; sin embargo PE-D1, PE-D2 son la dosis del grupo homogéneo más próximo al control. Se observa en el Gráfico 1-3, que la media de PE-D3, PE-D5, PE-D4 forma grupo homogéneo con el grupo blanco por lo que a estas dosis no se le atribuyen ningún efecto ansiolítico.

En cuanto al extracto liofilizado de *P. quadrangularis*, el número de entradas a brazos PQ4, PQ5, PQ2, PQ1 forman grupo homogéneo con el control por lo cual se determina que la actividad locomotora se ve afectada en estas dosis. Existe una diferencia evidente en el grupo control con el tratamiento PQ-D3 acercándose a la media del número de entradas en brazos del grupo blanco.

El porcentaje de tiempo en brazos abiertos no se forma un grupo homogéneo con el control; sin embargo PQ-D3, es la dosis del grupo homogéneo más próximo al control. Se observa en el Gráfico 10-3, que la media de PQ-D4, PQ-D1, PQ-D2, PQ-D5, forma grupo homogéneo con el grupo blanco por lo que a estas dosis no se le atribuyen ningún efecto ansiolítico.

En estudios realizados con fracción flavonoidea de hojas de *P. edulis*, se observa actividad ansiolítica al incrementar el número de entradas en brazos abiertos y el porcentaje de tiempo en brazos abiertos a dosis de 50 – 100 mg/kg. El valor de PE-D1 representa actividad ansiolítica al presentar mayor número de entradas y tiempo en brazos abiertos. (Coleta et al, 2006, pp.1067-1073)

Estudios de *P. quadrangularis* indican similar número de entradas en brazos en dosis de 100 – 50 mg/Kg. PQ-D3 representa el tratamiento de mayor número de entradas y mayor tiempo en brazos abiertos. (Castro et al., 2007, pp.481-484)

### 3.4.2. Cuarto claro-oscuro

**Tabla 17-3 Tiempo de permanencia en el cuarto claro, minutos**

CONTROL	BLANCO	Passiflora edulis (PE)					Passiflora quadrangularis (PQ)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
4,82	0,93	2,82	1,66	1,68	1,08	2,38	2,91	2,53	1,24	1,38	1,26
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
0,35	0,59	0,19	0,67	0,81	0,49	1,69	1,11	1,59	0,80	2,07	0,95

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones. p < 0,05

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 18-3 Test Anova para el tiempo en cuarto claro**

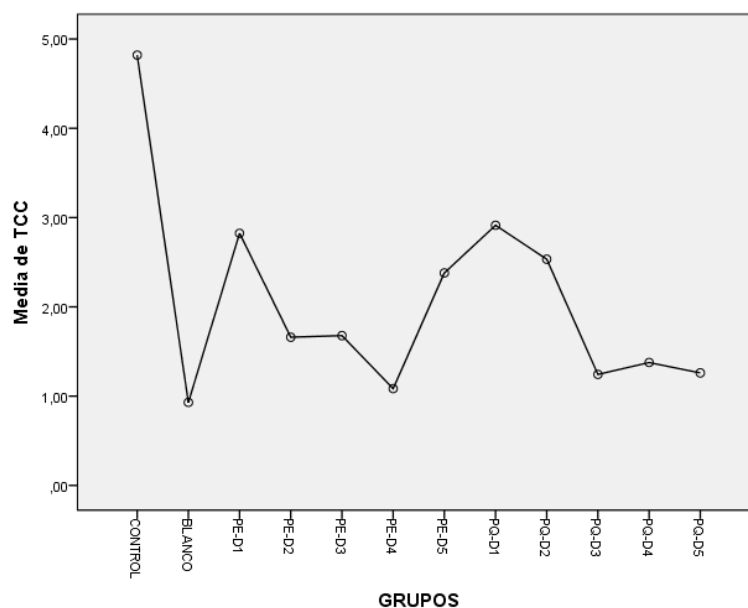
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	67,826	11	6,166	5,188	,000
Dentro de grupos	57,049	48	1,189		
Total	124,875	59			

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 19-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en cuarto claro**

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
BLANCO	5	,9300	
PE-D4	5	1,0840	
PQ-D3	5	1,2433	
PQ-D5	5	1,2600	
PQ-D4	5	1,3767	
PE-D2	5	1,6600	
PE-D3	5	1,6780	
PE-D5	5	2,3800	
PQ-D2	5	2,5333	2,5333
PE-D1	5	2,8240	2,8240
PQ-D1	5	2,9133	2,9133
CONTROL	5		4,8200
Sig.		,182	,067

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017



**Gráfico 8-3** Medias de tiempo en cuarto claro

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 20-3 Test t de Student de tiempo en cuarto claro para comparación de especies de Passiflora**

TCC	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	0,167	48	0,868

Según la Tabla 18-3 existe diferencia significativa. El estadístico pos-hoc Tukey (Tabla 19-3) forma dos grupos homogéneos. Los tratamientos PQ-D1, PE-D2, PQ-2 forman un grupo homogéneo con el grupo control lo cual indica que estas dosis actúan como ansiolíticas. Las dosis PE-D4, PQ-D3, PQ-D5, PQ-D4, PE-D2, PE-D3, PE-D5 forman un grupo homogéneo con el blanco y no determinan actividad ansiolítica. El test t-Student (Tabla 16-3) demuestra que no hay diferencia significativa entre el extracto liofilizado de *P. edulis* y *P. quadrangularis*.

En el extracto liofilizado de *P. edulis*, el tiempo de permanencia en cuarto claro PE-D1, forma el grupo homogéneo con el control. Existe una diferencia evidente entre el grupo blanco con el tratamiento PE-D1, acercándose a la media del tiempo en cuarto claro del grupo control. Esta información se correlaciona con el parámetro ansiolítico del test de laberinto elevado expresado como porcentaje de tiempo en brazos abiertos.



El extracto liofilizado de *P. quadrangularis*, los tratamientos PQ-D1, PQ-D2, forman un grupo homogéneo con el control por lo cual se determina que existe actividad ansiolítica a estas dosis. Los tratamientos PQ4, PQ5, PQ3 no actúan como ansiolíticos en este test. Existe una diferencia evidente entre el grupo blanco y los tratamientos tratamiento PQ-D1, PQ-D2.

### 3.4.3. Test de campo abierto

#### 3.4.3.1. Numero de cuadros recorridos

**Tabla 21-3 Número de cuadros recorridos en campo abierto**

CONTROL	BLANCO	<i>Passiflora edulis</i> (PE)					<i>Passiflora quadrangularis</i> (PQ)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
14,20	85,80	118,20	87,20	81,40	90,00	58,80	59,60	49,00	84,60	44,20	61,20
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
12,68	49,98	34,11	56,59	36,20	38,88	28,91	20,08	34,88	33,07	45,76	9,01

Media y desviación estándar de cinco determinaciones.  $p < 0,05$

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 22-3 Tiempo en centro de campo abierto, minutos**

CONTROL	BLANCO	<i>Passiflora edulis</i> (PE)					<i>Passiflora quadrangularis</i> (PQ)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
0,00	0,31	0,34	0,24	0,12	0,10	0,16	0,05	0,03	0,09	0,11	0,08
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
0,00	0,20	0,05	0,13	0,10	0,02	0,08	0,03	0,04	0,08	0,08	0,05

Media y desviación estándar de cinco determinaciones.  $p < 0,05$

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2016

**Tabla 23-3 Test de Anova para cuadros recorridos en campo abierto**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	40701,783	11	3700,162	2,852	,006
Dentro de grupos	62283,200	48	1297,567		
Total	102984,983	59			

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 24-3 Test Anova de tiempo en centro de campo abierto**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,633	11	,058	7,415	,000
Dentro de grupos	,373	48	,008		
Total	1,006	59			

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 25-3 Test post-hoc Duncan de grupos homogéneos de cuadros recorridos**

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CONTROL	5	14,2000		
PQ-D4	5	44,2000	44,2000	
PQ-D2	5	49,0000	49,0000	
PE-D5	5	58,8000	58,8000	
PQ-D1	5	59,6000	59,6000	
PQ-D5	5	61,2000	61,2000	
PE-D3	5		81,4000	81,4000
PQ-D3	5		84,6000	84,6000
BLANCO	5		85,8000	85,8000
PE-D2	5		87,2000	87,2000
PE-D4	5		90,0000	90,0000
PE-D1	5			118,2000
Sig.		,075	,096	,164

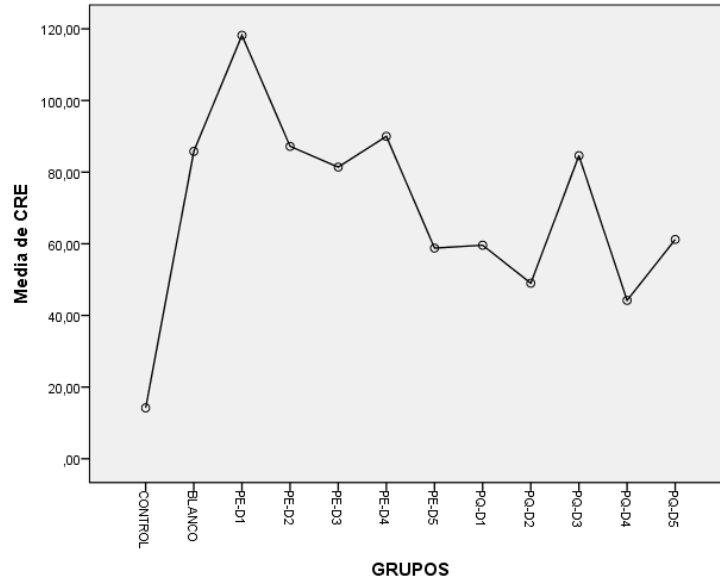
Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 26-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en el centro**

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
CONTROL	5	0,0000			
PQ-D2	5	0,0333			
PQ-D1	5	0,0500	0,0500		
PQ-D5	5	0,0800	0,0800		
PQ-D3	5	0,0900	0,0900		
PE-D4	5	0,1040	0,1040		
PQ-D4	5	0,1067	0,1067		
PE-D3	5	0,1240	0,1240	,1240	Continuará

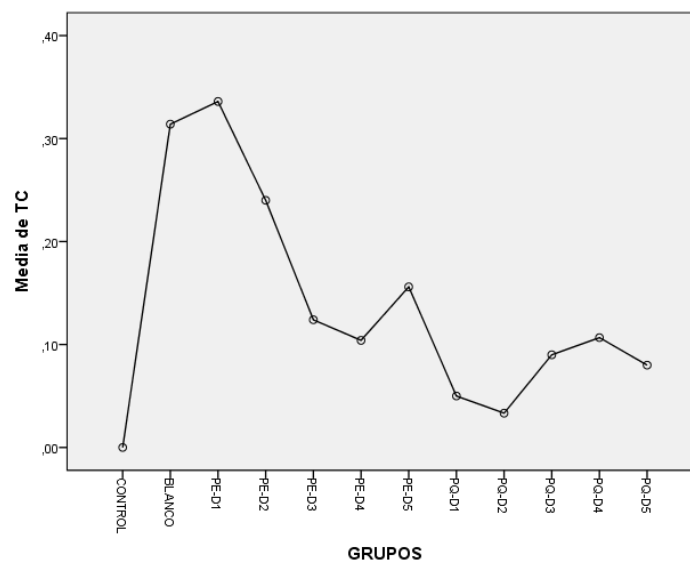
Continúa	PE-D5	5	0,1560	0,1560	,1560	0,1560
	PE-D2	5		0,2400	,2400	0,2400
	BLANCO	5			0,3140	0,3140
	PE-D1	5				0,3360
	Sig.		0,213	0,053	0,053	0,083

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017



**Gráfico 9-3** Medias de cuadros recorridos en campo abierto

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 20167



**Gráfico 10-3** Medias de tiempo en el centro

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 27-3 Test t de Student de cuadros recorridos para comparación de especies.**

CRE	t	Gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	2,62148		0,012

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 28-3 Test t de Student de tiempo en centro comparación de especies.**

TC	t	Gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	4,53	48	0,000

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

El test Anova (Tabla 20-3, Tabla 21-3) muestra que hay una diferencia significativa en las dosis administradas de cada una de las variables medidas. En lo referente a cuadros recorridos (Tabla 22-3); se forma 3 grupos homogéneos. Las dosis más destacables son PE-D1, PE-D4, PE-D2, PQ-D3, ya que forman parte del grupo homogéneo con el blanco. Los tratamientos que disminuyen la actividad locomotora son PQ-D4, PQ-D2, PE-D5, PQ-D1, PQ-D5 ya que recorren menos cuadros y forman un grupo homogéneo con el control. El tratamiento PE-D1 muestra mayor número de cuadros recorridos que el grupo blanco y control. El test t- Student (Tabla 27-3) muestra que existe diferencia significativa entre los extractos de las dos especies de *Pasiflora*.

El extracto liofilizado de *P. quadrangularis* muestra mayor depresión de la actividad locomotora en cuadros recorridos basado en el test Duncan (Tabla 25-3), con mayor número de dosis formando grupo homogéneo con el grupo control.

En el número de cuadros recorridos los tratamientos del extracto de *P. edulis*, según el test post-hoc Duncan (Tabla 21-3), las dosis PE-D3, PE-D5 forman grupo homogéneo con el grupo control, son las cuales se actúan como depresores de la actividad locomotora. El tratamiento PE-D1 tiene mayor número de cuadros recorridos aun mayor que el grupo blanco, seguido de las dosis PE-D4 Y PE-D2 confirmándose que no deprime la locomoción al igual que en la variable número de

entradas del test EPM. La PE-D1 demuestra actividad destacable sobre la actividad locomotora, en cuadros recorridos y número de entradas en brazos.

En número de cuadros recorridos los tratamientos del extracto de *P. quadrangularis* que forman grupo homogéneo con el control son PQ-D4, PQ-D2, PQ-D1, PQ-D5. La elevación de actividad motora de PQ-D3 en cuadros recorridos es congruente con el número de entrada a brazos del laberinto elevado.

El tiempo en el centro en el análisis post-hoc Tukey (Tabla 26-3); forma 4 grupos homogéneos. El grupo control forma grupo homogéneo con PQ-D2, PQ-D1, PQ-D5, PQ-D3, PE-D4, PQ-D3, PE-D3, PE-D5, las cuales no demuestran efectos ansiolíticos ya que el grupo control presentó tigmotaxis y además depresión del sistema locomotor en el mismo test. Los tratamientos PE-D1, PE-D2, PE-D5 forman un grupo homogéneo con el blanco. El test t-Student (Tabla 25-3) muestra que existe diferencia significativa entre los extractos de las dos especies de *Pasiflora*

Los tratamientos PE-D1, PE-D2, PE-D5 de extracto liofilizado de *P. edulis* muestran efecto ansiolítico en orden decreciente respectivamente. El tratamiento PE-D1 exhibe actividad ansiolítica en tiempo en el centro, tiempo en cuarto claro y porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

En el extracto liofilizado de *P. edulis* no se forma un grupo homogéneo con el blanco, sin embargo el grupo más próximo muestra los tratamientos PQ-D4, PQ-D3 con efecto ansiolítico. El tratamiento PQ-D4 no exhibe actividad ansiolítica en tiempo en el centro, y porcentaje de tiempo en brazos abiertos, por lo que no es sustentable su efecto en este test; Por el contrario el tratamiento PQ-D3 se correlaciona con los datos de tiempo en el centro, tiempo en cuarto claro y porcentaje de tiempo en brazos abiertos, además de no suprimir la actividad locomotora.

En estudios de *P. quadrangularis* en dosis de 250 mg/Kg cuso efecto estimulante, pero a 1000 y 3000 mg/Kg presentó afecto depresor, esta propiedad farmacológica es característica de los ansiolíticos actuales, que a dosis más altas pueden inducir sedación. A 100 mg/Kg mostró mayor número de cuadros recorridos ( $81 \pm 5$ ), pero no aumentó la actividad locomotora central, resultado similar se observa en la media del tratamiento PQ-D3. (Castro *et al.*, 2007, pp.481-484)

### 3.4.4. Test chimenea

#### 3.4.4.1. Tiempo que tarda en salir

**Tabla 29-3 Tiempo que tarda en salir, minutos**

CONTROL	BLANCO	Passiflora edulis (PE)					Passiflora quadrangularis (PQ)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1,00	0,24	0,22	0,78	1,00	0,78	0,54	0,20	0,50	0,40	0,87	0,44
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
0,00	0,13	0,16	0,31	0,00	0,31	0,28	0,05	0,40	0,10	0,28	0,37

Media y desviación estándar de cinco determinaciones.  $p < 0,05$

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 30-3 Test Anova de tiempo que tarda en salir**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4,645	11	,422	7,182	,000
Dentro de grupos	2,822	48	,059		
Total	7,468	59			

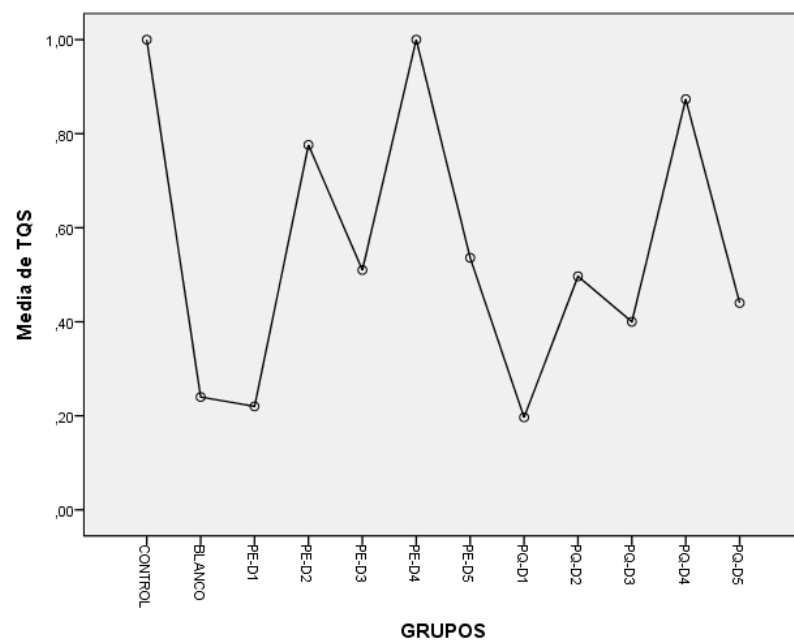
Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 31-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo que tarda en salir**

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
PQ-D1	5	,1967		
PE-D1	5	,2200		
BLANCO	5	,2400		
PQ-D3	5	,4000	,4000	
PQ-D5	5	,4400	,4400	
PQ-D2	5	,4967	,4967	,4967
PE-D3	5	,5100	,5100	,5100

PE-D5	5	,5360	,5360	,5360
PE-D2	5		,7760	,7760
PQ-D4	5		,8733	,8733
Continúa				Continuará
PE-D4	5			1,0000
CONTROL	5			1,0000
Sig.		,549	,116	,073

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017



**Gráfico 6-3** Medias de tiempo que tarda en salir

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

**Tabla 32-3** Test t de Student de tiempo que tarda en salir para comparación de especies de *Passiflora*

TQS	t	Gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	1,303	48	0,199

Realizado por: NIQUINGA, Diego, 2017

Según el test Anova (Tabla 26-3) muestra que existe diferencia significativa en las variables medidas. El análisis post-hoc Tukey (27-3); forma tres grupos homogéneos. El grupo control forma grupo homogéneo con PE-D1, PQ-D4, PE-D4, PE-D5, PE-D3, PQ-D2. Sin embargo, se determina que PE-D1, PQ-D4, PE-D4, PE-D5, PE-D3 al tener una media mayor de 0,5 minutos tienen efecto miorrelajante como lo indica Vogel, 2002; que señala que el animal en condiciones normales debe salir del tubo en máximo de 0,5 minutos. El test t- Student (Tabla 28-3) muestra que existe diferencia significativa entre los extractos de las dos especies de *Pasiflora*

Los tratamientos PE-D1, PE-D4, PE-D5, PE-D3 de extracto liofilizado de *P. edulis* muestran efectos miorrelajantes. Mientras que solo el tratamiento PQ-D4 presenta actividad miorrelajante en el extracto liofilizado de *P. quadrangularis*.

Luego de la observación del comportamiento de los animales después de la administración de los tratamientos de extracto liofilizado de *P. edulis* se realiza el siguiente análisis:

- Dosis 1 (25 mg de extracto liofilizado de *P. edulis* / kg)

El comportamiento de los roedores en esta dosis en cuanto a número de entradas a brazos y cuadros recorridos no afecta la actividad locomotora respecto al blanco. La actividad ansiolítica se destaca en esta dosis, ya que en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en el centro y tiempo en cuarto claro presenta características de comportamiento apropiadas para actuar como ansiolítico. Obteniendo estos resultados se determina que es la dosis más conveniente para su uso como ansiolítico sin obtener efectos negativos en la actividad locomotora.

- Dosis 2 ( 50 mg de extracto liofilizado de *P. edulis* / kg)

El comportamiento de los roedores con esta dosis se caracteriza por una ligera depresión de la actividad locomotora demostrado por el número de entrada a brazos, cuadros recorridos. En cuanto a su actividad ansiolítica no forma grupo homogéneo con el grupo blanco en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos y tiempo en el cuarto claro pero muestra características de comportamiento cercanas a las de las dosis PE-D2. En consecuencia es una dosis que afecta la actividad locomotora con efecto ansiolítico leve.

- Dosis 3 ( 100 mg de extracto liofilizado de *P. edulis* / kg)



El comportamiento de los roedores al administrar esta dosis, en cuanto a la actividad locomotora se ve afectada en el número de cuadros recorridos. El test de chimenea determina que su media es similar al blanco. La actividad ansiolítica se muestra distante al grupo control en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, al igual que tiempo en el centro y tiempo en el cuarto claro. En consecuencia es una dosis que afecta la actividad locomotora y no posee efectos ansiolíticos.

- Dosis 4 ( 200 mg de extracto liofilizado de *P. edulis* / kg)

Los roedores muestran depresión en la actividad locomotora determinado en entradas a brazos presentando similitud con el control, el número de cuadros recorridos en el campo abierto supera al blanco por lo que se genera contradicción en la actividad locomotora. En cuanto a la actividad ansiolítica su porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en el centro, y tiempo en cuarto claro se encuentran formando un grupo homogéneo con el blanco. Se observa que la dosis tiene actividad ansiogénica porque supera o tiene valores similares a los valores de la media del blanco.

- Dosis 5 ( 300 mg de extracto liofilizado de *P. edulis* / kg)

El comportamiento de los animales con la administración de esta dosis presenta depresión de la actividad locomotora debido a que no se encuentra formando el grupo homogéneo con el blanco. Su actividad ansiolítica no se destaca en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, pero se encuentra formando parte del grupo homogéneo con el control en tiempo en el centro, en tiempo en cuarto claro no forma grupo homogéneo con el control pero es la dosis más próxima al control después de la dosis 1 (PE-D1). En consecuencia, aunque esta dosis presente leves indicios de actividad ansiolítica no es una dosis ideal debido a la depresión de la actividad locomotora.

Estudios realizados en extractos acuosos de hojas y pericarpios de *P. edulis*, *P. flavicarpa* y *P. alata* de Brasil mostraron efectos en la actividad locomotora, induciendo a la sedación al incrementar la dosis. (Klein et al, 2013 pp. 706-713).

Un estudio en extracto hidroalcohólico de *Passiflora edulis f. flavicarpa* provenientes de China muestra mayor actividad ansiolítica en tratamientos de 300 – 400 mg/Kg, aunque la actividad ansiolítica es apreciable a partir de dosis desde 100 mg/Kg. (Deng et al., 2010, pp.148-153)

El comportamiento de los ratones derivado de la administración de las cinco dosis de extracto etanólico de *P. edulis* indica que existen efectos ansiolíticos y en la locomoción, en por lo menos

un test realizado. La administración de la dosis de 50 mg/kg provoca cambios ligeros y favorables en la actividad ansiolítica y actividad locomotora. Las dosis de 200 - 300 mg/kg induce sobre los animales de experimentación una depresión significativa sobre la actividad locomotora, una actividad ansiogénica (200 mg/Kg) y con leves indicios ansiolíticos a 300 mg/Kg; estas dosis son comparables al fármaco patrón utilizado en el experimento (clonazepam 0,5 mg/kg); por lo que se prevé que son dosis sedantes. La administración de una dosis de 25 mg/kg no modifica la actividad locomotora, siendo destacable su actividad ansiolítica, por lo que esta dosis exhibe un efecto modulador de la ansiedad sin efectos sobre la actividad motora.

Luego de la observación del comportamiento de los animales después de la administración de los tratamientos de extracto liofilizado de *P. quadrangularis* se realiza el siguiente análisis:

- Dosis 1 (25 mg de extracto liofilizado de *P. quadrangularis* / kg)

El comportamiento de los ratones presenta ligera depresión de la actividad locomotora, que se evidencia en el número de entrada a brazos y con el número de cuadros recorridos. Es una dosis que no se destaca en su actividad ansiolítica ya que solo en el tiempo en el cuarto claro forma grupo homogéneo con el grupo blanco. En consecuencia es una dosis que no actúa de manera significativa en el comportamiento del animal.

- Dosis 2 ( 50 mg de extracto liofilizado de *P. quadrangularis* / kg)

El comportamiento de los ratones con este tratamiento una depresión de la actividad locomotora mayor a la dosis 1. En la actividad ansiolítica es poco notable, solo en el tiempo del cuarto claro forma grupo homogéneo con el grupo control. Se observa que su perfil es similar cuando se administra 25 mg/ kg.

- Dosis 3 ( 100 mg de extracto liofilizado de *P. quadrangularis* / kg)

La actividad locomotora de los animales no se ve comprometida con esta dosis en ninguna de las variables medidas de actividad locomotora, la actividad ansiolítica se destaca en el tiempo en brazos abiertos; sin embargo en tiempo en el centro aunque no forma grupo homogéneo con el control, esta dosis es la más próxima después de la dosis 4; en tiempo en cuarto claro su media es la más similar con el grupo blanco, sin embargo no es suficiente; además en el test de la chimenea no presenta actividad miorrelajante. En consecuencia, esta dosis es la más accionada como

ansiolítica, ya que en tiempo en brazos abiertos, test de mayor influencia para ansiedad, su efecto se destaca.

Estudios realizados muestran una posible actividad ansiolítica de extracto hidroalcohólico de hojas de *P. quadrangularis* en dosis de 100, 250 y 500 mg/Kg. El extracto acuoso presenta actividad menos favorable para actividad ansiolítica. (Castro *et al.*, 2007, pp.481-484)

- Dosis 4 ( 200 mg de extracto liofilizado de *P. quadrangularis* / kg)

La actividad locomotora de los animales con esta dosis se muestra afectada de manera que en número de entrada a brazos y cuadros recorridos forma grupos homogéneos con el control. En el test de chimenea se observa que posee actividad miorrelajante muy elevada en comparación con otras dosis. En cuanto a la actividad ansiolítica forma grupo homogéneo el blanco especialmente en porcentaje de tiempo en brazos abiertos, en el tiempo en el centro se muestra como más cercano al centro pero no forma un grupo homogéneo con él, en el tiempo en el cuarto claro no está en el grupo homogéneo del control. En consecuencia esta dosis deprime la locomoción y no tienen efecto ansiolítico notable.

- Dosis 5 (300 mg de extracto liofilizado de *P. quadrangularis* / kg)

La actividad locomotora se ve afectada aunque en menor intensidad que la dosis 4, forma grupos homogéneos con el grupo control en cuadros recorridos y en número de entrada a brazos sin embargo no presenta actividad miorrelajante. La actividad ansiolítica es notable en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos y tiempo en el tiempo en el centro. La dosis se caracteriza por deprimir la actividad locomotora con efecto ansiolítico leve.

El comportamiento de los ratones derivado de la administración de las cinco dosis de extracto etanólico de *P. quadrangularis* indica que existen efectos ansiolíticos y en la locomoción, en por lo menos un test realizado. La administración de la dosis de 25 – 50 mg/kg presentan cambios ligeros en la actividad ansiolítica y depresión de la actividad locomotora. La administración de una dosis de 100 mg/kg no modifica la actividad locomotora, siendo destacable su actividad ansiolítica especialmente en el test de laberinto elevado, por lo que esta dosis exhibe un efecto modulador de la ansiedad sin efectos sobre la actividad motora. La dosis de 200 mg/kg induce sobre los animales de experimentación una depresión significativa sobre la actividad locomotora, en conjunción con una actividad ansiolítica comparable al fármaco patrón utilizado en el

experimento (clonazepam 0,5 mg/kg); por lo que se determina que es una dosis sedante. La dosis de 300 mg/Kg tiene un perfil de comportamiento similar a 25-50 mg/Kg, pero presenta actividad miorrelajante.

## CONCLUSIONES

- Las hojas de *Passiflora edulis* tuvo el rendimiento de 9,96% y el de *Passiflora quadrangularis* el 12,32%. La cuantificación de flavonoides de *P. edulis* fue de  $81,0 \pm 0,063$  FTEQ /g de extracto liofilizado, en *P. quadrangularis* es de  $81,6 \pm 4,18$  FTEQ/g de extracto liofilizado.
- Cualitativamente mediante la CCF en el extracto liofilizado de *Passiflora edulis* se evidenció la posible presencia de isovitexina, y vitexina-2''-O-glucósico; en *Passiflora quadrangularis* la posible presencia de vitexina, isovitexina-2''-O-ramnósido y/o vitexina-2''-O-ramnósido.
- La dosis efectiva de la actividad ansiolítica del extracto liofilizado de *P. edulis* es de 25 mg/ kg y en *P. quadrangularis* es de 100 mg/ kg, determinada en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en el cuarto claro y tiempo en el centro. En el test de chimenea en el que se determina actividad miorrelajante, no exhibe depresión en la actividad locomotora corroborando en cuadros recorridos y número de entradas a brazos. Por lo que se consideran dosis con efecto ansiolítico que no afectan la actividad motora de los animales de experimentación.
- No se observa diferencias significativas de la actividad ansiolítica entre los extractos liofilizados y dosis de *P. edulis*, *P. quadrangularis*, basada en el test t-Student.

## **RECOMENDACIONES**

- Se podría realizar estudios fitoquímicos y aislamiento de flavonoides tomando en cuenta factores ambientales y ubicación y edad de las plantas, pues según bibliografía la composición flavónica varía de acuerdo a dichos criterios.
- Se recomienda estudios in-vitro con flavonoides aislados para determinar la interacción con los receptores GABA
- Se recomienda realizar estudios toxicológicos que incluyan perfiles hepáticos, fisiopatológicos, biométricos.



## BIBLIOGRAFIA

1. **AKHONDZADEH, S; et al.** "Passionflower in the treatment of generalized anxiety". *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. vol. 26, nº 1. 2001, Theran. pp. 363-367.
2. **AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION.** *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 5ª ed. London-England: Arlington, 2013, pp.213-265
3. **AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION.** *Trastornos de la ansiedad: el papel de la psicoterapia en el tratamiento eficaz*. [en línea]. 2010. . [Consulta: ]. Disponible en: <http://www.apa.org/centrodeapoyo/tratamiento.aspx>
4. **ARISTIL, P.** *Manual de Farmacología Básica y clínica*. 5ª. México: Interamericana, 2012, p.68
5. **ASHTON, Heather.** *Captítulo II. Las Benzodiazepinas: Como actuan en el organismo*. [En línea]. Inglaterra, 2010. [Consulta: Agosto 30, 2016]. Disponible en: <http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>.
6. **AVELLO, M., et.al.** *Efectos de la Aromaterapia en el servicio de medicina del hospital Las Higueras, Talcahuano Chile*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* [en línea], vol. 5, no. 4, pp. 84-91. [Consulta: 8 febrero 2017]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Pola\\_Fernandez/publication/26544717\\_Efectos\\_de\\_la\\_Aromaterapia\\_en\\_el\\_Servicio\\_Medicina\\_del\\_Hospital\\_las\\_Higueras\\_Talcahuano\\_Chile/links/0912f514703c27ec8f000000/Efectos-de-la-Aromaterapia-en-el-Servicio-Medicina-del-Ho](https://www.researchgate.net/profile/Pola_Fernandez/publication/26544717_Efectos_de_la_Aromaterapia_en_el_Servicio_Medicina_del_Hospital_las_Higueras_Talcahuano_Chile/links/0912f514703c27ec8f000000/Efectos-de-la-Aromaterapia-en-el-Servicio-Medicina-del-Ho).
7. **BARRETO, Mara.** *Farmacología de benzodiazepinas, hipnóticos y ansiolíticos no benzodiazepínicos, estimulantes, etanol y neuroactivadores cognitivos*.pp. 1-14 [pdf] 2003. [Consulta: Agosto 30, 2016]. Disponible en: <https://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/04/farmacologia-delas-benzodiazepinas-ansioliticos-hipnoticos-no-benzodiazepinicos-psicoestimulantes-y-neuroactivadores-cognitivos.pdf>
8. **BECERRA-GARCÍA, A. M; et al.** Ansiedad y miedo: su valor adaptativo y maladaptaciones. *Revista Latinoamericana de psicología*, vol 39, nº1 (2007), pp. 75-81.

9. **BOUKHRIS, Maher; et al.** “Chemical Composition and Biological Activities of Polar Extracts and Essential Oil of Rose-scented Geranium, *Pelargonium graveolens*” *Phytotherapy Research.* vol. 27 n° 8 . 2013. pp. 1206-1213
  
10. **CÁRDENAS, J. y NAVARRO, J. F.** “Modelos animales de ansiedad incondicionada”. *Psiquiatría Biológica*, vol. 9, n° 1 (2002) pp. 18-31.
  
11. **CARRIÓN, Ana & GARCÍA Cándida** . “Preparación de Extractos Vegetales:Determinación de Eficiencia de Metódica”. (TESIS) (Pregrado). [En línea]. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Cuenca -Ecuador. 2010. pp. 39-41. [Consulta: Octubre 2016, 22.] Disponible en: <http://cdjbv.ucuenca.edu.ec/ebooks/tq1005.pdf>.
  
12. **CARVAJAL-DE PABÓN, Luz; et al.** “Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) y su composición Fitoquímica”. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. [En línea], 2014, Brasil 12 (2). pp. 185-196. [Consulta: Septiembre 30, 2016.] Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v12n2/v12n2a21.pdf>.
  
13. **CASERAS, X.,** “Comprender el Trastorno de Ansiedad”. Barcelona-España: Amat, 2009. [Consulta: 27 enero 2017]. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books?id=5RSYLZy8Z1kC&pg=PP1&lpg=PP1&dq=Comprender+el+trastorno+de+ansiedad&source=bl&ots=YOFM5Wc18m&sig=bZlJo4YXeW3IabJevA4vp72JBNw&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj2tszj2brSAhVX-mMKHQ\\_fCZMQ6AEIJDAC#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=5RSYLZy8Z1kC&pg=PP1&lpg=PP1&dq=Comprender+el+trastorno+de+ansiedad&source=bl&ots=YOFM5Wc18m&sig=bZlJo4YXeW3IabJevA4vp72JBNw&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj2tszj2brSAhVX-mMKHQ_fCZMQ6AEIJDAC#v=onepage&q&f=false)
  
14. **CASTRO, P.C.F. De, HOSHINO, A., CAMPOS, J. y RIELI, F.** “Possible Anxiolytic Effect of Two Extracts of *Passiflora quadrangularis* L . in Experimental Models”. *PHYTOTHERAPY RESEARCH*, vol. 484, (2007), pp. 481-484.
  
15. **CAZORLA, M.** 2013. “Actividad fotoprotectora de la maracuyá (*passiflora edulis*), *ishpingo* (*ocotea quixos*) en fototipos iii (*homo sapiens*) para elaboración de un protector solar”. (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2013. [Consulta: 25 enero 2017]. Disponible en: <http://dspace.espacech.edu.ec/bitstream/123456789/2556/1/56T00323.pdf>.
  
16. **CHÁVEZ-LEÓN, Enrique; et al.** “Los antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS, ISR-5HT)”. *Salud Mental*. [En línea], 2008, México . 31 (4), pp. 307-319. [Consulta: Agosto 30, 2016.] Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/salmen/sam-2008/sam084h.pdf>.
  
17. **COLETA MIGUEL, BATISTA MARIA, CAMPOS MARÍA, CARVALHO RUI, C.M.** “Neuropharmacological Evaluation of the Putative Anxiolytic Effects of *Passiflora edulis* Sims, its Sub-fractions and Flavonoid Constituents”. *PYTOTHERAPY RESEARCH*, vol. 20, (2006), pp. 1067-1073



18. **DE-PARIS, F., et al.** “Pharmacochemical Study of Aqueous Extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims”. *Acta Farm. Bonaerense* [en línea], 2002, vol. 21, n°. 1, pp. 5-8. [Consulta: 31 enero 2017]. ISSN 0326-2383. Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/21/1/LAJOP\\_21\\_1\\_1\\_1\\_2209A83831.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/21/1/LAJOP_21_1_1_1_2209A83831.pdf).
19. **DENG, J., et al** “Anxiolytic and sedative activities of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. Journal of Ethnopharmacology”, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 128, no. 1 (2010), pp. 148-153.
20. **DÍAZ, Gabriela; et al.** “Uso de Modelos Animales en el Estudio de Plantas *con Propiedades.. Medicinales*” *Sociedad de Farmacología de Chile*, 2012, Chile 5(2), p. 20. ISSN. 0718-882X. [Consulta: Agosto 30, 2016] Disponible en: [http://www.sofarchi.cl/medios/revistas/fitofarmacologia/Diaz\\_Veliz\\_G\\_y\\_Mora\\_S\\_Revista\\_de\\_Farmacologia\\_de\\_Chile\\_2012\\_V\\_5\\_%20N2.pdf](http://www.sofarchi.cl/medios/revistas/fitofarmacologia/Diaz_Veliz_G_y_Mora_S_Revista_de_Farmacologia_de_Chile_2012_V_5_%20N2.pdf)
21. **DÍEZ-QUEVEDO, C., RANGIL, T. y SÁNCHEZ PLANELL, L.,** “Agorafobia”. *Medicina Clínica* [en línea], vol. 119, no. 2 (2002), pp. 60-65. [Consulta: 25 enero 2017]. ISSN 00257753. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025775302733149>.
22. **ECUADOR MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA.** *Prioridades de Investigación en Salud 2013-2017.* [pdf] 2016. pp. 3-24 [Consulta: Septiembre 30, 2016.] Disponible en: [https://www.ucuenca.edu.ec/images/facu\\_medicina/Investigacion/prioridades\\_investigacion\\_salud2013-2017%20\(1\).pdf](https://www.ucuenca.edu.ec/images/facu_medicina/Investigacion/prioridades_investigacion_salud2013-2017%20(1).pdf).
23. **ECUADOR MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA,** *Salud Mental.* [en línea]. 2017 [Consulta: 31 enero 2017]. Disponible en: <http://www.salud.gob.ec/salud-mental/>.
24. **ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD MENTAL.** *Trastornos de Ansiedad* [pdf] 2009. pp. 5-27. [Consulta: Agosto 29, 2016.]. Disponible en: [http://ipsi.uprrp.edu/opp/pdf/materiales/ansiedad\\_esp.pdf](http://ipsi.uprrp.edu/opp/pdf/materiales/ansiedad_esp.pdf).
25. **EBION NV,** “*ELB 139*”. [en línea]. 2007. [Consulta: 27 enero 2017]. Disponible en: <http://adisinsight.springer.com/drugs/800020261>.
26. **EU CLINICAL TRIALS REGISTER, E.M.A.,** 2006. “*ELB139 Proof of concept study in panic disorder*”. [en línea]. 2006. [Consulta: 27 enero 2017]. Disponible en: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2005-005708-17/DE>.

27. **EXPÓSITO, María.** “Estudio farmacológico de una nueva serie de análogos tiofénicos de la tianeptina”. (TESIS) (Doctoral) [pdf]. Universidad de La Laguna, Tenerife, España, 1995. pp 127-132
28. **FLÓREZ, J.,** *Farmacología Humana.* 6<sup>a</sup> ed. Barcelona-España: MASSON, 2014 pp.215-232
29. **GARCÍA, D.V., GÓMEZ, C.D. y PUENTE, N.M.,** “Terapéutica en APS Uso de plantas medicinales en el tratamiento de la ansiedad y la depresión”. *FMC. Formación médica continuada en atención primaria* [en línea], vol. 9, no. 1(2002), pp. 50-56. ISSN 1134-2072. [Consulta: 27 enero 2017]. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S1134-2072\(02\)75530-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1134-2072(02)75530-8)
30. **GOODMAN & GILMAN,** 2012. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.* 12<sup>a</sup> ed. Mexico: Laurence Brunton, 2012, pp.89-95
31. **GOULD, T.D., DAO, D.T. y KOVACSICS, C.E.,** 2009. “*Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice*” [en línea]. Totowa, NJ: Humana Press. Neuromethods, 2009. [Consulta: 27 enero 2017]. Disponible en: [http://www.springerprotocols.com/Abstract/doi/10.1007/978-1-60761-303-9\\_1](http://www.springerprotocols.com/Abstract/doi/10.1007/978-1-60761-303-9_1).
32. **HEINZE MARTIN, Gerhard; & CAMACHO SEGURA, Pedro.** “*Guía clínica para el manejo de la ansiedad*” [pdf]. Mexico: Shoshana Berenzon, 2010. pp. 7-8. [Consulta: Agosto 30, 2016.]. Disponible en: [http://www.inprf.gob.mx/opencms/export/sites/INPRFM/psicosociales/archivos/guias/manejo\\_ansiedad.pdf](http://www.inprf.gob.mx/opencms/export/sites/INPRFM/psicosociales/archivos/guias/manejo_ansiedad.pdf)
33. **KHON, Roberth..** *La Brecha de Tratamiento en la Región de Las América.* [pdf] 2014. pp.7-8 [Consulta: Agosto 30, 2016.].  
[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=9408:la-brecha-de-tratamiento-en-la-region-de-las-americas&Itemid=40615&lang=fr](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=9408:la-brecha-de-tratamiento-en-la-region-de-las-americas&Itemid=40615&lang=fr).
34. **KHON, Roberth..** *La Brecha de Tratamiento en la Región de Las América.* [pdf] 2014. pp.7-8 [Consulta: Agosto 30, 2016.].  
[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=9408:la-brecha-de-tratamiento-en-la-region-de-las-americas&Itemid=40615&lang=fr](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=9408:la-brecha-de-tratamiento-en-la-region-de-las-americas&Itemid=40615&lang=fr).
35. **KLEIN, Nadine; et al.** “Assessment of Sedative Effects of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* and *Passiflora alata* Extracts in Mice, Measured by Telemetry”. *Phytotherapy Research* [en línea], 2013, Estados Unidos de América 28(5) pp. 706-713.

36. **KOMADA, M., TAKAO, K. y MIYAKAWA, T.**, “Elevated plus maze for mice”. *Journal of visualized experiments : JoVE*, 2008, nº 22. pp. 1-4
37. **LANGEN, Barbara; et al.** “Characterization in Rats of the Anxiolytic Potential of ELB139 [1-(4-Chlorophenyl)-4-piperidin-1-yl-1,5-dihydro-imidazol-2-on], a New Agonist at the Benzodiazepine Binding Site of the GABAA Receptor”. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics* [En línea], 2005, Alemania, 314 (1), pp. 718-724 [Consulta: Agosto 12, 2016.], ISBN: 84681/3041215. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/7876839\\_Characterization\\_in\\_Rats\\_of\\_the\\_Anxiolytic\\_Potential\\_of\\_ELB139\\_1-4-Chlorophenyl-4-piperidin-1-yl-15-dihydro-imidazol-2-on\\_a\\_New\\_Agonist\\_at\\_the\\_Benzodiazepine\\_Binding\\_Site\\_of\\_the\\_GABAA\\_Receptor](https://www.researchgate.net/publication/7876839_Characterization_in_Rats_of_the_Anxiolytic_Potential_of_ELB139_1-4-Chlorophenyl-4-piperidin-1-yl-15-dihydro-imidazol-2-on_a_New_Agonist_at_the_Benzodiazepine_Binding_Site_of_the_GABAA_Receptor)
38. **LISTER, R.G.**, 1990. “Ethologically-based animal models of anxiety disorders”. *Pharmacology & therapeutics* [en línea], 1990, vol. 46 (no. 3), pp. 321-340. [Consulta: 10 enero 2017]. ISSN 01637258. Disponible en: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=2188266&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/uuid/72DB6E3E-D169-4AEE-AF8A-AE67A720471F>.
39. **LITVIN, Yoav; et al.** Unconditioned models of fear and anxiety. *Elsevier*, 17, 2.5 (2008). pp. 124-324
40. **MELOROSE, J., PERROY, R., CAREAS, S. y L, O.** *Edible medicinal and non-mediinal plants*. vol 4. New york: Springer, 2005, pp. 147-186
41. **MUÑOZ GARCÉS, D.I.**, Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante IN VITRO de hojas y flores de *Passiflora quadrangularis*.(tesis)(pregrado) [en línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016.pp. 46-58. [Consulta: 10 enero 2017]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/handle/123456789/5017>.
42. **NARCONON,.** *Benzodiazepinas*. [en línea]. 2017. [Consulta: Noviembre 24, 2016.] Disponible en: <http://www.narconon.org/es/informacion-drogas/farmacos-prescripcion/benzodiazepinas.html>.
43. **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** *Tratamiento farmacológico de los trastornos mentales en la atención primaria de salud*. [pdf ]. Estados Unidos de América: 2010. pp. 10-15. [Consulta: Septiembre 24, 2016.] Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44095/1/9789241547697\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44095/1/9789241547697_eng.pdf)
44. **ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD,** . *CIE-10 Versión: 2016*. [en línea]. Ginebra: 2016. [Consulta: 1 febrero 2017]. Disponible en: <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en>.

- 45. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD**, *Salud mental. WHO* [en línea]. Ginebra: 2016. [Consulta: 31 enero 2017]. Disponible en: [http://www.who.int/topics/mental\\_health/es/](http://www.who.int/topics/mental_health/es/).
- 46. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD**, 2016. *Specific (isolated) phobias. WHO* [en línea]. [Consulta: 3 febrero 2017]. Disponible en: <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en#/F40.2>.
- 47. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD**. *Centro de Prensa*. [pdf ] Ginebra: 2016 [En línea] [Consulta: Septiembre 28, 2016.]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/es/>.
- 48. PAMPLONA, Jorge**. Preparación de Plantas. *Salud por las Plantas Medicinales*. 1, 2006, Madrid : Safeliz, p.78 ISBN-10: 84- 7208-106-0.
- 49. PAREKH, R.**, “*Anxiety Disorders*”. [en línea]. American Psychiatric Association 2017, [Consulta: 31 enero 2017]. Disponible en: [https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?\\_ga=1.36369696.1435825802.1485902611](https://psychiatry.org/patients-families/anxiety-disorders/what-are-anxiety-disorders?_ga=1.36369696.1435825802.1485902611).
- 50. PELISSOLO, A.**, “Trastornos de ansiedad y neuróticos”. *EMC - Tratado de Medicina* [en línea], 2012, vol. 16 (no. 4). pp. 1-10. [Consulta: 21 enero 2017], ISSN 16365410. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1636541012633972>.
- 51. PEREIRA, C.A.M.; et al**, “A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method”. *Phytochemical Analysis*, vol. 15, no. 4 (2004), pp. 241-248.
- 52. PETRY, R; et al**. “Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves”. *Phytotherapy Research*, vol. 15, n°. 2 (2001), (Brazil) pp. 162-164.
- 53. PICHOT, P.**, 1999. “The semantics of Anxiety”. [en línea], 1999, vol. 14 (n°. 1), pp. S22-S28. [Consulta: 11 enero 2017]ISSN 16133838. DOI 10.1515/jlse.1987.16.2.71. Disponible en: <http://shankerblog.org/?p=10325>.

- 54. POLANCO, Andrea & VARGAS-IRWIN, Crisina.** “Modelos Animales: Una Revisión desde Tres Pruebas Utilizadas en Ansiedad”. *Revista scielo.org*, vol. 18, nº 2011, Colombia pp. 142-145
- 55. PSICOEDUCACION.ORG**, [sin fecha]. *Neurotransmisores en las respuestas de ansiedad*. [en línea]. 2017, . [Consulta: 21 enero 2017], Disponible en: <http://psicoeducacion.org/trastornos-de-ansiedad/angustia-sintoma-y-cultura/neurotransmisores-en-las-respuestas-de-ansiedad/>.
- 56. RAFFA, R., RAWLS, S. y BEYZAROV, E.,** *Netter Farmacología ilustrada*. Barcelona-España: MASSON, 2008, pp. 66
- 57. RAMOS, A.** “Animal models of anxiety: do I need multiple tests?”. *Trends in pharmacological sciences*, vol 29, nº 10 (2008), pp.493-498
- 58. RANG, H.P. y DALE, M.M.,** 2012. *Farmacología: Rang y Dale*. 7ª ed. Barcelona, España: , 2012, pp 456-533
- 59. REA, Elizabeth** “Evaluación del Efecto Ansiolítico del Extracto Hidroalcohólico de Flor de Badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*)”. (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2014.pp. 108-109
- 60. REJÓN-ORANTES, Jose; et al.** “Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas”. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal redalyc.org. 2011 Colombia 52, pp. 80-83 [Consulta: Septiembre 30, 2016.] ISSN 0041-9095. Disponible en: <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/vnimedica/article/view/16039>
- 61. REYES-TICAS, Americo; et al.** *Trastornos de Ansiedad Guía Práctica Para Diagnóstico y Tratamiento*. [pdf] Madrid , 2016. pp. 9-32 [Consulta: Septiembre 29, 2016.] Disponible en: <http://www.bvs.hn/Honduras/pdf/TrastornoAnsiedad.pdf>
- 62. ROBAYO, C.,** 2013. *DETERMINACIÓN DEL COMPLEMENTO CROMOSÓMICO DE BADEA Passiflora quadrangularis* (tesis) (grado) [en línea]. S.l.: UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA, FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS, BIOLOGÍA APLICADA. Cajicá (Granada). 2013, pp. 15-25 [Consulta: 18 mayo 2016]. Disponible en: <http://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/10654/10430/1/RobayoMolinaCamilaAndrea2013.pdf>.

- 63. RODGERS, R. & DALVI, A.** “Anxiety, Defence and the Elevated Plus-maze”. Elsevier Science Ltd. vol. 21, n°6. 2002, Madrid, pp. 806
- 64. ROJAS, J. y TOMÁS, G.,** 2010. “Tamizaje Fitoquímico Y Actividad Antioxidante in Vitro De *Passiflora Edulis Sims* (Maracuyá)”. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química* [en línea], 2010, vol. 13 (nº. 1), pp. 23-29. ISSN 1609-7599. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4544/3627>.
- 65. RUBIO, Gabriel.** *El Tratamiento De Los Trastornos De Ansiedad A Lo Largo De La Historia. Congreso Virtual de Psiquiatría.* [pdf]. España: 2010. [Consulta: Septiembre 30, 2016.]  
Disponible en: [http://www.psiquiatria.com/congreso\\_old/mesas/mesa34/conferencias/34\\_ci\\_e.htm](http://www.psiquiatria.com/congreso_old/mesas/mesa34/conferencias/34_ci_e.htm)
- 66. RUIZ, Ana; et al.** “Consumo de fitofármacos y apifármacos en el Hospital Docente Clínicoquirúrgico “Gral. Calixto García Íñiguez” *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol. 10, n°2 (2005), Cuba. p. 8
- 67. SAKI, K., BAHMANI, M. y RAFIEIAN-KOPAEI, M.,** 2014. “The effect of most important medicinal plants on two important psychiatric disorders (anxiety and depression)-a review”. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* [en línea], 2014, vol. 7, pp. S34-S42. [Consulta: 8 febrero 2017]. ISSN 19957645. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764514602017>.
- 68. SALAZAR, Michel; et al.** *Tratado de Psicofarmacología.* [en línea]. Buenos Aires-Argentina: Erguíluz I Uruchurtu, 2010, pp.128-130. [Consulta: Agosto 02, 2016.]  
Disponible en: [https://books.google.com.ec/books/about/Tratado\\_de\\_Psicofarmacolog%C3%ADa.html?id=ugBvQChj4JAC](https://books.google.com.ec/books/about/Tratado_de_Psicofarmacolog%C3%ADa.html?id=ugBvQChj4JAC)
- 69. SANABRIA, Walter.** *Utilización de Plantas Medicinales en la Práctica Psiquiátrica.* [En línea] España: 2012. pp 33-35. [Consulta: Agosto 02, 2016.]. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/bibliotecas/bhp/cupula/v23n1-2/art3.pdf>.
- 70. SÁNCHEZ, L.,** Estudio Etnobotánico , Macro Y Micro- Morfológico De Plantas Del Género *Passiflora* Utilizadas Como Sedantes En La Provincia De Chimborazo. (Tesis) (pregrado) [En línea]. ). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016.pp. 9. [Consulta: 27 enero 2017] Disponible en: <http://dspace.epoch.edu.ec/bitstream/123456789/4868/1/56T00612UDCTFC.pdf>.

71. **SARAVIA GÓMEZ, A.; et al.** 1998. “Actividad Farmacológica de Metabolitos Secundarios de Plantas Medicinales Guatemaltecas e Invertebrados Marinos de Arrecifes de los Litorales Atlántico y Pacífico del País”. *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología –CONCYT*, (1998), (Guatemala) pp. 1-56
72. **SARUDIANSKY, Mercedes.** “Ansiedad, angustia y neurosis. Antecedentes conceptuales e históricos”. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal redalyc.org*, [en línea], 2013, (México DF- México) 21(1), pp. 1405-0943. [Consulta: Agosto 02, 2016.] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=133930525003>
73. **SOTO-VÁSQUEZ, M.R. y ALVARADO-GARCÍA, P.A.A.**, “Aromatherapy with two essential oils from Satureja genre and mindfulness meditation to reduce anxiety in humans”. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, vol. 7, n° 1 (2017), pp. 121-125.
74. **STEIN, J., HOLLANDER, E. y ROTHBAUM, B.**, *Textbook of Anxiety Disorders*. 2ª ed. Washington, DC London, England: American Psychiatric Publishing, Inc, 2010, pp.147-158
75. **TABORDA, Natalia.** “Fruto de la pasión, Maracuyá” [En línea] (TESIS) (pregrado) [pdf] Instituto Superior Particular Incorporado, Gestión Gastronómica, Santa Fe, Argentina 2013. [Consulta: Agosto 02, 2016.] p. 27. Disponible en: <http://www.repotur.gov.ar/bitstream/handle/123456789/4461/EI%20maracuy%C3%A1%20Tesis.pdf?sequence=2>.
76. **TELEGUARIO, C.**, 2008. Caracterización Y Cuantificación De Flavonoides, Sapogeninas Esteroidales En Extractos De Tres Plantas Mesoamericanas Lippia Graveolens (Orégano), Passiflora Edulis (Maracuyá) Y Smilax Domingensis (Zarzaparrilla). (TESIS) (pregrado) [pdf]. UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA. Guatemala. 2008. pp. 31-43 [Consulta: 25 enero 2017]. Disponible en: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2682.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2682.pdf).
77. **THOMPSON, Donald; et al.** “Imidazenil, a new anxiolytic and anticonvulsant drug, attenuates a benzodiazepine-induced cognition deficit in monkeys” *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. [En línea], 1995, Estados Unidos de América 273 (3), pp. 1037-1312. [Consulta: Agosto 10, 2016.] ISBN: 273:1312. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7791102>
78. **TONINA, Adriana** Descripción de un caso de Trastorno de Pánico con Agorafobia, desde el modelo de tratamiento de base cognitivo-conductual. [En línea] (TESIS) (pregrado) Universidad de Palermo. Buenos Aires, Argentina. 2010. pp. 48-50. [Consulta: Agosto 01, 2016.] Disponible en: <http://dspace.palermo.edu/dspace/bitstream/handle/10226/793/Tonina%20Sen%C3%A9s,%20Adriana.pdf?sequence=1>

- 79. VÁSQUEZ, M.R.S., GARCÍA, P.A.A.A. y CERQUÍN, L.E.R.**, 2016. “Efecto del aceite esencial de *Melissa officinalis* L. «toronjil» y meditación mindfulness en niveles de ansiedad estado y ansiedad”. *In Crescendo*, vol. 7, n° 1 (2016), pp. 21-30.
- 80. VOGEL, Gerhard.** *Drug Discovery and evaluation*. 2ª ed. Alemania: Springer, 2002 pp. 396
- 81. VOGEL, Gerhard.**, 2008. *Drug Discovery and Evaluatio*. 3ª ed. Alemania: Springer Science, 2008. pp. 579-626
- 82. WAGNER, Hilbebert & BLADT, Sabine.** *Plant Drug Analysis*. 2ª ed. Munich. Springer.1996. pp 330-331
- 83. ZUCOLOTTO, S.M; et al.** 2009. “Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory C-glycosylflavones from *passiflora edulis*”.*Planta Medica*, vol. 75, n° 11 (2009), pp. 1221-1226.
- 84. ZUCOLOTTO, S.M.; et al.** “Analysis of C -glycosyl Flavonoids from South American *Passiflora* Species by HPLC-DAD and HPLC-MS”. *Wiley Online Library*, (2012). February 2011, pp. 232-239.



## ANEXOS

### Anexo A. Instalaciones Bioterio ESPOCH



Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

### Anexo B. Lecho de animales de experimentación



Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

### Anexo C. Sonicación de extractos



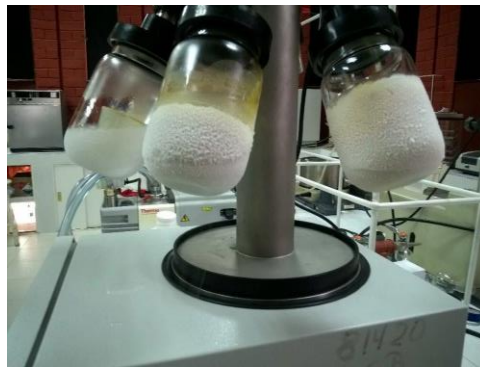
Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

#### **Anexo D. Eliminación de solvente**



**Fuente:** NIQUINGA, Diego, 2017

#### **Anexo E. Liofilización de extractos**



**Fuente:** NIQUINGA, Diego, 2017

#### **Anexo F. Extractos liofilizados**



**Fuente:** NIQUINGA, Diego, 2017

## Anexo G. Espectrofotómetro



Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

## Anexo H. Cromatografía de Passiflora, observado UV



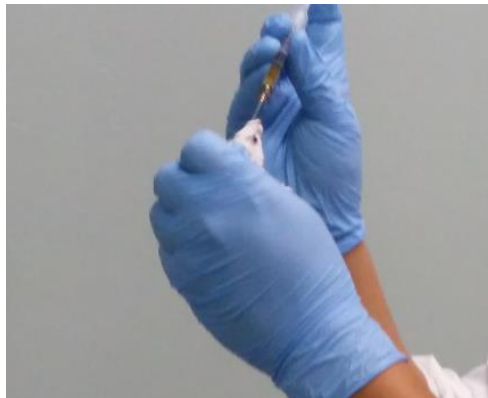
Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

## Anexo I. Extracto liofilizado de *P. edulis* reconstituido en propilenglicol 15%



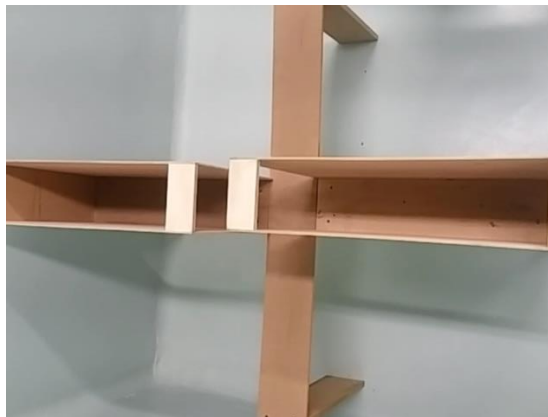
Fuente: NIQUINGA, Diego, 2017

### **Anexo J. Administración del extracto liofilizado a ratones**



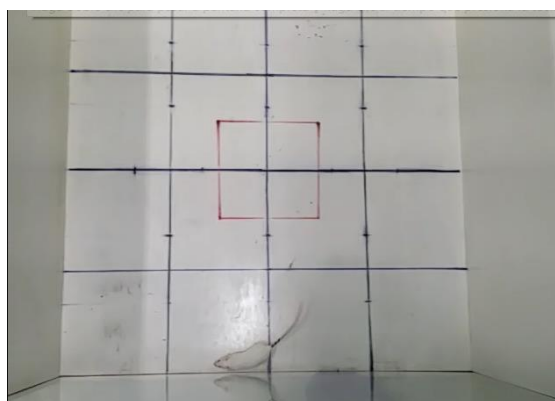
**Fuente:** NIQUINGA, Diego, 2017

### **Anexo K. Laberinto Elevado**



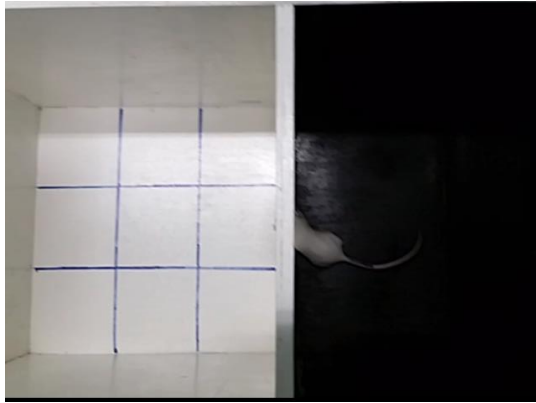
**Fuente:** NIQUINGA, Diego, 2017

### **Anexo L. Campo Abierto**



**Fuente:** NIQUINGA, Diego, 2017

### **Anexo M. Cuarto Claro/Oscuro**



**Fuente:** NIQUINGA, Diego, 2017

### **Anexo N. Chimenea**



**Fuente:** NIQUINGA, Diego, 2017