

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS,
BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS**

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DE LA RAÍZ DE
Centranthus ruber (valeriana roja) EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN. AREQUIPA, 2015”**

**Tesis presentada por las Bachilleres:
CCAHUANA NUÑONCCA, Nuria.
LLAMOCA MALDONADO, Leyla Karla.**

**Para obtener el Título Profesional de:
QUÍMICO FARMACÉUTICO.**

**Asesora:
Dra. VELASCO LOZANO, Gaby J.**

**AREQUIPA – PERÚ
2015**

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darnos la vida y salud. Por brindarnos la oportunidad de lograr nuestra meta.

A la *Dra. Gaby Velasco Lozano* por su paciencia, asesoramiento y su apoyo durante el proceso de la realización de la Tesis.

A los miembros del jurado *Dr. Cesar Cáceres Zarate, Mgter. Angélica Corzo Salas y Q.F. Mocita De La Fuente Torres*, por sus exigencias en la redacción y revisión de este trabajo, muchas gracias.

A todas aquellas personas que de una u otra forma nos brindaron su apoyo durante la realización de esta Investigación.

Leyla y Nuria

DEDICATORIA

Dedico esta tesis al señor, a mis angelitos que me cuidan y me protegen.

A mis padres *Edgar e Isidora* quienes me dieron vida, educación, apoyo incondicional y consejos.

Llamoca Maldonado, Leyla Karla.

A Dios por ser mi guía. A mis padres *Francisco y Dina* por darme la vida, por su esfuerzo, sacrificio y ser siempre mi apoyo incondicional.

A mis hermanas *Elva y Yanet* por la confianza y compañía que me brindan en cada momento.

A mis familiares y todas aquellas personas que me brindaron su apoyo durante esta etapa.

Ccahuana Nuñoncca, Nuria.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

HIPÓTESIS

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

10

1.1.	CENTRANTHUS RUBER (VALERIANA ROJA)	
1.1.1.	NOMBRES COMUNES	
1.1.2.	UBICACIÓN TAXONÓMICA	
1.1.3.	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	11
1.1.4.	PARTE UTILIZADA	
1.1.5.	HÁBITAT	12
1.1.6.	COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA.	
1.1.7.	RAMS	
1.1.8.	CONTRAINDICACIONES	
1.1.9.	USOS ETNOMEDICINALES	
1.1.10.	CULTIVO	
1.2.	ANSIEDAD	13
1.2.1.	CONCEPTO	
1.2.2.	FISIOPATOLOGÍA	14
1.3.	FÁRMACOS ANSIOLÍTICOS	
1.3.1.	CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ANSIOLÍTICOS	15
1.3.1.1	BENZODIAZEPINAS	16

1.3.1.2	FÁRMACOS AGONISTAS PARCIALES DE RECEPTORES DE SEROTONINA	23
1.3.1.3	FÁRMACOS QUE PRODUCEN BLOQUEOS DE ALGÚN COMPONENTE VEGETATIVO	25
CAPÍTULO II		
MATERIALES Y MÉTODOS		26
2.1.	UBICACIÓN ESPACIAL	
2.2.	UBICACIÓN TEMPORAL	27
2.3.	DISEÑO EXPERIMENTAL	
2.4.	MATERIALES	
2.4.1.	MATERIAL DE ESTUDIO	
2.4.2.	MATERIAL DE LABORATORIO	
2.4.2.1	MATERIAL DE VIDRIO	
2.4.2.2	EQUIPOS	28
2.4.2.3	REACTIVOS	
2.4.2.4	MATERIALES PARA LOS MÉTODOS DE EXPERIMENTACIÓN	29
2.5.	MÉTODOS	31
2.5.1.	PROCEDIMIENTOS PARA LA OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS. .	
2.5.1.1	RECOLECCIÓN Y SELECCIÓN	
2.5.1.2	ESTABILIZACIÓN	
2.5.1.3	DESECACIÓN	32
2.5.1.4	TRITURACIÓN	
2.5.1.5	EXTRACCIÓN	33
2.5.2.	EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO	34
2.5.2.1	DISTRIBUCIÓN DE LA UNIDAD ANIMAL	
2.5.2.2	MÉTODOS	35
2.5.3.	MÉTODOS ESTADÍSTICOS	41
CAPÍTULO III		
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		42
3.1.	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS	43
3.2.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR	45
3.2.1.	DETERMINACIÓN DE TERPENOS	
3.2.2.	DETERMINACIÓN DE TANINOS.	46
3.3.	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD NEUROFARMACOLÓGICA	47
3.3.1.	EVALUACIÓN PILOTO	
3.3.1.1	DISTRIBUCIÓN DE LA UNIDAD ANIMAL Y DOSIFICACIÓN. .	

3.3.1.2	PRUEBA PILOTO SEGÚN MÉTODO DE LABERINTO EN CRUZ ALZADA..	49
3.3.2.	EVALUACIÓN FINAL	52
3.3.2.1	DISTRIBUCIÓN DE LA UNIDAD ANIMAL Y DOSIFICACIÓN. .	55
3.3.2.2	MÉTODO DE LABERINTO EN CRUZ ALZADA	61
3.3.2.3	MÉTODO DE NADO FORZADO	68
3.3.2.4	MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	83
	CONCLUSIONES	85
	SUGERENCIAS	86
	BIBLIOGRAFÍA	90
	ANEXOS	90



ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1: RAÍZ DE <i>CENTRANTHUS RUBER</i> (VALERIANA ROJA)	11
FIGURA N° 2: ESTRUCTURA QUÍMICA DE LAS BENZODIACEPINAS	16
FIGURA N° 3: MECANISMO DE ACCIÓN DEL NEUROTRANSMISOR GABA Y DE LAS BENZODIACEPINAS EN LAS CÉLULAS DEL SISTEMA NERVIOSO	18
FIGURA N° 4: RECOLECCIÓN DE LA PLANTA DE <i>CENTRANTHUS RUBER</i> (VALERIANA ROJA)	31
FIGURA N° 5: DESECACIÓN DE LAS RAÍCES DE <i>CENTRANTHUS RUBER</i> (VALERIANA ROJA)	32
FIGURA N° 6: TRITURACIÓN DE LAS RAÍCES DE <i>CENTRANTHUS RUBER</i> (VALERIANA ROJA)	33
FIGURA N° 7: EXTRACCIÓN DE SOXHLET	
FIGURA N° 8: EQUIPO DEL MÉTODO DE LABERINTO EN CRUZ ALZADA	37
FIGURA N° 9: EQUIPO DEL MÉTODO DE NADO FORZADO	38
FIGURA N° 10: EQUIPO DEL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	40
FIGURA N° 11: DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS.	43
FIGURA N° 12: EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>CENTRANTHUS RUBER</i> (VALERIANA ROJA)	44
FIGURA N° 13: INVESTIGACIÓN POR CCF DE TERPENOS EN LA RAÍZ DE <i>CENTRANTHUS RUBER</i> (VALERIANA ROJA)	45
FIGURA N° 14: INVESTIGACIÓN POR CCF DE TANINOS EN LA RAÍZ DE <i>CENTRANTHUS RUBER</i> (VALERIANA ROJA)	46
FIGURA N° 15: DOSIFICACIÓN DEL EXTRACTO DE <i>CENTRANTHUS RUBER</i> (VALERIANA ROJA) EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	53
FIGURA N° 16: EVALUACIÓN DEL PROMEDIO DEL TIEMPO DE PERMANENCIA EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS	57
FIGURA N° 17: EVALUACIÓN DEL PROMEDIO DE LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS	59

FIGURA N° 18: EVALUACIÓN DEL PROMEDIO DEL TIEMPO DE LATENCIA PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO	62
FIGURA N° 19: EVALUACIÓN DEL PROMEDIO DE INMOVILIDAD DEL MÉTODO NADO FORZADO	65
FIGURA N° 20: EVALUACIÓN DE INMOVILIDAD DEL MÉTODO NADO FORZADO	66
FIGURA N° 21: EVALUACIÓN DE DEAMBULACIÓN EXTERNA PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	69
FIGURA N° 22: EVALUACIÓN DE LA FRECUENCIA DE POSICIÓN ERGUIDA PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	72
FIGURA N° 23: EVALUACIÓN DE NÚMERO DE INTROMISIONES EN LOS AGUJEROS PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	74
FIGURA N° 24: EVALUACIÓN DE LA TASA DE DEFECACIÓN DEL MÉTODO CAMPO ABIERTO	77
FIGURA N° 25: EVALUACIÓN DE LA TASA DE ASEO DEL MÉTODO CAMPO ABIERTO	80



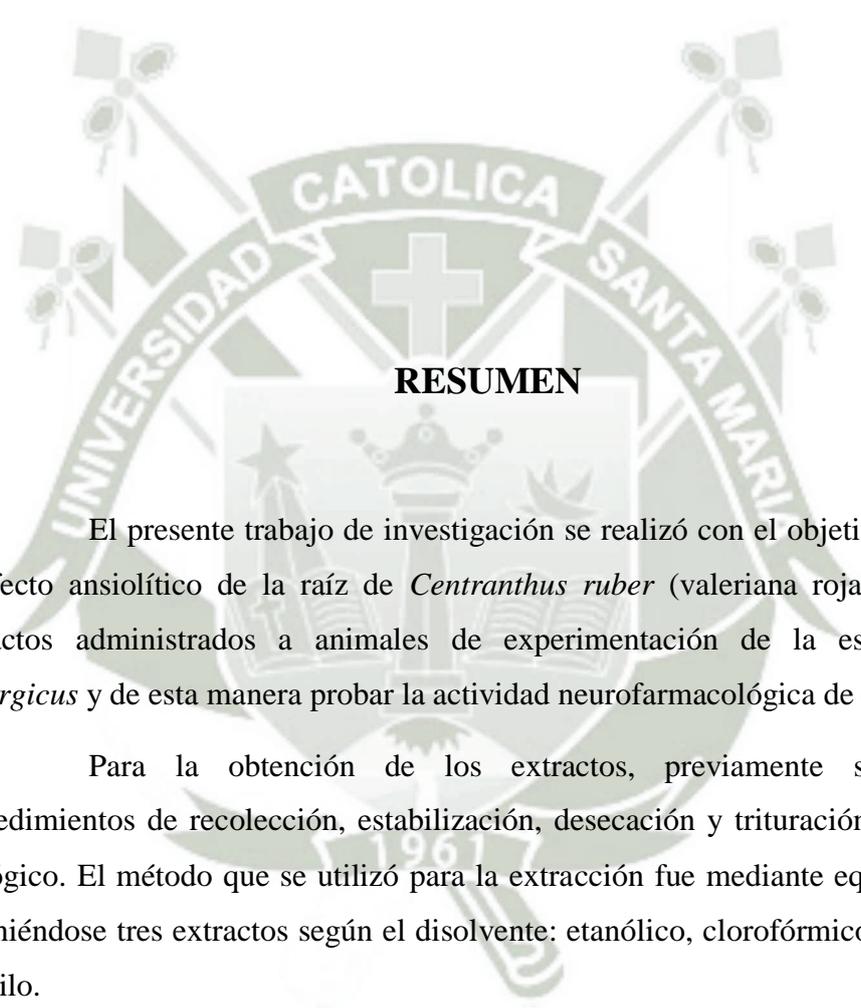
ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA	43
CUADRO N° 2 RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS DE CENTRANTHUS RUBER MEDIANTE EQUIPO SOXHLET	44
CUADRO N° 3 DISTRIBUCIÓN Y DOSIFICACIÓN DE LA UNIDAD ANIMAL PARA LA EVALUACIÓN PILOTO	47
CUADRO N° 4 FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS: EVALUACIÓN PILOTO	49
CUADRO N° 5 ANOVA APLICADO A LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS: EVALUACIÓN PILOTO	51
CUADRO N° 6 PRUEBA HSD (TUKEY) APLICADO A LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS: EVALUACIÓN PILOTO	
CUADRO N° 7 DISTRIBUCIÓN Y DOSIFICACIÓN DE LA UNIDAD ANIMAL PARA LA EVALUACIÓN FINAL	52
CUADRO N° 8 TIEMPO DE PERMANENCIA* EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS	55
CUADRO N° 9 ANOVA APLICADO AL TIEMPO DE PERMANENCIA* EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS	56
CUADRO N° 10 PRUEBA HSD (TUKEY) APLICADO AL TIEMPO DE PERMANENCIA EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS	
CUADRO N° 11 FRECUENCIA DE PERMANENCIA	58
CUADRO N° 12 ANOVA APLICADO A LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS	58
CUADRO N° 13 PRUEBA HSD (TUKEY) APLICADO A LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONA DE BRAZOS ABIERTOS	60
CUADRO N° 14 TIEMPO DE LATENCIA* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO	61
CUADRO N° 15 ANOVA APLICADO AL TIEMPO DE LATENCIA* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO	63
CUADRO N° 16 PRUEBA HSD (TUKEY) APLICADO AL TIEMPO DE LATENCIA* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO	

CUADRO N° 17 PROMEDIO DE INMOVILIDAD * PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO..	64
CUADRO N° 18 ANOVA PARA EL PROMEDIO DE INMOVILIDAD* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO	
CUADRO N° 19 PRUEBA HSD (TUKEY) PARA EL PROMEDIO DE INMOVILIDAD* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO	66
CUADRO N° 20 DEAMBULACIÓN EXTERNA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	68
CUADRO N° 21 ANOVA PARA EL TIEMPO DE DEAMBULACIÓN EXTERNA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	70
CUADRO N° 22 PRUEBA HSD (TUKEY) PARA EL TIEMPO DE DEAMBULACIÓN EXTERNA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	70
CUADRO N° 23 FRECUENCIA DE POSICIÓN ERGUIDA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	
CUADRO N° 24 ANOVA PARA LA FRECUENCIA DE POSICIÓN ERGUIDA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	72
CUADRO N° 25 PRUEBA HSD (TUKEY) PARA EL TIEMPO DE POSICIÓN ERGUIDA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	73
CUADRO N° 26 NÚMERO DE INTROMISIONES EN LOS AGUJEROS PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	74
CUADRO N° 27 ANOVA PARA EL NÚMERO DE INTROMISIONES EN LOS AGUJEROS PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	
CUADRO N° 28 PRUEBA HSD (TUKEY) PARA EL NÚMERO DE INTROMISIONES EN LOS AGUJEROS PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	76
CUADRO N° 29 TASA DE DEFECACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	77
CUADRO N° 30 ANOVA PARA LA TASA DE DEFECACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	
CUADRO N° 31 PRUEBA HSD (TUKEY) PARA LA TASA DE DEFECACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	
CUADRO N° 32 TASA DE ASEO SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	79
CUADRO N° 33 ANOVA PARA LA TASA DE ASEO SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	80
CUADRO N° 34 PRUEBA HSD (TUKEY) PARA LA TASA DE ASEO SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	

ÍNDICE DE GRÀFICOS

GRAFICA N° 1 PROMEDIO DE LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS: EVALUACIÓN PILOTO	49
GRÁFICA N° 2 PROMEDIO DEL TIEMPO DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS	55
GRÁFICA N° 3 PROMEDIO DE LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS. TIEMPO DE LATENCIA* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO	61
GRÁFICA N° 4 PROMEDIO DEL TIEMPO DE LATENCIA PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO	
GRÁFICA N° 5 PROMEDIO DE INMOVILIDAD PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO	64
GRÁFICA N° 6 PROMEDIO PARA LA DEAMBULACIÓN EXTERNA PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	68
GRÁFICA N° 7 PROMEDIO DE FRECUENCIA DE POSICIÓN ERGUIDA PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	71
GRÁFICA N° 8 PROMEDIO DE NÚMERO DE INTROMISIONES EN LOS AGUJEROS PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	74
GRÁFICA N° 9 PROMEDIO DE TASA DE DEFECACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO	77
GRÁFICA N° 10 PROMEDIO DE TASA DE ASEO SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO..	79
GRÁFICA N° 11 RESUMEN DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES	82



RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto ansiolítico de la raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a través de extractos administrados a animales de experimentación de la especie *Rattus norvegicus* y de esta manera probar la actividad neurofarmacológica de esta planta.

Para la obtención de los extractos, previamente se realizaron procedimientos de recolección, estabilización, desecación y trituración del material biológico. El método que se utilizó para la extracción fue mediante equipo Soxhlet, obteniéndose tres extractos según el disolvente: etanólico, clorofórmico y de acetato de etilo.

La identificación fitoquímica preliminar fue por cromatografía en capa fina realizada al extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja), y se observó metabolitos secundarios pertenecientes a las siguientes familias: terpenos, sesquiterpenos y taninos.

Para iniciar la evaluación de *Centranthus ruber* se realizó una evaluación piloto cuya finalidad fue evaluar los distintos extractos, utilizando disolventes de diferente polaridad: alcohol etílico, cloroformo y acetato de etilo. Se trabajó con 12 animales de la especie *Rattus norvegicus* dividiéndose en 4 grupos, empleando el método de laberinto en cruz alzada considerando la frecuencia de permanencia en la zona de brazos abiertos. Luego se realizó el análisis de varianza o ANOVA y la Prueba HSD o de Tukey a un nivel de significancia menor del 0.05, donde se determinó que el grupo tratado con extracto etanólico de 1000mg/kg fue el que presentó mayor eficacia, siendo éste el grupo a ser considerado para la evaluación final.

La evaluación final se realizó en 20 animales de experimentación de la especie *Rattus norvegicus* dividiéndose en 4 grupos, se consideró al extracto etanólico seco a dos dosis: 250 y 1000mg/kg, denominadas dosis baja y alta respectivamente, además de estos dos grupos se consideró un grupo control y un grupo con diazepam este último como fármaco de referencia con la finalidad de comparar la intensidad del efecto farmacológico de los extractos. También se realizó el análisis de varianza o ANOVA y la Prueba HSD o de Tukey a un nivel de significancia menor del 0.05 para esta evaluación.

En la evaluación final se emplearon tres métodos de conducta y fueron el método de laberinto en cruz alzada, nado forzado y campo abierto. Los resultados que obtuvimos del método de laberinto en cruz alzada que considera el tiempo de permanencia fue de 65.87 segundos y la frecuencia de permanencia fue 4.20 veces, donde se señala al grupo tratado con una dosis de 1000 mg/kg de extracto etanólico de *Centranthus ruber* (valeriana roja) el que presentó mayor eficacia. En el caso del método de nado forzado que determinó el tiempo de latencia fue de 165.05 segundos y el promedio de inmovilidad resultó 9.61 segundos, donde se determina que el grupo tratado con 1000 mg/kg fue el que presentó mayor eficacia. En la prueba de campo abierto las pruebas relacionadas con la conducta ansiolítica como es la deambulación resultó 20.60 veces y el número de intromisiones es 11.40 veces, donde también el grupo de dosis de 1000 mg/kg de extracto etanólico de *Centranthus ruber* (valeriana roja) el que presentó mayor eficacia, ya que su efecto está relacionado con el grupo que recibió diazepam.

Finalmente se concluye que el extracto etanólico de *Centranthus ruber* (valeriana roja) administrado por vía oral en animales de experimentación a una dosis de 1000mg/kg si presentó actividad de tipo ansiolítico.



ABSTRACT

This research was conducted to evaluate the anxiolytic effect *Centranthus ruber* (red valerian) through extracts administered to experimental animals of the species *Rattus norvegicus* and thus test the neuropharmacological activity of this plant.

To obtain the extracts, previously collection procedures, stabilization, drying and crushing of the biological material were performed. The method used for extraction was Soxhlet equipment, three extracts obtained according to the solvent: ethanol, chloroform and ethyl acetate.

The phytochemical preliminary identification was by thin layer chromatography performed to extract *Centranthus ruber* (red valerian), and secondary metabolites belonging to the following families observed: terpenes, sesquiterpenes and tannins.

To begin assessing *Centranthus ruber* pilot whose evaluation was conducted aimed at evaluating the various extracts, using solvents with different polarity: ethyl alcohol, chloroform and ethyl acetate. We worked with 12 animals of the species *Rattus norvegicus* divided into 4 groups, using the method of maze often raised considering staying in the area with open arms. Analysis of variance or

ANOVA and Test HSD or Tukey to a lower level of significance of 0.05, where it was determined that the group treated with ethanol extract of 1000mg / kg was then performed was the one that showed higher efficacy, which is the group to be considered for the final assessment.

The final evaluation was performed in 20 experimental animals of the species *Rattus norvegicus* divided into 4 groups, it was considered dry ethanol extract two doses: 250 and 1000 mg / kg, called low and high dose respectively, and these two groups were considered a control group and a group with diazepam latter as reference drug in order to compare the intensity of the pharmacological effect of the extracts. Analysis of variance or ANOVA and Tukey HSD test or to a lower level of significance of 0.05 for this evaluation was also conducted.

In the final evaluation of conduct three methods were used and the method of raised cross maze, forced swimming and open field. The results we obtained the first method considers the time was 65.87 seconds and frequency of stay was 4.20 times, which states the treaty at a dose of 1000 mg / kg of ethanol extract of *Centranthus ruber* (red valerian) group which presented more effectively. In the case of forced swimming method to determine the latency time it is 165.05 seconds and average 9.61 seconds immobility which resulted, where it is determined that the group treated with 1000 mg / kg which showed a higher efficiency. In the field trial open evidence related to the anxiolytic behavior such as wandering turned out 20.60 times and the number of intrusions is 11.40 times, where also the group dose of 1000 mg / kg of ethanol extract of *Centranthus ruber* (red valerian) which I presented more effectively, since its effect is related to the group receiving diazepam.

Finally it is concluded that the ethanol extract of *Centranthus ruber* (red valerian) administered orally in experimental animals at a dose of 1000 mg / kg if presented anxiolytic activity.

INTRODUCCIÓN

La ansiedad es una reacción emocional humana en situaciones en las que se prevé un resultado negativo, un peligro o amenaza, y esto genera un estado de nerviosismo, de alerta. Tiene una función básica: la supervivencia. El cuerpo y la mente reaccionan ante este peligro.

Preocupación, inseguridad y dificultades para tomar decisiones son algunas de las señales a nivel cognitivo, que el organismo a nivel físico traduce en sudoración, tensión muscular, aumento de la presión arterial y la frecuencia cardiaca, temblor en las extremidades y sequedad bucal. Estos síntomas están provocados por el aumento de la producción de diferentes sustancias químicas, como la adrenalina, relacionadas con el hecho de huir o luchar ante la situación amenazante.

Si no se resuelve esta situación, pueden manifestarse dolor de cabeza, trastornos gastrointestinales y contracturas musculares. A nivel conductual, se percibe inquietud, agitación, tensión preocupación, la persona puede bloquearse e, incluso echarse a llorar. También pueden darse dificultades para conciliar el sueño o para tener un descanso reparador.

Todo este cúmulo de síntomas así como sus complicaciones conduce a la población en la búsqueda de tratamientos, más aun que los fármacos de síntesis tienen la categoría de controlados y solo son accesibles mediante receta médica, una razón más para que la población opte por terapias como la administración de plantas medicinales, tales como la valeriana (*Valeriana officinalis*), sin embargo, en nuestro medio se encuentra una especie relacionada que es la valeriana roja o *Centranthus ruber*, especie que la población le atribuye propiedades medicinales para tratar los

“nervios”. La indagación sobre los antecedentes son escasos en comparación a la valeriana oficinal, razón por la cual el presente trabajo de investigación que se presenta evalúa el efecto ansiolítico, mediante un estudio experimental que involucra ratas de laboratorio a las que se les administró el extracto de la valeriana roja, y cuya probable actividad sobre la ansiedad fue evaluada mediante tres métodos: el de laberinto en cruz alzada, nado forzado y de campo abierto.

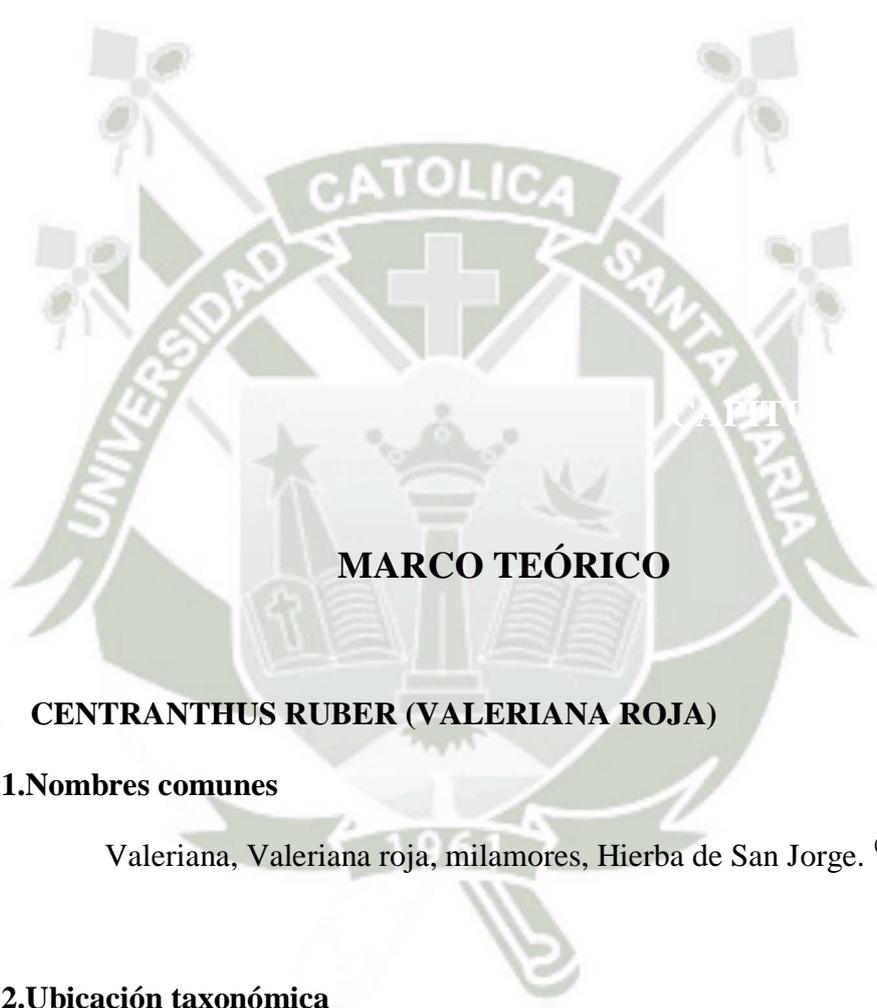


OBJETIVOS

1. Obtener extractos de la raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) utilizando disolventes de distinta polaridad.
2. Determinar los metabolitos secundarios presentes en la raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) luego del análisis fitoquímico preliminar mediante cromatografía en capa fina (CCF).
3. Establecer qué extracto de raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) según la naturaleza del disolvente presenta mayor efecto ansiolítico en animales de laboratorio tras una evaluación piloto.
4. Evaluar el efecto ansiolítico del extracto de raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a diferentes dosis en comparación con una especialidad farmacéutica que contenga diazepam.

HIPÓTESIS

Dado que en la medicina tradicional la valeriana roja (*Centranthus ruber*) es utilizada como “calmante de los nervios”, es probable que los extractos de esta droga presenten efecto ansiolítico en animales de experimentación.



MARCO TEÓRICO

1.1. CENTRANTHUS RUBER (VALERIANA ROJA)

1.1.1. Nombres comunes

Valeriana, Valeriana roja, milamores, Hierba de San Jorge. ^(1, 8, 39)

1.1.2. Ubicación taxonómica

Su taxonomía es la siguiente:

- ❖ **División:** Magnoliophyta
- ❖ **Clase:** Magnoliopsida
- ❖ **Subclase:** Arteridae

- ❖ **Orden:** Dipsacales
- ❖ **Familia:** Valerianaceae
- ❖ **Género:** *Centranthus* De Candolle
- ❖ **Especie:** *Centranthus ruber* De Candolle

FUENTE: Constancia N°07-2015-HUSA

1.1.3.Descripción botánica

Hierba perenne, hasta 1.5m de alto. Tallos estriados y fistulosos, poco ramificados. Hojas opuestas, ovaladas o lanceoladas, las superiores desiguales en la base y algo dentadas, abrazadoras, glaucas, de borde entero. Flores rosadas; cáliz reducido, corola de una sola pieza, se prolonga en la base en un largo espolón, limbo regular y 5 lobado, un solo estambre; limbo del cáliz con penacho caedizo y multicortado. ⁽⁸⁾

Figura N° 1: Raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja)



FUENTE: Brack, 1999

1.1.4.Parte utilizada

Raíz, Hojas y flores. ^(1, 8, 39)

1.1.5.Hábitat

Oriunda de Europa y Sud Oeste de Asia. La encontramos cercando cultivos y en jardines desde los 2000 a 3500 m de altitud. ⁽³⁹⁾

1.1.6.Composición Química y Actividad farmacológica.

Se han hallado ácidos orgánicos parecidos a los de la “valeriana” *Valeriana officinalis* y en cantidad superior al 5%, la existencia de los cuales ya se reconoce por su olor (ácido valeriánico). ^(1, 8,39)

1.1.7.RAMs

No descritos.

1.1.8.Contraindicaciones

No descritas.

1.1.9.Usos etnomedicinales

Antiespasmódica. Además, se atribuyen propiedades analgésicas, (dolor de pecho-corazón) a la infusión de sus flores.

Muchas familias, después de haber sufrido alguna pérdida de algún familiar, preparan infusión de la planta y la toman para aliviarse o calmarse de la congoja. Otros juntan tres tipos de claveles morado oscuro, rosado y blanco y junto con la “valeriana” toman en infusión cuando el “corazón presiona”, sea de pena por algún familiar o alguna otra razón. La infusión de la raíz se utiliza como antiespasmódica, calmante de los nervios y en casos de insomnio. ^(1, 8,39)

1.1.10.Cultivo

No se conoce la práctica de su cultivo. Sin embargo, se propaga fácilmente mediante división de pies. ^(1, 8,39)

1.2. ANSIEDAD

1.2.1. Concepto

La ansiedad puede ser una emoción normal o un trastorno psiquiátrico, dependiendo de su intensidad y de su repercusión sobre la actividad de la persona. En condiciones normales constituye uno de los impulsos vitales que motiva al individuo a realizar sus funciones y enfrentarse a situaciones nuevas (adaptógena). La ansiedad se convierte en patológica cuando adquiere tal categoría que, en lugar de favorecer el comportamiento, interfiere en él y cuando alcanza tal protagonismo que el individuo desplaza hacia ella toda su atención. ⁽³¹⁾

En términos patológicos, la ansiedad puede describirse como la vivencia de un sentimiento de amenaza, de expectación tensa ante el futuro y de alteración del equilibrio psicosomático en ausencia de un peligro real o, por lo menos, desproporcionada en relación con el estímulo desencadenante. En ella coexisten, en proporción diversa, varios componentes: ⁽³¹⁾

- ❖ Un sentimiento penetrante de aprensión, temor o angustia, frente a algo que se valora como amenazante.
- ❖ Un estado de irritabilidad que puede llegar a la pérdida de la capacidad de concentración.
- ❖ Un conjunto de síntomas somáticos variables: sudoración, palpitaciones, opresión precordial, fatiga, micciones frecuentes, cefalea, mialgias, insomnio, molestias digestivas, etc. ⁽²²⁾

Se considera que en los trastornos de ansiedad interviene cierta predisposición biológica o vulnerabilidad, que puede tener una base genética o haber sido adquirida en las experiencias de los primeros años de vida. La manera en que los acontecimientos y el medio ambiente impacten en un cerebro bien o mal configurado podría conducir a la aparición de ansiedad patológica.

La ansiedad se inserta como síntoma principal en una gran variedad de cuadros patológicos psiquiátricos. Se distinguen actualmente los siguientes:

- ❖ Los trastornos de ansiedad, que puede ser generalizada o debida a causas concretas (enfermedad médica, sustancias ingeridas, etc).

- ❖ Las crisis de angustia (panic attacks) sin o con agorafobia.
- ❖ Fobias de diverso tipo (agorafobia, fobia social, fobia específica).
- ❖ Trastorno obsesivo-compulsivo.
- ❖ Trastornos por estrés (postraumático, agudo, etc.).

También pueden cursar con ansiedad enfermedades de carácter propiamente psicótico, como los estados esquizofrénicos, los maníacos y los depresivos. ⁽⁴⁶⁾

1.2.2. Fisiopatología

Los estados de ansiedad serían el resultado de una activación excesiva del sistema nervioso o de algunos de sus núcleos, específicamente de los que intervienen en el procesamiento del estímulo (amígdala, locus coeruleus, etc.), que sería susceptible de ser modulado o frenado por neurotransmisores inhibidores, entre los cuales destacaría el GABA, pero intervendrían también de forma destacada la serotonina y la inhibición de los neurotransmisores activadores como el glutamato. ⁽⁴⁶⁾

1.3. FÁRMACOS ANSIOLÍTICOS

Fármaco ansiolítico es aquel que alivia o suprime el síntoma de ansiedad, sin producir sueño (o sedación para algunos). Durante mucho tiempo existió una clara tendencia a considerar el efecto ansiolítico como el primer paso de una línea continua de efectos progresivos. Según ello, dosis crecientes de cualquiera de los componentes producirán sedación, sueño, anestesia, coma y muerte. Este concepto se fundamenta en la realidad impuesta por el desarrollo histórico de los fármacos: barbitúricos, meprobamato y benzodiazepinas. Con los barbitúricos era difícil diferenciar en la práctica la acción ansiolítica de la sedante e hipnótica. El meprobamato significó un avance en la diferenciación entre ansiólisis y sedación. Las benzodiazepinas se acercaron al ansiolítico ideal porque, aunque a dosis elevadas producen sedación y sueño, es posible manejarlas con mayor eficacia y menor riesgo. ⁽²²⁾

En efecto muchos sedativos hipnóticos al aumentar la dosis se provoca una depresión profunda, llegando al estado de anestesia, y si la dosis se sigue incrementando se puede deprimir el centro respiratorio, centros vasomotores de la médula coma y muerte. En cambio con las benzodiazepinas no hay una relación lineal dosis-respuesta ya que existe una desviación, por lo que si se quiere lograr efectos hipnóticos se incrementa la dosis ansiolítica pero si este incremento continúa no se llega rápidamente a un estado anestésico como el caso de los barbitúricos y el alcohol. Este hecho brinda a las benzodiazepinas relativa seguridad tras su administración. ⁽²²⁾

La introducción de ansiolíticos no benzodiazepínicos, como la buspirona, cuyo mecanismo de acción no está relacionado con la transmisión GABA y que carecen de acciones sedante, anticonvulsivante y relajante muscular, ha supuesto un nuevo paso hacia delante en la definición de la acción ansiolítica. Es importante recalcar que a pesar del avance del entendimiento y la síntesis de ansiolíticos, no debe abandonarse otras formas de tratamiento no farmacológico, más aún debe prevalecer el criterio de que el fármaco ansiolítico es solo complemento y no el protagonista de la terapia ansiolítica. ^(13,22)

1.3.1. Clasificación de los Fármacos Ansiolíticos

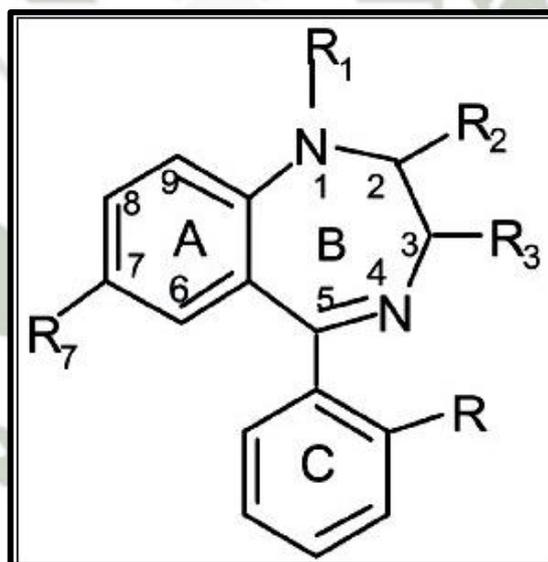
Desde un punto de vista farmacodinámico los ansiolíticos se clasifican en:

- ❖ Fármacos que modulan el receptor GABA-A.
- ❖ Fármacos agonistas parciales de receptores 5-HT_{1A}.
- ❖ Fármacos que producen bloqueos de algún otro componente vegetativo:
 - Antidepresivos tricíclicos.
 - Antihistamínicos
 - I-MAO
 - Anticonvulsivantes
 - Bloqueantes beta adrenérgicos: Propanolol. ⁽²²⁾

1.3.1.1 Benzodiazepinas

La primera benzodiazepina introducida en clínica fue el clordiazepóxido en 1957. En 1963 se introdujo el diazepam, que constituyó desde el comienzo un éxito, debido a que incrementó sustancialmente el margen de especificidad ansiolítica, la eficacia y la seguridad de las sustancias empleadas hasta entonces. Se denominan benzodiazepinas, debido a la presencia del anillo común benzodiazepínico. La mayoría posee los N del anillo benzodiazepínico en posición 1,4 y se les denomina 1,4 benzodiazepinas, pero algunas tienen en posición 1 y 5, como el clobazam. Todas poseen un radical en posición 7, generalmente Cl⁻ (diazepam, flurazepam, oxazepam y clonazepam). En posición 1 algunas incluyen un radical metilo (diazepam). Pueden estar hidroxiladas en posición 3 (oxacepam y lorazepam). Mediante la introducción de anillos adicionales se han obtenido series derivadas como las triazolobenzodiazepinas (alprazolam). ^(29, 33,41)

Figura N° 2: Estructura química de las benzodiazepinas



FUENTE: ELECTRÓNICA www.scielo.cl/scielo.

1.3.1.1.1 Farmacocinética

Absorción:

Son fármacos bien liposolubles y se distribuyen por todo el organismo. La vía de elección en la administración de benzodiazepinas es la oral, ya que por esta vía su absorción es prácticamente completa, no obstante, algunas de ellas también se

pueden administrar por otras vías como la IM, aunque por esta última la absorción es irregular para la mayoría de ellas. El cloracepato es un profármaco que se transforma en nordiazepam activo en el TGI. La vía IM es irregular y lenta debido probablemente al tejido adiposo presente, por esta vía se absorben rápidamente solo Lorazepam y Midazolam. Si hay que administrar por la vía IM tendrá que ser profunda preferentemente en el músculo deltoides, por la gran vascularización en esta zona. Por vía oral por su elevada liposolubilidad, alprazolam, diazepam, lorazepam y triazolam muestran una absorción y acción más rápidas. ^(29, 33,41)

Distribución:

Se unen en elevada proporción al sitio II de la albúmina humana, siendo la fracción libre independiente de la concentración plasmática total. La unión a proteínas no tiene influencia directa sobre la actividad clínica, excepto en la insuficiencia renal y en quemados. ^(24, 33,41)

Metabolismo:

Las benzodiazepinas pueden producir en su metabolismo metabolitos activos cuyo efecto se añade al del fármaco, en efecto, la biotransformación de las benzodiazepinas es muy complejo, en primer lugar sufren un proceso oxidativo de fase I en el hígado, esta vía oxidativa produce pequeños cambios en la estructura molecular de las benzodiazepinas, lo que origina metabolitos activos como el nordiazepam o el oxazepam. Luego los productos derivados de esta primera fase metabólica sufren conjugación con el ácido glucorónico o con el grupo sulfato. Las benzodiazepinas que originan metabolitos activos tienen como es de suponer tiempo de vida media larga, las que no sus semividas son cortas, esta característica farmacocinética es la que ha permitido clasificar a las benzodiazepinas por su periodo de acción, que está determinado por el tiempo que permanecen en el organismo con actividad farmacológica. ^(24, 33,41)

La oxidación es una vía denominada susceptible ya que puede ser alterada por factores como la edad, la enfermedad hepática o los inhibidores metabólicos (cimetidina, estrógenos, disulfiram, omeprazol, etc.), entre otros. Por el contrario, estos factores ejercen efectos mínimos sobre la conjugación. Atendiendo a esto es preferible utilizar las benzodiazepinas que se metabolizan directamente

mediante conjugación (midazolam). La enfermedad renal es irrelevante en lo que a disponibilidad se refiere.

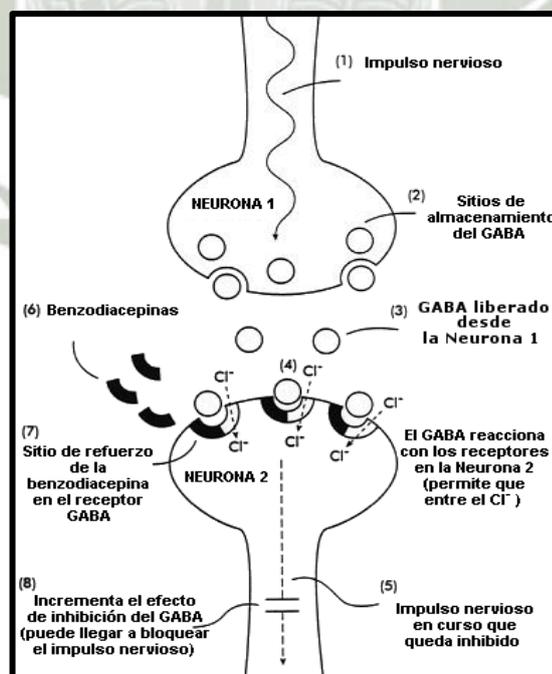
Las benzodiazepinas con velocidad de absorción oral muy rápida alcanzan enseguida concentraciones terapéuticas en el tejido cerebral, por lo que es aconsejable utilizarlas en el insomnio caracterizado por retraso en conciliar el sueño. Las benzodiazepinas con velocidad de absorción más lenta son útiles en pacientes cuyo insomnio se caracteriza por un rápido despertar. (3, 33,41)

1.3.1.1.2 Farmacodinamia

Mecanismo de acción:

Estos fármacos potencian la acción de neurotransmisores centrales de carácter inhibitor, especialmente del GABA, dando como resultado la inhibición de la transmisión sináptica. Es decir amplifican la inhibición mediada por dicho neurotransmisor. Ya que cuando este neurotransmisor inhibitor se une a su receptor produce la entrada de cloro, provocando una hiperpolarización neuronal que se traduce en un efecto inhibitor central. Este mecanismo se observa a continuación paso a paso. (3, 33, 41)

Figura N° 3: Mecanismo de acción del neurotransmisor GABA y de las benzodiazepinas en las células del sistema nervioso



FUENTE: ELECTRÓNICA www.benzo.org.uk/

Acciones farmacológicas:

- ❖ **Ansiolítica:** es la principal y se manifiesta a dosis terapéuticas. En los pacientes con ansiedad alivian tanto la tensión subjetiva como los síntomas objetivos: sudor, taquicardia, molestias digestivas, etc.; su acción puede manifestarse de forma profiláctica o curativa. Paradójicamente en algunos pacientes a la vez que alivian la ansiedad, pueden aumentar los signos objetivos de irritabilidad y hostilidad. ^(3, 28, 41)
- ❖ A dosis más elevadas tiene efecto hipnótico que las hace útiles en el tratamiento del insomnio.
- ❖ **Acción relajante muscular:** Esta acción es a nivel central, no es sobre la placa motriz o el músculo, probablemente la acción sea a la altura del cerebelo y la médula espinal, la desventaja es que esta acción se manifiesta a dosis hipnóticas (elevadas). ^(3, 28, 41)
- ❖ Algunas de ellas tiene acción anticonvulsivante y antiepiléptica. (ej. Diazepam). Presentando mayor índice terapéutica que los barbitúricos. Su acción anticonvulsivante es generalizada, y es útil frente a convulsiones provocadas por agentes tóxicos – toxinas y fármacos – febriles, en el síndrome de abstinencia alcohólica y debida a barbitúricos. Como antiepiléptico es útil en el status epiléptico. ^(3, 28, 41)
- ❖ **Otras acciones:** Las dosis terapéuticas, incluidas las que se administran por vía IV en anestesia, no afectan el aparato circulatorio en personas sanas, pero en pacientes cardíacos pueden producir hipotensión y reducción del gasto cardiaco. Dosis ligeramente altas llegan a deprimir ligeramente el centro respiratorio y en administración IV rápida pueden provocar depresión respiratoria aguda y apnea; sin embargo, a dosis equiactivas, las benzodiacepinas causan mucha menor depresión respiratoria que los barbitúricos. ^(3, 28, 41)

1.3.1.1.3 Indicaciones

- ❖ Se utiliza en el tratamiento de todos los tipos de ansiedad.
- ❖ El diazepam se usa en el tratamiento de las convulsiones de diversa etiología y en la epilepsia. En el estatus epiléptico se usa diazepam vía EV.
- ❖ En esguinces, traumatismos y en general en todos los cuadros que cursen con contracturas musculares. Para obtener este efecto se han de usar dosis superiores a las ansiolíticas.
- ❖ En la abstinencia alcohólica para reducir la excitación y evitar la aparición de convulsiones.
- ❖ En el tratamiento del insomnio y en los terrores nocturnos.
- ❖ Como parte de la medicación preanestésica suelen usarse la noche antes de la operación para obtener un buen descanso.

Como inductores del sueño se prefieren benzodicepinas de acción corta, ya que de esta manera sus metabolitos serán eliminados rápidamente durante el sueño. En cambio para tratar trastornos de ansiedad se prefieren benzodicepinas de acción larga, de este modo se aseguran cantidades constantes de fármaco a nivel sistémico. (3, 25, 33)

1.3.1.1.4 RAMs

Las benzodicepinas son fármacos con un gran margen de seguridad. Las benzodicepinas de semivida larga o con metabolitos activos, como el clordicepóxido, el diazepam, pueden ejercer efectos por la acumulación progresiva a medida que el paciente toma dosis consecutivas en días sucesivos. Otras como el lorazepam, triazolam con semivida corta no tienen ese inconveniente y se eliminan rápidamente evitando efectos por acumulación.

Las RAM más frecuentes se deben al desajuste de la dosis en relación con el efecto que se desea conseguir. Aparecen sedación, somnolencia, ataxia, disartria, incoordinación motora e incapacidad de coordinar movimientos finos o de responder verbal o motóricamente a estímulos que requieren una respuesta rápida; alteran la capacidad para conducir vehículos. Pueden producir amnesia anterógrada,

es decir, limitada a hechos que suceden después de la inyección. Más que a alteraciones de la percepción, se debe a alteraciones en los procesos de consolidación y almacenamiento. Las benzodiazepinas más potentes, como el lorazepam, tienen un potencial más elevado de producir amnesia.

En ocasiones pueden producir conducta agresiva u hostil, por desinhibición, o un estado de nerviosismo antes de que se establezca el efecto ansiolítico o sedante. Con los de acción corta pueden aparecer a veces fenómenos ansiosos de rebote al cesar el efecto del fármaco; en estos casos se emplearán productos de acción larga.

No está suficientemente aclarado si el diazepam presenta cierta acción teratógena en forma de labio leporino, pero es prudente evitar su administración en el primer trimestre del embarazo. En casos raros pueden producir reacciones dérmicas, hematológicas y hepáticas. (3, 25, 41)

1.3.1.1.5 Tolerancia y dependencia

Se produce tolerancia a los efectos sedantes y anticonvulsivantes, lo que se aprecia mejor cuando se dan dosis altas durante un tiempo prolongado. La tolerancia es cruzada con la del alcohol y otros sedantes.

Pueden provocar también dependencia psicológica y física, incluso a dosis bajas, con un síndrome de abstinencia que se instaura lentamente tras la supresión del fármaco. La sintomatología del cuadro es tal que en muchos casos resulta difícil de diferenciar si se trata de una recaída del cuadro ansioso original o de la reacción por retirada. El cuadro es tanto más intenso cuanto mayor hayan sido las dosis utilizadas y más prolongadas el tratamiento. Aproximadamente, el 35% de los pacientes tratados con benzodiazepinas durante más de 4 semanas desarrollan dependencia física. Las benzodiazepinas que presentan mayor potencial de dependencia son las de mayor potencia y menor semivida de eliminación. (3, 25, 41)

La prescripción de dosis bajas y en administración intermitente minimiza considerablemente el problema de la tolerancia y dependencia.

1.3.1.1.6 Contraindicaciones

Están contraindicadas en pacientes alérgicos a estos compuestos. El consumo de otros depresores como el alcohol étílico, con benzodiazepinas provoca

una potenciación del efecto depresor del SNC. De hecho el alcohol es totalmente incompatible con las benzodiazepinas, ya que su consumo conjunto produce, por ejemplo, un gran aumento de la somnolencia. ^(3, 22, 41)

Atraviesan la placenta y pueden producir anomalías en el desarrollo fetal, especialmente cuando se administran el primer trimestre. ^(3, 22, 41)

1.3.1.1.7 Intoxicaciones

En intoxicaciones agudas (sobredosis por intento de suicidio) rara vez se produce la muerte, excepto que haya asociación a otros fármacos o alcohol o se trate de pacientes con depresión respiratoria grave. En casos de sobredosis (recordar que es muy utilizado en suicidios) se puede administrar flumazenilo. Este fármaco es un antagonista de las benzodiazepinas que actúa desplazando a estas de su unión a los receptores celulares por su mayor afinidad por los receptores del GABA, y en consecuencia invierte rápidamente los efectos de cualquier benzodiazepina sobre el SNC. Este fármaco carece de efectos farmacológicos propios. Se administra por vía EV (a dosis de 0,3mg) y su efecto es muy rápido pero muy corto, por lo que, si la intoxicación es grave puede ser necesario mantenerlo en perfusión continua.

1.3.1.1.8 Interacciones

- ❖ Benzodiazepinas-alcohol, barbitúricos o sedantes: La combinación de estos dos tipos de sustancias potencia los efectos de ambos sobre el SNC, dado que ambos poseen efectos sedantes. En dosis altas causa riesgo de paro respiratorio, efecto que es utilizado en ocasiones con fines suicidas.
- ❖ Benzodiazepinas-fenitoína y otros anticonvulsivantes: Se han descrito tanto elevaciones como disminuciones de los niveles de fenitoína y de otros anticonvulsivantes por la adición de una benzodiazepina, especialmente peligroso en pacientes con riesgo de padecer convulsiones.
- ❖ Benzodiazepinas-antiácidos y fármacos que retrasan el vaciado gástrico. Las sustancias que retardan la absorción de las benzodiazepinas pueden retrasar de forma significativa el inicio de su acción clínica, hecho que

debe tenerse en cuenta cuando se pretende un efecto rápido, como en la inducción de anestesia, o un efecto hipnótico. Entre los antiácidos que deben evitarse están los derivados de aluminio y magnesio.

- ❖ Anticonceptivos hormonales: Ocasionalmente ocasionan inhibición enzimática del metabolismo de las benzodiazepinas, por lo que aumentan los efectos de éstas. No afectan a las benzodiazepinas que no dan lugar a metabolitos activos.
- ❖ Antidepresivos tricíclicos: Ocasionalmente ocasionan suma de los efectos sedantes, con depresión del SNC, dependiente de la dosis. ^(3, 22, 41)

Pautas posológicas en la ansiedad

- Alprazolam: 0.25-0.5 mg cada 8 horas.
- Diazepam: 2-10 mg cada 8-12 horas.
- Clobazam: 10-15mg cada 12 horas. ^(3, 41)

1.3.1.2 Fármacos Agonistas Parciales de Receptores de serotonina

1.3.1.2.1 Buspirona

La buspirona pertenece a la familia de azapironas. Es un ansiolítico no benzodiazepínico que, a diferencia de las BZD, no causa sedación ni somnolencia, carece de acción relajante muscular y anticonvulsivante, y no produce tolerancia ni reacciones de abstinencia. Tampoco manifiesta tolerancia cruzada con las benzodiazepinas y otros sedantes. ^(3, 22, 41)

1.3.1.2.1.1 Farmacocinética

La buspirona se absorbe con rapidez en el aparato digestivo, con un importante primer paso hepático que reduce considerablemente su biodisponibilidad. Se une a proteínas plasmáticas en el 95%. Se metaboliza casi por completo en el hígado mediante reacciones de oxidación y conjugación, originándose un metabolito activo, la N-desmetilbuspirona. Tiene un tiempo de vida media de 3-4 horas. La

farmacocinética de la bupirona no parece sufrir alteraciones en la población geriátrica.

1.3.1.2.1.2 Farmacodinamia

Mecanismo de acción

La bupirona se considera un agonista parcial de los receptores 5-HT_{1A} pero su efecto final sobre la transmisión serotoninérgica no está aclarado completamente. Al parecer actúan sobre receptores presinápticos inhibidores, reduciendo la liberación de serotonina y de noradrenalina en el locus coeruleus. (3, 22, 41)

Acciones farmacológicas

Tiene acción eminentemente ansiolítica, no posee acción anticonvulsivante, hipnótica, relajante muscular, no produce amnesia anterógrada, dependencia, tolerancia y no interactúa con el alcohol y otros depresores del SNC. Su eficacia ansiolítica es similar a las benzodiazepinas, pero su principal inconveniente es la lentitud con que comienza su actividad terapéutica tardando hasta 2 semanas en instaurarse la acción ansiolítica. (3, 22, 41)

Indicaciones

Tratamiento de la ansiedad generalizada. También se ha confirmado su actividad antidepressiva independiente de su acción ansiolítica. La bupirona está particularmente indicada en pacientes con antecedentes de abuso de alcohol y en pacientes en los que la disminución de las habilidades psicomotoras pudiera suponer un riesgo. (3, 28, 41)

RAMs

Poseen menos reacciones adversas en comparación con las benzodiazepinas, se han descrito sensación de mareo, vértigo, cefalea, sudor,

náuseas, intranquilidad, entre otras que tienden a ceder al continuar el tratamiento. ^(3, 28, 41)

1.3.1.3 Fármacos que producen bloqueos de algún componente vegetativo

- ❖ Antidepresivos: Se ha producido en la actualidad un cambio sustancial en el modo de abordar la terapéutica de la mayoría de trastornos que cursan con ansiedad, el tratamiento de varios de ellos se inicia con la utilización de alguna de las clases que componen los fármacos antidepresivos. Los antidepresivos tricíclicos (imipramina), el inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina y noradrenalida (venlafaxina), los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina y citalopram) y los I-MAO (de todos los mencionados este grupo es el menos utilizado).
- ❖ Antihistamínicos: Como la hidroxicina poseen cierta acción ansiolítica, pero a dosis elevadas producen intensa sedación. Su utilización está limitada a los pacientes con personalidad proclive a la adicción, alcohólicos o enfermos que no responden a otros tratamientos.
- ❖ Bloqueantes β -adrenérgicos: Son útiles para controlar las manifestaciones somáticas de carácter adrenérgico (palpitaciones, sudoración, temblor, etc.) propias de la ansiedad. Su acción se limita a suprimir las manifestaciones somáticas sin interferir en los mecanismos cerebrales de la ansiedad, los resultados son más evidentes para el médico que para el propio enfermo. Cuando los signos clínicos de la ansiedad tienen un carácter vegetativo pronunciado, puede asociarse un β -bloqueante a las benzodiacepinas, por ejemplo el propranolol a dosis mínimas. ^(3, 28, 41)



CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. UBICACIÓN ESPACIAL

Los procedimientos destinados a la estabilización, desecación, molienda, extracción, y el análisis fitoquímico preliminar mediante cromatografía en capa fina de las raíces de *Centranthus ruber* (valeriana roja) se llevaron a cabo en el laboratorio de Farmacognosia (H-103) de la Escuela Profesional de Farmacéutica y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María.

Por su parte la evaluación del efecto ansiolítico de las raíces de *Centranthus ruber* (valeriana roja) se realizaron en el Bioterio de la misma universidad y en un ambiente acondicionado para tal fin en el domicilio de las autoras del presente trabajo de investigación (Zamacola, Cerro Colorado, Arequipa).

2.2. UBICACIÓN TEMPORAL

La temporalidad del presente estudio abarcó los meses de abril, mayo, junio, julio y agosto del 2015.

2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño del presente estudio es de tipo experimental con post prueba y grupo control y tres grupos de estudio, con aleatorización de la muestra. ^(11, 26)

2.4. MATERIALES

2.4.1. Material de estudio

Unidad vegetal

La unidad vegetal estuvo constituida por la raíz (droga) de *Centranthus ruber* (valeriana roja), procedente de la zona de Cotahuasi de Arequipa. Parte del vegetal que fue tratada conforme la metodología descrita más adelante.

Unidad animal

La unidad animal estuvo conformado por 20 animales de experimentación perteneciente a la especie *Rattus norvegicus*, todos machos con edades entre 2 a 4 meses y pesos de 200 a 280 gramos.

2.4.2. Material de laboratorio

2.4.2.1 Material de vidrio

- ◆ Matrices

- ◆ Embudo de vidrio
- ◆ Fiola
- ◆ Pipetas
- ◆ Probetas graduadas
- ◆ Tubos de ensayo
- ◆ Cámara cromatográfica
- ◆ Vasos de precipitados

2.4.2.2 Equipos

- ◆ Balanza de precisión
- ◆ Cocinilla eléctrica
- ◆ Estufa
- ◆ Mechero Bunsen
- ◆ Frigorífico
- ◆ Equipo Soxhlet
- ◆ Rotavapor
- ◆ Lámpara UV

2.4.2.3 Reactivos

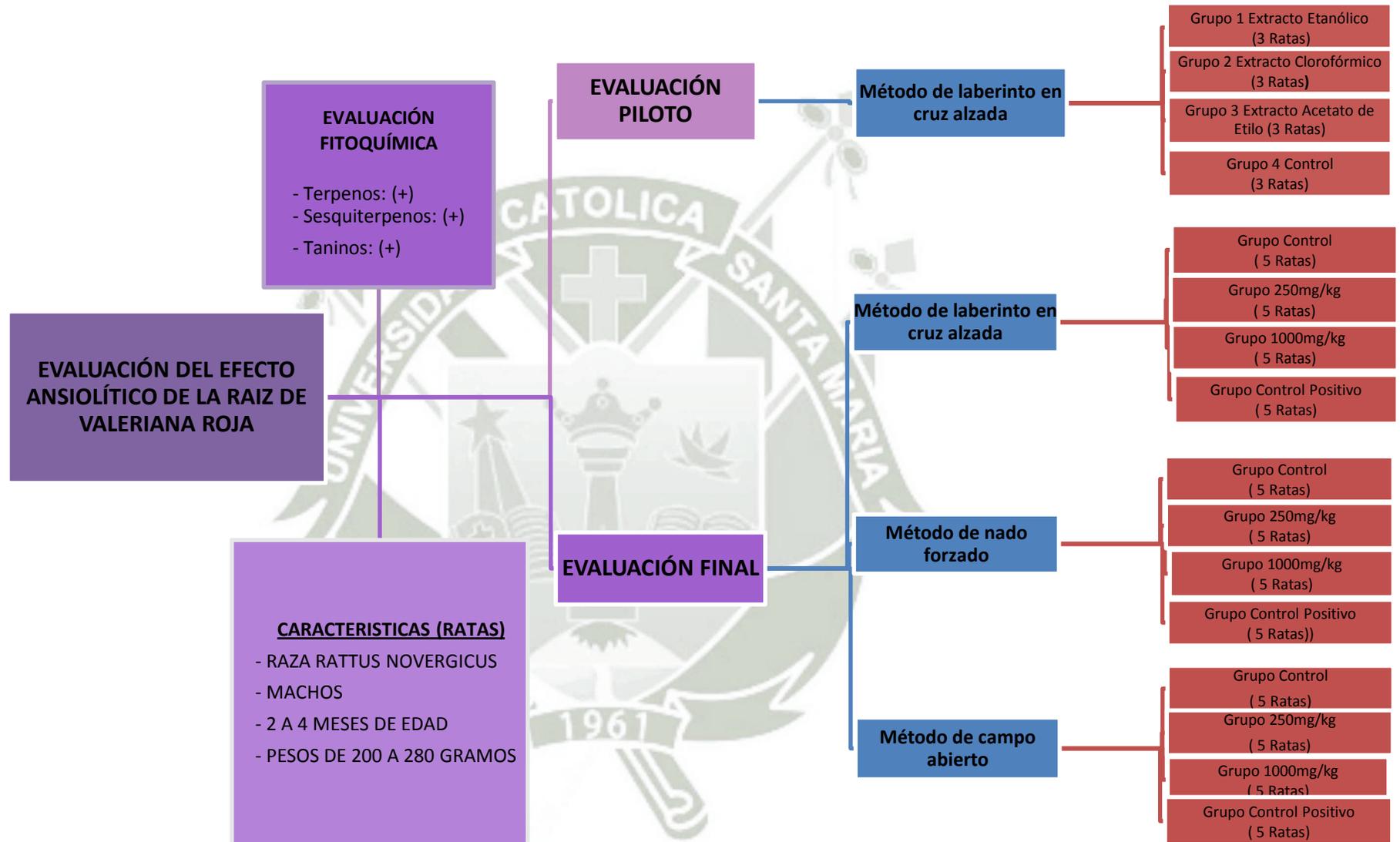
- ◆ Ácido sulfúrico (H_2SO_4)
- ◆ Ácido acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$)
- ◆ Agua destilada (H_2O)
- ◆ Alcohol etílico ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$)
- ◆ Cloroformo (CHCl_3)
- ◆ Metanol (CH_4O)
- ◆ Vainillina ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$)

- ◆ Cloruro férrico (FeCl_3)
- ◆ Cloruro de aluminio (AlCl_3)
- ◆ Ácido fórmico (CH_2O_2)
- ◆ Acetato de etilo ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$)
- ◆ Glicerina ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$)
- ◆ Diazepam
- ◆ Reactivo de Dragendorff
- ◆ Reactivo de Liebermann Burchard
- ◆ Tween 20

2.4.2.4 Materiales para los métodos de experimentación

- ◆ Laberinto en cruz alzada
- ◆ Caja de campo abierto
- ◆ Sonda orogástrica
- ◆ Mortero y pistilo de porcelana
- ◆ Cápsulas de porcelana
- ◆ Equipo de computo
- ◆ Placas de sílica gel
- ◆ Cámara fotográfica
- ◆ Cámara de video
- ◆ Recipiente de plástico
- ◆ Papel filtro rápido
- ◆ Termómetros

DIAGRAMA DE DISEÑO EXPERIMENTAL



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.5. MÉTODOS

2.5.1. Procedimientos para la obtención de los extractos

2.5.1.1 Recolección y selección

La recolección se llevó a cabo en la localidad de Cotahuasi, Provincia de La Unión, Departamento de Arequipa, de donde proviene el vegetal para su comercialización en nuestra ciudad de Arequipa. Con los ejemplares frescos se procedió en primer lugar a seleccionar a las plantas pertenecientes a la especie *Centranthus ruber* (valeriana roja), luego se seleccionó única y exclusivamente las raíces de *Centranthus ruber* (valeriana roja) en buen estado.

Figura N° 4: Recolección de la planta de *Centranthus ruber* (valeriana roja)



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.5.1.2 Estabilización

Las raíces de *Centranthus ruber* (valeriana roja) seleccionadas fueron procesadas conforme el procedimiento de estabilización con la finalidad de mejorar la estabilización de los metabolitos secundarios gracias a la inactivación enzimática. Este procedimiento se llevó a cabo en la estufa eléctrica a una temperatura de 100°C durante 3 minutos.

2.5.1.3 Deseccación

La deseccación de las raíces de *Centranthus ruber* (valeriana roja) estabilizadas se llevó a cabo también en estufa a una temperatura de 60°C durante 5 horas. Las raíces secas se almacenaron en recipientes de vidrio de boca ancha, al margen de la luz y la humedad.

Figura N° 5: Deseccación de las raíces de *Centranthus ruber* (valeriana roja)



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.5.1.4 Trituración

Para la trituración fue necesario el uso de mortero de porcelana, por lo que la molienda de las raíces de *Centranthus ruber* (valeriana) fue manual, hasta un tamaño de grado moderado. La trituración se llevó a cabo antes del proceso de extracción.

Figura N° 6: Trituración de las raíces de *Centranthus ruber* (valeriana roja)



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.5.1.5 Extracción

La extracción fue mediante el método de extracción que hace uso del equipo de destilación Soxhlet. Para la extracción se pesan de 10 a 15 g de raíz de *Centranthus ruber* debidamente tratada y someter a la acción de tres disolventes (alcohol etílico, cloroformo, acetato de etilo) en una cantidad de 150 mL.

Figura N° 7: Extracción de Soxhlet



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.5.2. Evaluación del Efecto Ansiolítico

La evaluación de efecto ansiolítico se realizó mediante tres métodos que utilizan como animales de experimentación a roedores y para efectos de la presente investigación se utilizaron ratas de laboratorio de la especie *Rattus norvegicus*; estos métodos fueron el método de laberinto en cruz alzada; el de nado forzado y de campo abierto.

2.5.2.1 Distribución de la unidad animal

Se realizaron dos evaluaciones:

La primera denominada evaluación piloto con la finalidad de determinar que extracto presenta mayor eficacia a una dosis elevada (1000mg/kg), considerando que los extractos vegetales tienen gran margen de seguridad. Para esta evaluación piloto se utilizó el método de laberinto en cruz alzada.

La segunda denominada evaluación final en la que se consideró el extracto con mayor eficacia de la prueba piloto a una dosis de 1000mg/kg, también se eligió para este mismo extracto una dosis menor de 250mg/kg con la finalidad de determinar una dosis mínima eficaz. La elección de estas dosis fue arbitraria, ya que no hay antecedentes disponibles para el vegetal medicinal bajo estudio. En esta prueba se utilizaron todos los métodos planteados y un grupo control positivo de animales de experimentación a los que se les administró diazepam en solución.

La distribución de los animales de experimentación para la constitución de los grupos experimentales fue como se describe a continuación.

2.5.2.1.1 Para el plan piloto

- ❖ **GP1:** Grupo Piloto 1, conformado por 3 ratas de laboratorio a los que se les administrará 1000mg/kg de extracto con alcohol etílico.
- ❖ **GP2:** Grupo Piloto 2, conformado por 3 ratas de laboratorio a los que se les administrará 1000mg/kg de extracto con cloroformo.
- ❖ **GP3:** Grupo Piloto 3, conformado por 3 ratas de laboratorio a los que se les administrará 1000mg/kg de extracto con acetato de etilo.
- ❖ **GCP:** Grupo Control Piloto, conformado por 3 ratas de laboratorio a los que se les administrará suero fisiológico.

2.5.2.1.2 Para la evaluación final

- ❖ **GE:** Grupo Experimental, conformado por 5 ratas de laboratorio a los que se les administrará 1000mg/kg de extracto con mayor eficacia tras la prueba piloto.
- ❖ **GE:** Grupo Experimental, conformado por 5 ratas de laboratorio a los que se les administrará 250mg/kg del extracto con mayor eficacia tras la prueba piloto.
- ❖ **GF:** Grupo Farmacológico o control positivo, conformado por 5 ratas de laboratorio a los que se les administrará diazepam en solución.
- ❖ **GC:** Grupo Control o control negativo, conformado por 5 ratas de laboratorio a los que se les administrará suero fisiológico.

2.5.2.2 Métodos

2.5.2.2.1 Método de laberinto en cruz alzada

Fundamento

El test de laberinto elevado en cruz es un modelo de evaluación de actividad ansiolítica en roedores, el cual ha sido ampliamente utilizado en el descubrimiento de nuevos agentes ansiolíticos y en la investigación de las bases fisiológicas y neuroquímicas de la ansiedad. El test se basa en la aversión natural de los roedores por espacios abiertos y se realiza en un laberinto que consta de dos ramas abiertas y dos ramas cerradas, dispuestas en forma de cruz sobre una plataforma elevada. De esta forma, se asume que cuando el animal está en las ramas abiertas, experimenta sensaciones de vértigo, agorafobia y xenofobia, las cuales son estímulos naturales que pueden inducir ansiedad en humanos.

El hecho que los animales muestren menos preferencias por los brazos abiertos parece descansar además en la imposibilidad de efectuar tigmotaxis, es decir, avanzar o permanecer al lado de superficies verticales. ⁽²⁷⁾

Esta prueba conductual posee los tres tipos de validez necesarios para que un modelo animal logre su cometido satisfactoriamente. En primer lugar, tiene validez predictiva, ya que la administración de ansiolíticos no sólo incrementa la probabilidad de que el animal se aventure a explorar los brazos abiertos del laberinto, sino que además contribuye a que éste permanezca en ellos por un tiempo mayor. En segundo lugar, presenta una importante validez analógica, ya que la aversión para explorar espacios abiertos mostrada por los animales aislados es similar a algunos tipos de trastornos de ansiedad. Finalmente, también goza de validez teórica, puesto que el sustrato biológico que medio el estado de ansiedad es similar para todos los mamíferos, tanto a nivel de sistemas córtico-subcorticales como neuroendocrinos. (27)

Además, su validez se sustenta en que sólo los fármacos ansiolíticos mejoran la frecuencia de ingresos y tiempo de permanencia en los brazos abiertos, en tanto que no se producen cambios conductuales significativos al administrar otros psicofármacos, como por ejemplo, antidepresivos y neurolepticos. (27)

Condiciones del método

El laberinto debe colocarse en el centro de una habitación oscura, en el centro de la cual debe haber una fuente de iluminación amarilla de 25 W, el aislamiento del ruido exterior debe estar presente durante la evaluación, así como la presencia humana, por lo que es imprescindible la grabación de los movimientos de los animales con una cámara de video.

Procedimiento

Luego de 30 minutos de la administración de los tratamientos según el peso del animal, cada uno de ellos debe ser colocado en el centro del laberinto, mirando hacia la zona de los brazos cerrados. Esta prueba tiene una duración de 5 minutos, tiempo durante el cual se debe registrar la frecuencia y el tiempo de permanencia que el animal registra en la zona de brazos abiertos.

Figura N° 8: Equipo del método de laberinto en cruz alzada



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.5.2.2.2 Método de nado forzado

Fundamento

El modelo de nado forzado, propuesto por Porsolt en 1987 y modificado por Detke en 1995 es uno de los más ampliamente utilizados, por su valor predictivo, ya que posee una alta capacidad para detectar actividad antidepresiva en un gran número de sustancias. Sin embargo tiene algunas limitaciones ya que pueden llegar a presentarse falsos positivos. ⁽³⁷⁾ Este método se basa en la observación de ratas que inicialmente siguen movimientos de escapatoria, desarrollando una postura de inmovilidad cuando se encuentran en un cilindro sin salida. La inmovilidad refleja una pérdida de persistencia en el comportamiento de escape (desesperanza conductual) o el desarrollo de un comportamiento pasivo. ⁽⁴⁰⁾

Procedimiento

La prueba se realiza en un recipiente de vidrio o transparente con unas dimensiones de 30 x 30 x 50 cm, en cuyo interior se deposita agua de grifo hasta una

altura de 22cm, a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1$. Previamente los animales se someten a una sesión de entrenamiento 24 h antes de la prueba, para lo cual se colocan en el recipiente con agua y se dejan en esas condiciones por 15 minutos.

Luego de la fase de entrenamiento se administran los extractos según la dosis tres veces al día. Luego de 1 hora de administrar la tercera dosis se procede a realizar la prueba de nado forzado. Esta prueba dura 10 minutos tiempo que permanece el animal en el recipiente, y se observan y miden los siguientes parámetros, en base a la conducta de inmovilidad, que es cuando el animal toque la base con una extremidad más la cola o las dos extremidades más de un segundo, esforzándose por mantener el hocico fuera del nivel de agua:

- ❖ Latencia de inmovilidad: Es el periodo de tiempo que transcurre desde que se coloca el animal al agua hasta el primer periodo de inmovilidad.
- ❖ Frecuencia de inmovilidad: Es el número de momentos de conducta de inmovilidad durante los 10 minutos.
- ❖ Periodo de inmovilidad: Es la suma de los tiempos de cada uno de los momentos de conducta de inmovilidad durante los 10 minutos.
- ❖ Promedio de inmovilidad: Resulta de la relación del periodo de inmovilidad entre la frecuencia.

Figura N° 9: Equipo del método de Nado Forzado



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.5.2.2.3 Método de campo abierto

Fundamento

Se ha utilizado originalmente como instrumento que permite estudiar la emocionalidad, sirviendo como base para las otras pruebas que registran conductas particulares de los animales como: número de cuadrados avanzados, posiciones bípedas, intromisión en los agujeros, número y duración de aseos dentro del tablero. Una de las razones de su uso es la comodidad que brinda para colocar animales de varios tamaños en un ambiente en el cual no han tenido experiencia previa, distinto al sitio en que se encuentran habitualmente, de mayores dimensiones y luminosidad, lo cual origina una respuesta por parte del animal. Esta prueba mide la actividad motora, de exploración y defecación, permitiendo inferir el estado emocional del animal, como la curiosidad del animal lo cual interfiere en mayor o menor grado de depresión o excitación del SNC. ⁽²⁷⁾

Procedimiento

Para la realización de esta prueba preparar una caja de 100 x 100 cm de área, con una altura de 60 cm. Este compartimento debe ser elaborado de un material liso color blanco (madera MD), y con un plumón marcador color azul delimitar el piso en cuadrados de 20 x 20 cm, en el cuadrado central formado generar en cada vértice cuatro orificios de 4cm de diámetro. Sobre este compartimento colocar una fuente de iluminación blanca de 100 Watts ubicado a 80 cm de la superficie de este, las paredes de la habitación no deben tener ningún elemento distraccional por lo que puede ser necesario un biombo que rodee al compartimento. Todo el compartimento debe situarse a 1 m de altura (sobre una mesa), además se debe evitar la presencia humana siendo necesaria la utilización de una cámara de video.

Cada sesión de observación del animal debe ser de 10 minutos, tiempo durante el cual se debe observar los siguientes parámetros:

- ❖ Deambulación externa: es el número de cuadrados que atraviesa completamente el animal.
- ❖ Deambulación interna: es el tiempo que permanece el animal en explorar cada sector.
- ❖ Posición erguida: es la frecuencia en la que el animal adopta la posición bípeda es decir erguida sobre sus patas traseras con ayuda de la cola.
- ❖ Intromisiones en los agujeros: Frecuencia de veces que la rata introduce su cabeza en los agujeros centrales.
- ❖ Tasa de defecación: número de bolos fecales expulsados durante el periodo de 10 minutos.
- ❖ Tasa de aseo: tiempo en segundos en los que el animal utilizando su lengua o patas delanteras se acicala o limpia su pelaje.

Figura N° 10: Equipo del método de Campo Abierto



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.5.3. Métodos estadísticos

Para el análisis de la información de los distintos métodos para la evaluación del efecto ansiolítico de la raíz de *Centranthus ruber* se utilizaron los siguientes parámetros de análisis estadístico.

- ❖ Medidas de tendencia central: Media, mediana.
- ❖ Medidas de dispersión: Desviación estándar, máximos y mínimos.
- ❖ Pruebas de hipótesis: Análisis de varianza, Prueba HSD o test de Tukey.



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la ejecución del presente estudio en primer lugar se procedió a la recolección de una muestra de las raíces de *Centranthus ruber* (valeriana roja), esta se realizó en la localidad de Cotahuasi, Provincia de La Unión, Departamento de Arequipa, obteniéndose aproximadamente unos 350 gramos de material fresco. Se seleccionó la droga correspondiente y se procedió a su estabilización en estufa a una temperatura de 100°C durante 3 minutos.

Posteriormente se procedió a su desecación, procedimiento que también se realizó a través de estufa a una temperatura de 60°C durante 5 horas aproximadamente. Una vez seca la droga de *Centranthus ruber* (valeriana roja) se trituraron mediante el método de trituración manual utilizando mortero y pistilo de porcelana hasta un grado de trituración moderado. Con este material la droga estaba preparada para ser sometida al proceso de extracción.

3.1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

La obtención de los extractos fue mediante el método de extracción con equipo Soxhlet, se utilizaron tres disolventes, a saber: alcohol etílico, cloroformo y acetato de etilo. Los aspectos descriptivos de estos extractos a continuación.

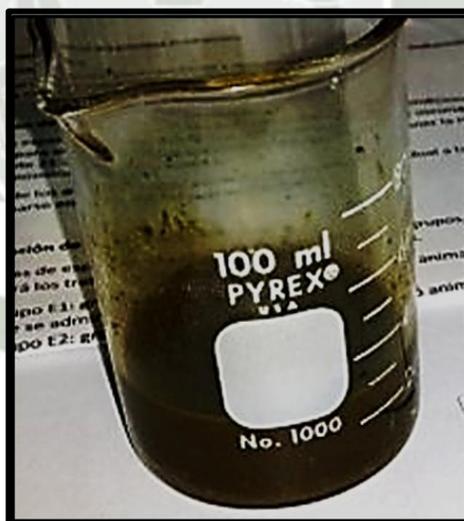
CUADRO N° 1

DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS

Descripción	Tipo de disolvente		
	Etanol	Cloroformo	Acetato de etilo
Olor	Desagradable	Desagradable	Desagradable
Color	Café verdoso	Amarillo verdoso	Amarillo verdoso
Aspecto	Pastoso	Semilíquido	Semilíquido

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

Figura N° 11: Descripción organoléptica de los extractos.



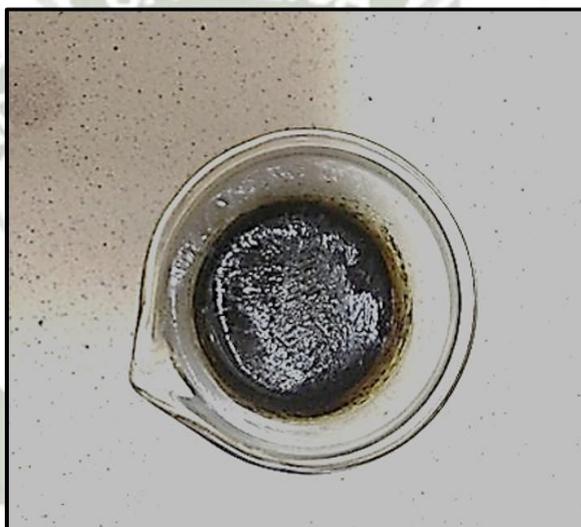
FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En la Figura N° 11 se observa la coloración del extracto etanólico, donde su coloración es café verdoso, su olor es desagradable y su aspecto es pastosa.

CUADRO N° 2**RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS DE *CENTRANTHUS RUBER* (VALERIANA ROJA)
MEDIANTE EQUIPO SOXHLET**

Extracciones	Etanol	Cloroformo	Acetato de etilo
Total de droga	15.0035	12.7636	12.7603
Peso del extracto	3.02	1.43	1.91
Rendimiento	20.0	11.2	15.0

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

Figura N° 12: Extracto etanólico de *Centranthus ruber* (valeriana roja)

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Luego de la evaporación de cada uno de los disolventes se pesaron los vasos de precipitados que contenían los extractos secos (Figura N° 12), vasos con pesos iniciales conocidos. El peso del extracto se relacionó con el peso de la droga utilizada para la extracción. Los rendimientos se muestran en el Cuadro 2. El mayor rendimiento lo presentó el extracto soxhlico cuyo disolvente fue el etanol con un 20% de rendimiento.

3.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

3.2.1. Determinación de terpenos

Figura N° 13: Investigación por CCF de terpenos en la raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja)



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En la Figura N° 13 se puede observar en los cromatofolios para el reconocimiento de terpenos, tras el revelado con el Reactivo de Liebermann Burchard se detecta la presencia de sustancias terpénicas, debido a la presencia de manchas púrpuras, azules y verdes.

Este resultado es similar a una investigación donde los resultados de las pruebas fitoquímicas, confirman que las flores de *E. berteriana* colectadas, contienen alcaloides, triterpenos y flavonoides en su composición química, lo que concuerda con los datos obtenidos de otros estudios con la misma especie, ⁽⁴⁴⁾ la similitud es solo en la determinación de triterpenos, ya que no se observó alcaloides ni flavonoides en nuestro trabajo.

3.2.2. Determinación de taninos.

Figura N° 14: Investigación por CCF de taninos en la raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja)



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En la Figura N° 14 se puede observar en los cromatofolios para el reconocimiento de taninos, tras el revelado con el Reactivo de Cloruro férrico en solución alcohólica se detecta la presencia de taninos, debido a la presencia de manchas azules.

Se realizó una investigación del efecto sedante, ansiolítico y toxicológico del extracto acuoso de flores de *Erythrina berteroana* (pito) en ratones, donde no se observó presencia de color verde o azul en la prueba del FeCl_3 y hubo ausencia de precipitados en el resto de la pruebas, por lo que no se confirma la presencia de taninos. ⁽⁶⁾ Corroborando con nuestro resultado se pudo determinar que en nuestro trabajo hay presencia de taninos.

3.3. EVALUACIÓN EL EFECTO ANSIOLITICO

3.3.1. Evaluación piloto

En este estudio se consideró una evaluación piloto, con la finalidad de evaluar los distintos extractos obtenidos mediante Soxhlet utilizando disolventes de diferente polaridad (Etanol, cloroformo y acetato de etilo). Con este fin se utilizaron un total de 12 animales de experimentación de la especie *Rattus norvegicus*, estos fueron distribuidos aleatoriamente para conformar cuatro grupos experimentales denominados: Control, Extracto clorofórmico, Extracto etanólico y Extracto de acetato de etilo.

3.3.1.1 Distribución de la unidad animal y dosificación

CUADRO N° 3

DISTRIBUCIÓN Y DOSIFICACIÓN DE LA UNIDAD ANIMAL PARA LA EVALUACIÓN PILOTO

Grupo	Identificación	Cod.	Peso (g)	Dosis mL
Control	Cabeza	R1	232.00	5.00
Control	Patas de lado izquierdo	R2	227.00	5.00
Control	Dorso	R3	228.50	5.00
Extracto clorofórmico	Pata anterior izquierda	R4	219.00	4.60
Extracto clorofórmico	Abdomen	R5	235.00	4.90
Extracto clorofórmico	Patas de lado derecho	R6	222.00	4.70
Extracto etanólico	Patas traseras	R7	230.00	4.60
Extracto etanólico	Pata anterior derecha	R8	234.00	4.60
Extracto etanólico	Pata posterior derecha	R9	230.00	4.60
Extracto de acetato de etilo	Cola	R10	247.00	3.90
Extracto de acetato de etilo	Patas delanteras	R11	241.00	3.80
Extracto de acetato de etilo	Pata posterior izquierda	R12	242.00	3.80
Promedio			232.29	4.50

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

En el Cuadro N° 3 se observa los animales sorteados en los grupos fueron debidamente marcados para su identificación se procedió al registro de sus pesos y el cálculo de las correspondientes dosis.

- Cálculo de las dosis administradas

Se preparó los tratamientos a una dosis elevada de 1000 mg/Kg considerando el rendimiento de los extractos y el peso de los animales de experimentación (ratas). Para administrar los extractos por vía oral, se prepararon suspensiones de los diferentes extractos. Las formulaciones fueron:

FORMULACIÓN 1: Vehículo para el grupo control

Codisolvente:	Glicerina	0.9 g
Tensioactivo:	Tween 20	0.6 g
Vehículo:	Agua destilada c.s.p	30 mL

FORMULACIÓN 2: Extracto clorofórmico (0.42 % p/v)

Principio activo:	Extracto clorofórmico	1.43 g
Codisolvente:	Glicerina	0.9 g
Tensioactivo:	Tween 20	0.6 g
Vehículo:	Agua destilada c.s.p	30 mL

FORMULACIÓN 3: Extracto etanólico (0.90 % p/v)

Principio activo:	Extracto etanólico	3.02 g
Codisolvente:	Glicerina	1.8 g
Tensoactivo:	Tween 20	1.2 g
Vehículo:	Agua destilada c.s.p	60 mL

FORMULACIÓN 4: Extracto de acetato de etilo (0.57% p/v)

Principio activo:	Extracto de acetato de etilo	1.91 g
Codisolvente:	Glicerina	0.9 g
Tensioactivo:	Tween 20	0.6 g
Vehículo:	Agua destilada c.s.p	30 mL

3.3.1.2 Prueba piloto según Método de laberinto en cruz alzada

La evaluación piloto que es una prueba preliminar o previa utilizo solamente el método de laberinto en cruz alzada que es un método ampliamente utilizado para la evaluación de sustancias con potencial ansiolítico. Tal como se menciona en la parte metodológica del presente estudio este método considera la deambulación del animal en la zona en brazos abiertos y su frecuencia, es decir, el tiempo que permanece en dicha zona y el número de veces que ingresa a la misma.

CUADRO N° 4

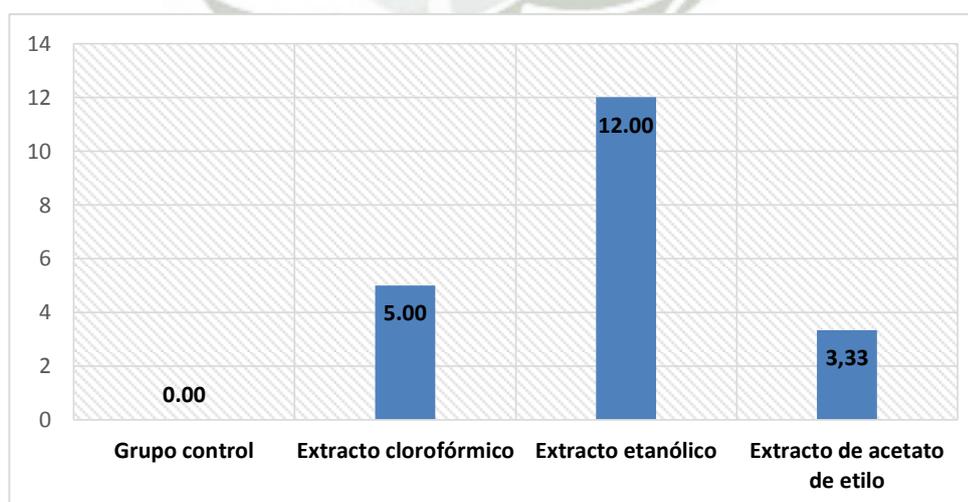
FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS: EVALUACIÓN PILOTO

Evaluación de grupos piloto	N	Media	Mediana	Máximo	Mínimo
Grupo control	3	0.00	0.00	0.00	0.00
Extracto clorofórmico	3	5.00	5.00	6.00	4.00
Extracto etanólico	3	12.00	12.00	14.00	10.00
Extracto de acetato de etilo	3	3.33	3.00	4.00	3.00

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

GRAFICA N° 1

PROMEDIO DE LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS: EVALUACIÓN PILOTO



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

En esta evaluación (Cuadro N° 4) se determinó la frecuencia de permanencia en la zona de brazos abiertos. Tras la administración de las dosis a cada animal, en el Gráfico N° 1 se observó que el grupo medicado con el extracto etanólico mostró una mayor frecuencia en la zona de brazos abiertos (12 veces).

Investigación realizados sobre el método de LCE donde nos indica que son pruebas no condicionadas, no requieren de entrenamiento por lo que son menos sensibles a procesos motivacionales y se basan en respuestas espontaneas de la conducta del ratón; éstas han permitido el desarrollo de una serie de paradigmas basados en la observación de una variedad de conductas del roedor y la mayoría de los procedimientos conductuales para el estudio farmacológico de la ansiedad se basan en este tipo de pruebas entre una de ellas es el LCE. ⁽⁴²⁾

Estudios realizados del efecto sedante, ansiolítico y toxicológico del extracto acuoso de flores de *Erythrina berteroana* (pito) en ratones, donde demuestran la disminución de la actividad exploratoria es causada por el miedo a los espacios abiertos y el uso de compuestos ansiolíticos incrementa esta actividad, por lo que el efecto ansiolítico es acompañado por el aumento en la frecuencia en las zonas abiertas, ⁽⁶⁾ esta acotación concuerda con nuestro resultado siendo así que el mejor extracto es el etanólico, por lo tanto se procedió a hacer la evaluación final trabajando con el extracto etanólico en diferentes concentraciones, con un control negativo y un control positivo que vendría hacer el diazepam.

En un trabajo de investigación se pudo revisar pruebas para la determinación de la actividad ansiolítica, uno de los modelos más utilizados es el laberinto en cruz alzada. ⁽⁴⁾ campo abierto, enterramiento de canicas y de la plataforma agujerada. ⁽⁴²⁾ utilizamos el método de laberinto en cruz alzada para nuestra prueba piloto y así poder determinar cuál de los extractos tiene mejor actividad ansiolítica.

CUADRO N° 5

**ANOVA APLICADO A LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS
ABIERTOS: EVALUACIÓN PILOTO**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	230.250	3	76.750	57.563	0.000
Dentro de grupos	10.667	8	1.333		
Total	240.917	11			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

CUADRO N° 6

**PRUEBA HSD (TUKEY) APLICADO A LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA
ZONA DE BRAZOS ABIERTOS: EVALUACIÓN PILOTO**

Evaluación de grupos piloto	N	Subconjunto para alfa < 0.05		
		1	2	3
Grupo control	3	0.0000		
Extracto de acetato de etilo	3		3.3333	
Extracto clorofórmico	3		5.0000	
Extracto etanólico	3			12.0000
Sig.		1.000	0.353	1.000

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

En el Cuadro N° 5 se observa la frecuencia de permanencia en la zona de brazos abiertos presenta una diferencia significativa (Sig.=0.000) a un nivel de confianza del 0.05, razón por la cual se realizó una Prueba HSD o de Tukey (Cuadro 6) en la que se observa al extracto etanólico como el grupo estadísticamente diferente y distante del grupo control en cuanto a sus medias y varianzas, en tanto que el grupo tratado con extracto de acetato de etilo y clorofórmico tienen una eficacia modesta que se ubica por debajo del grupo tratado con extracto etanólico. Estos resultados nos definen a este último grupo a ser el considerado para la evaluación final.

3.3.2. Evaluación final

3.3.2.1 Distribución de la unidad animal y dosificación

CUADRO N° 7

**DISTRIBUCIÓN Y DOSIFICACIÓN DE LA UNIDAD ANIMAL PARA LA EVALUACIÓN
FINAL**

Grupo	Identificación	Cod.	Peso (g)	Dosis mL
Control	Cabeza	R1	232.00	5.00
Control	Patas de lado izquierdo	R2	227.00	5.00
Control	Dorso	R3	228.50	5.00
Control	Ambas orejas	R4	230.00	5.00
Control	Oreja izquierda y cola	R5	235.50	5.00
Grupo: 250mg/Kg	Pata anterior izquierda	R6	219.00	2.20
Grupo: 250mg/Kg	Oreja izquierda	R7	225.00	2.20
Grupo: 250mg/Kg	Pata ant. derecha y cola	R8	228.00	2.30
Grupo: 250mg/Kg	Abdomen	R9	235.00	2.30
Grupo: 250mg/Kg	Patas de lado derecho	R10	222.00	2.20
Grupo: 1000mg/Kg	Patas traseras	R11	230.00	4.60
Grupo: 1000mg/Kg	Oreja derecha y cola	R12	236.00	4.70
Grupo: 1000mg/Kg	Pata ant. izquierda y cola	R13	242.50	4.80
Grupo: 1000mg/Kg	Pata anterior derecha	R14	234.00	4.60
Grupo: 1000mg/Kg	Pata posterior derecha	R15	230.00	4.60
Grupo: Diazepam	Cola	R16	247.00	2.50
Grupo: Diazepam	Oreja derecha	R17	229.00	2.30
Grupo: Diazepam	Ambas orejas y cola	R18	235.50	2.40
Grupo: Diazepam	Patas delanteras	R19	241.00	2.40
Grupo: Diazepam	Pata posterior izquierda	R20	242.00	2.40
Promedio			232.45	3.60

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

Para la evaluación final se utilizaron 20 animales de experimentación y al igual que en la evaluación piloto estos fueron distribuidos aleatoriamente, sin embargo, en esta evaluación se trabajó solo con el extracto etanólico por lo que se utilizó dos dosis de este extracto una dosis “baja” y una “alta” con un rango amplio entre las dos (250 y 1000mg/kg) debido a que se trata de un extracto vegetal, que a

diferencia de medicamentos de síntesis tienen amplio margen de seguridad, y también con la intención de notar efectos farmacológicos marcados en la experimentación; estos grupos fueron denominados: Control, Grupo 250mg/kg, Grupo: 1000mg/kg, Grupo Diazepam este último como fármaco de referencia con la finalidad de comparar la intensidad del efecto farmacológico de los extractos.

En el Cuadro N° 7 los animales fueron sorteados en los grupos también fueron debidamente marcados para su identificación se procedió al registro de sus pesos y el cálculo de las correspondientes dosis.

Figura N° 15: Dosificación del extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) en los animales de experimentación.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Se observa (Figura N° 15) la administración de los extractos con las dosis ya calculadas.

Tal como lo demuestra en un estudio donde se utilizaron ratas macho Wistar, experimentalmente ingenuas, de aproximadamente 200 g de peso al inicio del experimento, provenientes del Bioterio general de la FES Iztacala–UNAM. Los sujetos fueron alojados en cajas de acrílico transparente (5 sujetos por caja), bajo un ciclo de luz/obscuridad 12:12, con libre acceso a agua y comida. ⁽¹²⁾ Tomamos como apoyo esta referencia para nuestra evaluación final.

- **Cálculo de las dosis administradas**

Se preparó los tratamientos para los grupos administrados con extracto etanólico a dos dosis: de 250 y 1000 mg/Kg, y el grupo con el fármaco de referencia (Diazepam) a una dosis de 1mg/Kg, considerando el rendimiento de los extractos y el peso de los animales de experimentación (ratas). Las formulaciones fueron:

FORMULACIÓN 1: Vehículo para el grupo control

Codisolvente:	Glicerina	0.9 g
Tensioactivo:	Tween 20	0.6 g
Vehículo:	Agua destilada c.s.p	30 mL

FORMULACIÓN 2: Extracto etanólico grupo 250mg/kg (2.51% p/v)

Principio activo:	Extracto etanólico	3.02 g
Codisolvente:	Glicerina	3.6 g
Tensioactivo:	Tween 20	2.4 g
Vehículo:	Agua destilada c.s.p	120 mL

FORMULACIÓN 3: Extracto etanólico grupo 1000mg/kg (5.03% p/v)

Principio activo:	Extracto etanólico	3.02 g
Codisolvente:	Glicerina	1.8 g
Tensioactivo:	Tween 20	1.2 g
Vehículo:	Agua destilada c.s.p	60 mL

FORMULACIÓN 4: Diazepam (0.01% p/v)

Principio activo:	Diazepam	10 mg
Codisolvente:	Glicerina	2 g
Tensioactivo:	Tween 20	3 g
Vehículo:	Agua destilada c.s.p	100 mL

3.3.2.2 Método de laberinto en cruz alzada

CUADRO N° 8

TIEMPO DE PERMANENCIA* EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS

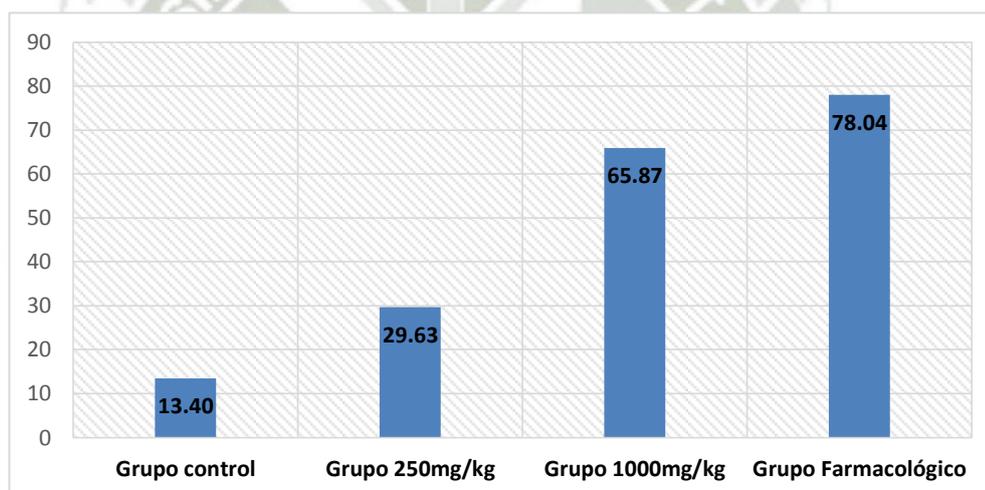
Grupo Experimental	N	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Grupo control	5	13.40	8.65	17.00	0.00	22.00
Grupo 250mg/kg	5	29.62	3.38	30.11	24.00	33.00
Grupo 1000mg/kg	5	65.87	5.12	66.87	59.41	72.17
Grupo Farmacológico	5	78.04	8.10	79.12	66.45	88.41

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*EL TIEMPO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

GRÁFICA N° 2

PROMEDIO DEL TIEMPO DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

En el Cuadro N° 8 se observa la evaluación final, el tiempo de permanencia en la zona de brazos abiertos medido en segundos según el método que utiliza un laberinto en cruz alzada, el grupo que presentó mayor tiempo de permanencia corresponde al grupo farmacológico tratado con diazepam con 78.04 segundos de promedio, en segundo lugar se ubica el grupo que recibió extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a una concentración de 1000 mg/kg con un promedio de tiempo de permanencia de 65.87 segundos (Gráfica N° 2).

CUADRO N° 9

**ANOVA APLICADO AL TIEMPO DE PERMANENCIA* EN LA ZONAS DE BRAZOS
ABIERTOS**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	13753,727	3	4584.576	103.004	0.000
Dentro de grupos	712,138	16	44.509		
Total	14465,865	19			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*EL TIEMPO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

CUADRO N° 10

**PRUEBA HSD (TUKEY) APLICADO AL TIEMPO DE PERMANENCIA* EN LA ZONAS DE
BRAZOS ABIERTOS**

Grupo Experimental	N	Subconjunto para alfa < 0.05			
		1	2	3	4
Grupo control	5	13.4000			
Grupo 250mg/kg	5		29.6260		
Grupo 1000mg/kg	5			65.8740	
Grupo Farmacológico	5				78.0480
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*EL TIEMPO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

En el Cuadro N° 9 se observa el tiempo de permanencia en la zona de brazos abiertos presenta una diferencia significativa (Sig.=0.000) a un nivel de confianza del 0.05, por lo que se realizó una Prueba HSD o de Tukey (Cuadro N° 10) en la que se observa al grupo tratado con diazepam como el grupo estadísticamente diferente y más distante en cuanto a sus medias y varianzas del grupo control, en lo que se refiere a nuestros grupos experimentales, es el grupo que recibió una dosis de 1000mg/kg como el grupo estadísticamente diferente y diferente al grupo control, sin embargo, esta eficacia se sitúa por debajo del grupo con diazepam, el grupo tratado con la dosis baja de 250 mg/kg ocupa un lugar inferior. El grupo control ocupa el lugar más bajo en cuanto a tiempo de permanencia en la zona de brazos abiertos con 13.4 segundos de promedio. En cuanto a esta etapa de evaluación es el grupo tratado

con 1000 mg/kg el que presentó mayor eficacia en lo referente a este método, sin embargo, esta se sitúa por debajo del grupo tratado con diazepam.

Figura N° 16: Evaluación del promedio del tiempo de permanencia en la zona de brazos abiertos



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En la Figura N° 16 se observa en animal de experimentación en los brazos abiertos, donde se evaluaron a cada uno de ellos, posteriormente se realizó el análisis estadístico donde se observa el incremento del tiempo de permanencia en los brazos abiertos tanto del extracto etanólico, y del control positivo que es el diazepam.

Tal como lo demuestra un estudio donde las fracciones primarias obtenidas en el proceso de partición del extracto etanólico fueron evaluadas en el método de laberinto cruz alzada, observándose efectos significativos con respecto al control, en la variable de tiempo de permanencia de ingreso a las zonas de brazos abiertos del método de laberinto en cruz alzada, además del patrón utilizado, diazepam.⁽⁴⁾

Estos resultados concuerdan con los descritos por López Martínez, quien evaluó la actividad ansiolítica de derivados de imidazol [1,2-a] piridina, donde se concluyó que el tratamiento con L-2 y L-3 incremento significativamente el porcentaje de tiempo en brazos abiertos por el método del laberinto en cruz alzada.⁽⁴²⁾ Sus resultados fueron similares a nuestro trabajo ya que el tiempo fue mayor en los brazos abiertos.

CUADRO N° 11

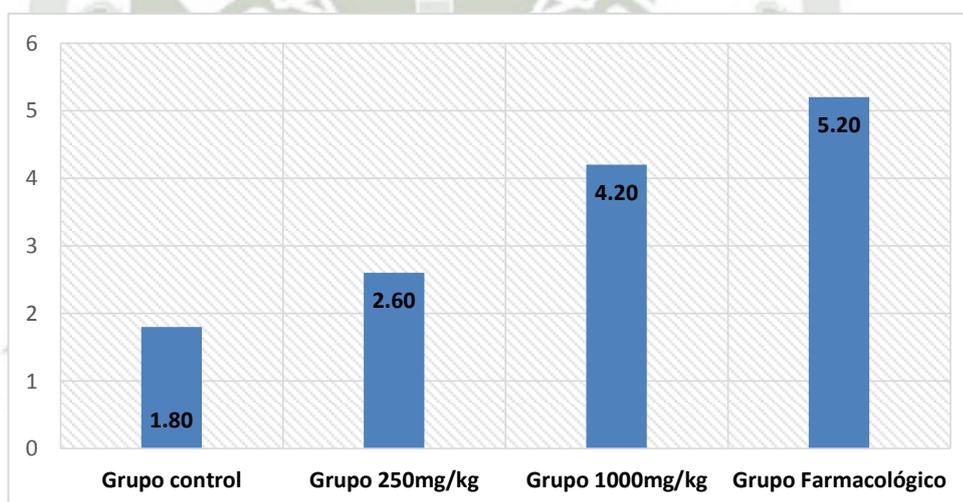
FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS

Grupo Experimental	N	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Grupo control	5	1.80	1.09	2.00	0.00	3.00
Grupo 250mg/kg	5	2.60	0.54	3.00	2.00	3.00
Grupo 1000mg/kg	5	4.20	0.44	4.00	4.00	5.00
Grupo Farmacológico	5	5.20	0.83	5.00	4.00	6.00

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

GRÁFICA N° 3

PROMEDIO DE LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

En la evaluación final (Cuadro N° 11) la frecuencia de permanencia en la zona de brazos abiertos según el método que utiliza un laberinto en cruz alzada, el grupo que presento mayor frecuencia de permanencia corresponde al grupo farmacológico tratado con diazepam con 5.2 veces de promedio, en segundo lugar se ubica el grupo que recibió extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a una concentración de 1000 mg/kg con un promedio de frecuencia de permanencia de 4.20 veces (Grafica N° 3), hay que notar que en esta evaluación final que trabajó con cinco animales la frecuencia resultó menor que en la evaluación piloto.

Figura N° 17: Evaluación del promedio de la frecuencia de permanencia en la zona de brazos abiertos



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En la Figura N° 17 se observa al animal de experimentación en los brazos abiertos, la frecuencia de permanencia fue evaluada a través de los métodos estadísticos. En investigaciones realizadas del efectos sobre el SNC del extracto etanólico y fracciones de *Hygrophila tyttha* Leonard, se obtuvo un efecto del extracto etanólico de *Hygrophila tyttha* y diazepam el tiempo de permanencia en las zonas abiertas del método de laberinto en cruz alzada fue significativo. ⁽⁴⁾ Hay una semejanza con nuestro extracto etanólico de la raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) y nuestro control positivo el diazepam, ya que los tiempo de permanencia fueron significativos.

En una investigación se realizó la prueba del laberinto en cruz elevado se basa en respuestas espontáneas de la conducta del ratón, utilizando estímulos naturales tales como el miedo a los espacios abiertos y miedo de caminar sobre una plataforma elevada y relativamente estrecha, por cuanto que se vio aumentado el número de entradas a zonas abiertas, resultados que concuerdan con estudios recientes en especies del género *Erythrina*, característico de las sustancias ansiolíticas. En consideración del análisis realizado, podemos concluir que los resultados de la presente investigación demuestran que no existe un efecto sedante, pero sí un efecto ansiolítico ligeramente efectivo del extracto acuoso de las flores de *E. berteroana* en comparación con diazepam como fármaco de referencia. ⁽⁶⁾ Tras esta investigación podemos concluir que hay relación con nuestro trabajo ya que se

vio incrementado el número de entradas a los brazos abiertos tanto del extracto etanólico como del control positivo.

CUADRO N° 12

ANOVA APLICADO A LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	35.350	3	11.783	19.639	0.000
Dentro de grupos	9.600	16	0.600		
Total	44.950	19			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

CUADRO N° 13

PRUEBA HSD (TUKEY) APLICADO A LA FRECUENCIA DE PERMANENCIA EN LA ZONAS DE BRAZOS ABIERTOS

Grupo Experimental	N	Subconjunto para alfa < 0.05	
		1	2
Grupo control	5	1.8000	
Grupo 250mg/kg	5	2.6000	
Grupo 1000mg/kg	5		4.2000
Grupo Farmacológico	5		5.2000
Sig.		0.389	0.214

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

La frecuencia de permanencia (Cuadro N° 12) en la zona de brazos abiertos presenta una diferencia significativa (Sig.=0.000) a un nivel de confianza del 0.05, por lo que se realizó una Prueba HSD o de Tukey (Cuadro N° 13) en la que se observa al grupo tratado con diazepam y al grupo que recibió una dosis de 1000mg/kg como grupos estadísticamente diferentes y más distantes en cuanto a sus medias y varianzas del grupo control, el grupo tratado con la dosis baja de 250 mg/kg ocupa un lugar inferior y es estadísticamente comparable al grupo control. En cuanto a esta etapa de evaluación es el grupo tratado con 1000 mg/kg el que presentó mayor eficacia en lo referente a este método. La conclusión general al método de laberinto en cruz alzada que considera la frecuencia de permanencia así como el periodo de tiempo de los tratamientos, señala al grupo tratado con una dosis de 1000 mg/kg de

extracto etanólico de *Centrastus ruber* (valeriana roja) con una eficacia que podría compararse al grupo tratado con diazepam.

3.3.2.3 Método de nado forzado

CUADRO N° 14

TIEMPO DE LATENCIA* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO

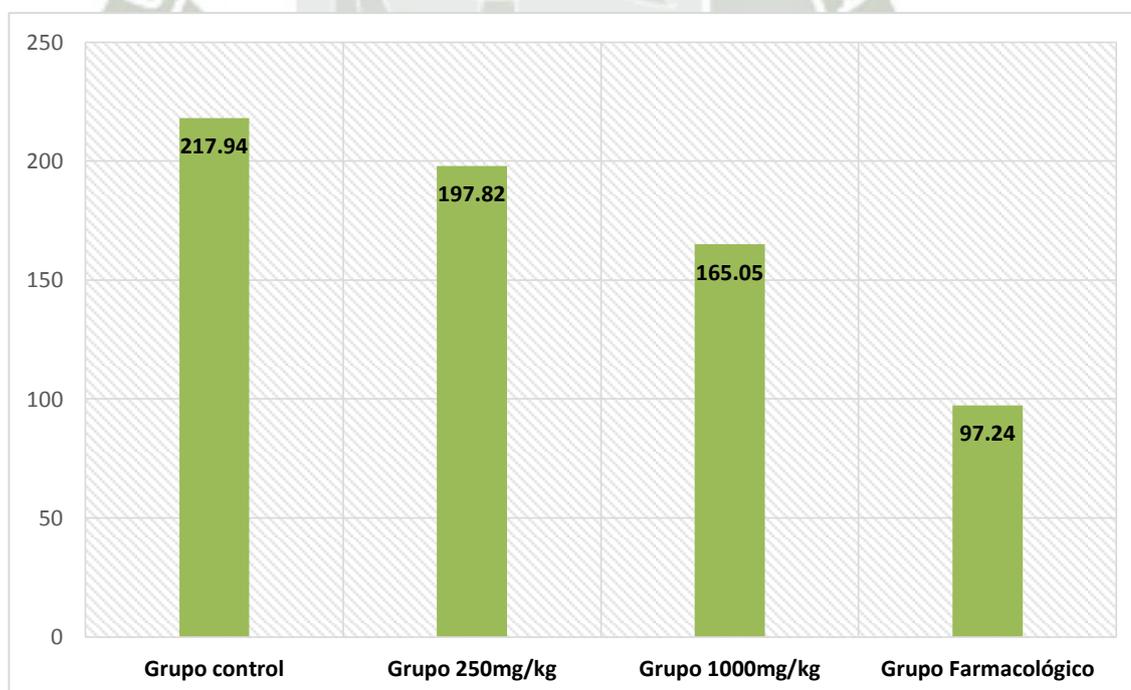
Grupo Experimental	N	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Grupo control	5	217.94	24.30	205.78	195.65	248.54
Grupo 250mg/kg	5	197.82	6.46	199.65	187.52	204.36
Grupo 1000mg/kg	5	165.05	18.88	165.21	139.85	189.44
Grupo Farmacológico	5	97.24	17.25	102.36	68.00	110.41

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*EL TIEMPO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

GRÁFICA N° 4

PROMEDIO DEL TIEMPO DE LATENCIA PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

Figura N° 18: Evaluación del promedio del tiempo de latencia para el Método de Nado Forzado



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el Cuadro N° 14 se observa el método de nado forzado, incluye la medición del periodo de Latencia que es aquel tiempo que transcurre desde que el animal es introducido al recipiente con agua atemperada hasta el primer estadio de inmovilidad (Figura N° 18). Según los resultados del Gráfico N° 4 el grupo que presento menor periodo de latencia corresponde al grupo farmacológico tratado con diazepam con 97.24 segundos de promedio, en segundo lugar se ubica el grupo que recibió extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a una concentración de 1000 mg/kg con un promedio de tiempo de latencia de 165.05 segundos, el grupo con dosis baja un promedio de latencia de 197.828 y el grupo control con la mayor latencia de inmovilidad con 217.84 segundos.

Según Ariza S; et al. Donde nos señalan un estudio sobre los efectos sobre el SNC del extracto etanólico y fracciones de *Hygrophila tytta* Leonard, donde hay un aumento en el tiempo de latencia nos indica presencia de actividad antidepresiva donde el efecto del extracto etanólico de *Hygrophila tytta*. (Do= 500 mg/Kg) e imipramina (15 mg/Kg) sobre el tiempo que tardan los animales en adoptar la posición inmóvil y el tiempo de inmovilidad en el modelo de nado forzado, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en este modelo, por lo cual se considera que el extracto etanólico de *Hygrophila tytta* no posee actividad antidepresiva,⁽⁴⁾ por lo consiguiente se cumpliría una actividad ansiolítica, ya que disminuyo el tiempo de latencia del mismo modo que sucedió en nuestro trabajo.

CUADRO N° 15

**ANOVA APLICADO AL TIEMPO DE LATENCIA* PARA EL MÉTODO DE NADO
FORZADO**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	41951.793	3	13983.931	43.465	0.000
Dentro de grupos	5147.673	16	321.730		
Total	47099.466	19			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*EL TIEMPO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

CUADRO N° 16

**PRUEBA HSD (TUKEY) APLICADO AL TIEMPO DE LATENCIA* PARA EL MÉTODO DE
NADO FORZADO**

Grupo Experimental	N	Subconjunto para alfa < 0.05		
		1	2	3
Grupo Farmacológico	5	97.2400		
Grupo 1000mg/kg	5		165.0560	
Grupo 250mg/kg	5			197.8280
Grupo control	5			217.9420
Sig.		1.000	1.000	0.321

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*EL TIEMPO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

En el Cuadro N° 15 se observó el tiempo de latencia en segundos (Método de nado forzado) presenta una diferencia significativa (Sig.=0.000) a un nivel de confianza del 0.05, por lo que se realizó una Prueba HSD o de Tukey (Cuadro N° 16) en la que se observa al grupo tratado con diazepam y al grupo que recibió una dosis de 1000mg/kg como grupos estadísticamente diferentes y más distantes en cuanto a sus medias y varianzas del grupo control, el grupo tratado con la dosis baja de 250 mg/kg ocupa un lugar inferior e intermedio entre estos dos primeros grupos y el control. En cuanto a esta etapa de evaluación es el grupo tratado con 1000 mg/kg el que presentó mayor eficacia en lo referente a este método.

Tal como lo demuestra un estudio donde se realizó un análisis estadístico se emplearon las pruebas: en los modelos de laberinto en cruz elevado, nado forzado y sueño inducido por pentobarbital se aplicó un análisis de varianza simple (ANOVA) y un análisis de comparaciones múltiples (Tukey) para determinar los tratamientos responsables de las diferencias significativas. ⁽⁴⁾ Por lo tanto compartimos su análisis estadístico en nuestra investigación.

CUADRO N° 17

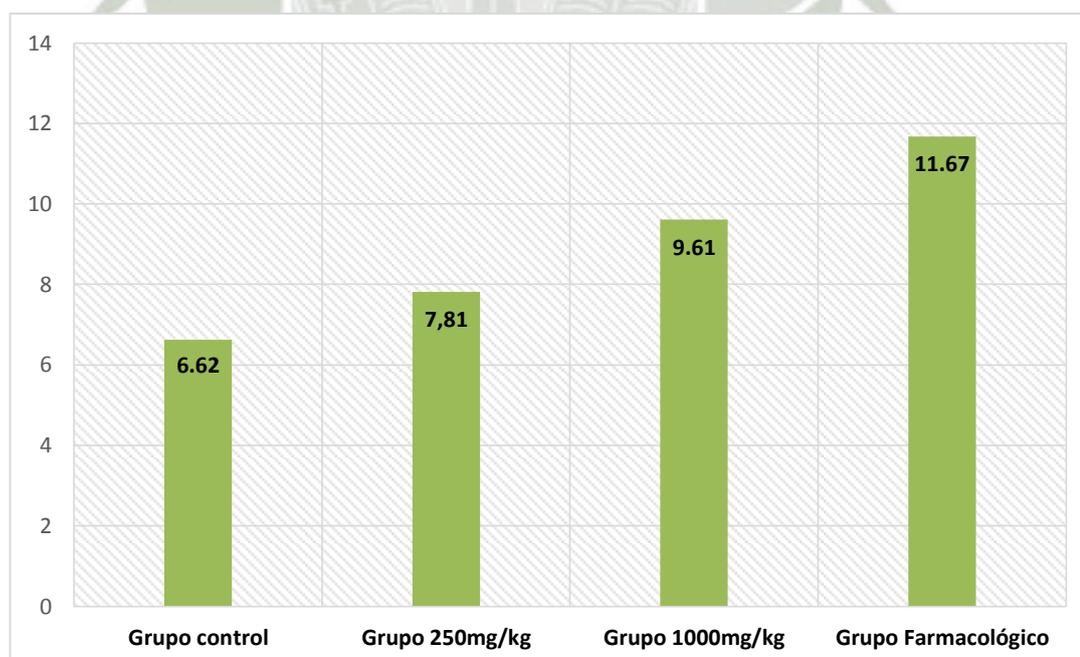
PROMEDIO DE INMOVILIDAD* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO

Grupo Experimental	N	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Grupo control	5	6.62	2.00	6.72	3.39	8.78
Grupo 250mg/kg	5	7.81	1.44	7.60	6.14	9.30
Grupo 1000mg/kg	5	9.61	0.72	9.16	9.04	10.46
Grupo Farmacológico	5	11.67	1.88	11.05	10.53	15.02

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA
*EL PROMEDIO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

GRÁFICA N° 5

PROMEDIO DE INMOVILIDAD PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

Figura N° 19: Evaluación del promedio de inmovilidad del Método Nado Forzado



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el Cuadro N° 17 se observa el método de nado forzado incluye la medición Promedio de Inmovilidad (Figura N° 19) que relaciona el periodo de inmovilidad (sumatoria de los tiempos de cada uno de los momentos de conducta de inmovilidad) y la frecuencia de inmovilidad (número de momentos de conducta de inmovilidad). Según estos resultados (Gráfico N° 5) el grupo que presentó mayor promedio de inmovilidad corresponde al grupo farmacológico tratado con diazepam con 11.67 segundos, en segundo lugar se ubica el grupo que recibió extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a una concentración de 1000 mg/kg con un promedio de inmovilidad de 9.61 segundos, el grupo con dosis baja un promedio de inmovilidad de 7.81 segundos y el grupo control con el menor promedio de inmovilidad con 6.62 segundos.

En un estudio que se realizó donde se considera la inmovilidad cuando el animal realiza apenas los movimientos mínimos necesarios para mantener la cabeza fuera del agua. Una disminución en el tiempo de inmovilidad de los animales son indicativos de la actividad antidepressiva. ⁽⁴⁾, pero en nuestro trabajo se observó un incremento que se relaciona con la evaluación del efecto ansiolítico que se observó en los animales de experimentación de la especie *Rattus norvegicus*.

CUADRO N° 18

ANOVA PARA EL PROMEDIO DE INMOVILIDAD* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	72.823	3	24.274	9.524	0.001
Dentro de grupos	40.781	16	2.549		
Total	113.605	19			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA
*EL PROMEDIO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

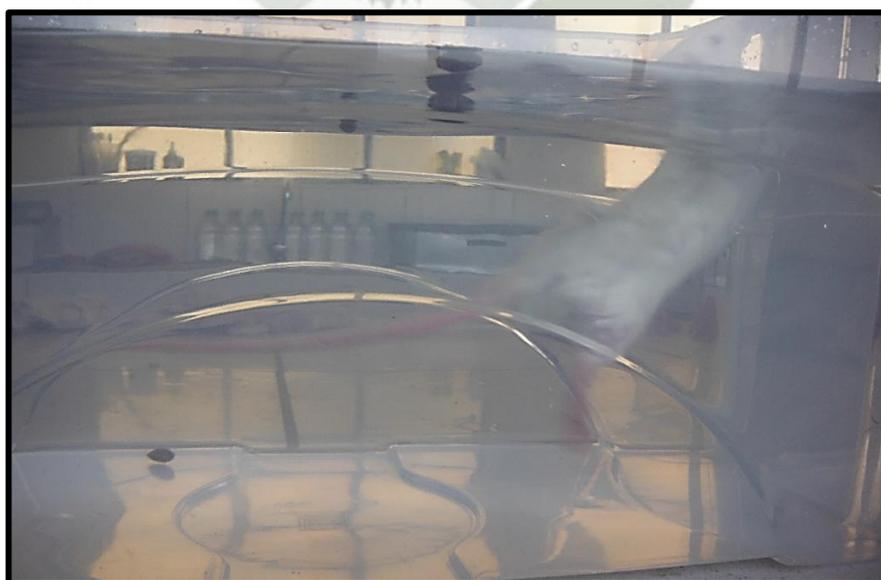
CUADRO N° 19

PRUEBA HSD (TUKEY) PARA EL PROMEDIO DE INMOVILIDAD* PARA EL MÉTODO DE NADO FORZADO

Grupo Experimental	N	Subconjunto para alfa < 0.05		
		1	2	3
Grupo control	5	6.6280		
Grupo 250mg/kg	5	7.8100	7.8100	
Grupo 1000mg/kg	5		9.6160	9.6160
Grupo Farmacológico	5			11.6760
Sig.		0.653	0.314	0.215

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA
*EL PROMEDIO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

Figura N° 20: Evaluación de inmovilidad del Método Nado Forzado



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el Cuadro N° 18 se observa el promedio de inmovilidad (Figura N° 20) en segundos (Método de nado forzado) presenta una diferencia significativa (Sig.=0.001) a un nivel de confianza del 0.05, por lo que se realizó una Prueba HSD o de Tukey (Cuadro N° 19) en la que se observa al grupo tratado con diazepam y al grupo que recibió una dosis de 1000mg/kg como grupos estadísticamente diferentes y más distantes en cuanto a sus medias y varianzas del grupo control, el grupo tratado con la dosis baja de 250 mg/kg ocupa un lugar inferior e intermedio entre estos dos primeros grupos y el control.

En cuanto a esta etapa de evaluación es el grupo tratado con 1000 mg/kg el que presentó mayor eficacia en lo referente a este método, sin embargo esta eficacia no es del todo clara ya que es similar no solo al grupo con diazepam o farmacológico sino también al grupo tratado con extracto a dosis baja.

Tal como lo demuestra un estudio del uso de modelos animales en el estudio de plantas medicinales con propiedades ansiolíticas y antidepresivas, donde realizaron el modelo de nado forzado donde permitió identificar efectos tipo antidepresivo luego de la administración de los extractos de *A. muricata* y *S. elegans* se pueden observar las comparaciones estadísticas entre grupos entre 8 a 11 ratas por cada dosis, donde se aplicó el ensayo de ANOVA seguido posteriormente por Newman-Keuls, todas estas dosis de ambos extractos disminuyeron el tiempo de inmovilidad.⁽¹⁷⁾

Caso contrario ocurre en nuestro trabajo ya que nuestro tiempo de inmovilidad resulto incrementada y está relacionada con el efecto ansiolítico, otro punto de semejanza sería el análisis estadístico que se aplicó el ANOVA y el tukey este análisis tiene semejanza con el análisis de Newman-Keuls.

3.3.2.4 Método de campo abierto

El método de campo abierto considera la medición de la Deambulaci3n externa del animal que es el n3mero de cuadrados que atraviesa completamente, medido en frecuencia o n3mero de veces. Se considera que el n3mero de cuadrados avanzados es una medida de la actividad exploratoria, el aumento de esta variable es un buen indicador de la disminuci3n de emocionalidad.⁽³⁸⁾

CUADRO N3 20

DEAMBULACI3N EXTERNA* PARA EL M3TODO DE CAMPO ABIERTO

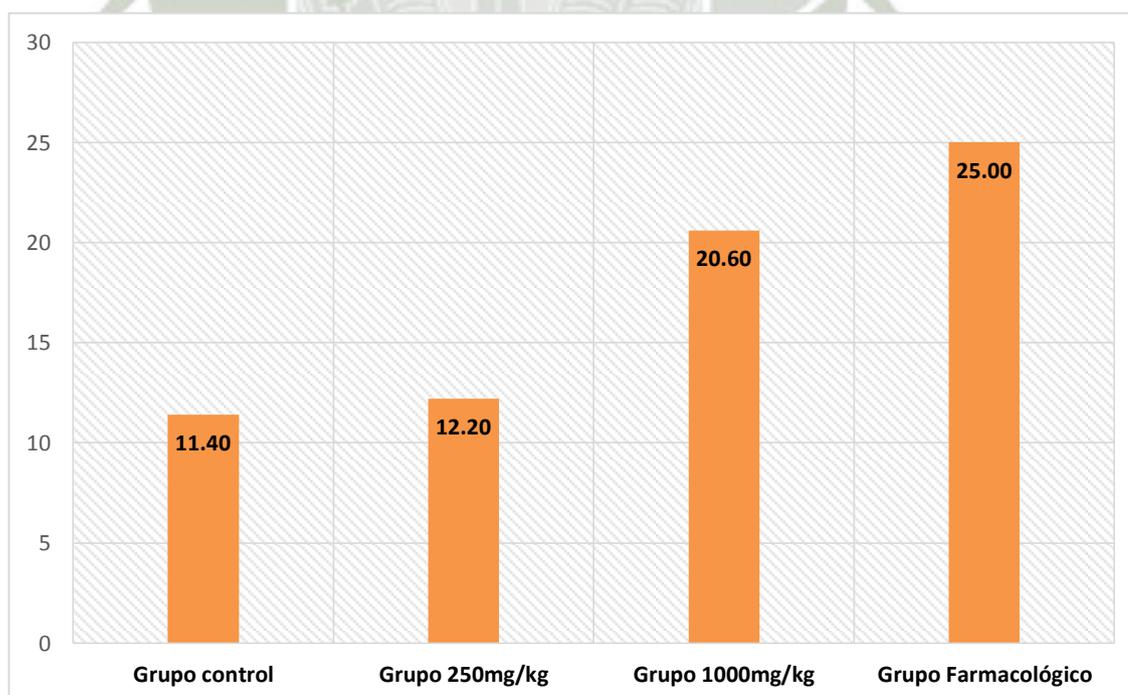
Grupo Experimental	N	Media	Mediana	Desviaci3n est3ndar	M3nimo	M3ximo
Grupo control	5	11.40	11.00	1.14	10.00	13.00
Grupo 250mg/kg	5	12.20	12.00	1.92	10.00	15.00
Grupo 1000mg/kg	5	20.60	20.00	2.30	18.00	23.00
Grupo Farmacol3gico	5	25.00	25.00	1.58	23.00	27.00

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACI3N PROPIA

*EL TIEMPO DEAMBULACI3N SE EXPRESA EN SEGUNDOS

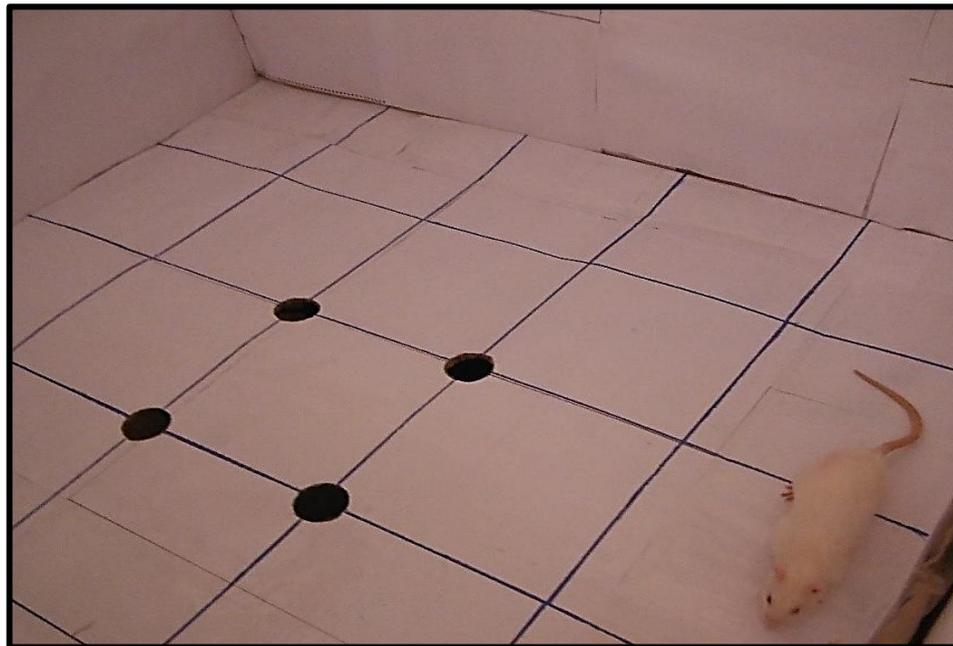
GR3FICA N3 6

PROMEDIO PARA LA DEAMBULACI3N EXTERNA PARA EL M3TODO DE CAMPO ABIERTO



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACI3N PROPIA

Figura N° 21: Evaluación de Deambulación Externa para el Método de Campo Abierto.



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En el Cuadro N° 20 y en el Grafico 6 se observan los resultados donde indican al grupo que presentó mayor promedio de deambulación externa (Figura N° 21) corresponde al grupo farmacológico tratado con diazepam con 25 veces, en segundo lugar se ubica el grupo que recibió extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a una concentración de 1000 mg/kg con un promedio de deambulación de 20.6 veces, el grupo con dosis baja un promedio de deambulación de 12.2 veces y el grupo control con el menor promedio con 11.4 veces.

Tal como se comprueba en un estudio donde se evaluó la actividad ansiolítica de la *Nymphaea alba* Linnos, los ratones tratados con diazepam mostraron un aumento significativo ($P < 0.05$) en el número de cuadrados cruzados durante un intervalo de 5min de la prueba, en comparación con los grupos tratados solo con vehículo. El extracto de *N. alba* (100 y 200 mg / kg) también produjo un aumento significativo en el número de cuadrados cruzados ($P < 0,05$), el análisis estadístico de los datos obtenidos de estos experimentos apoyó la actividad ansiolítica del extracto de *N. alba*, tanto a dosis (100 y 200 mg / kg) como su efecto muestra aumento significativo en el número de cuadrados cruzados, en comparación con el grupo tratado con vehículo, lo que indica su efecto de tipo ansiolítico. ⁽⁴⁴⁾

CUADRO N° 21

ANOVA PARA EL TIEMPO DE DEAMBULACIÓN EXTERNA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	655.000	3	218.333	68.229	0.000
Dentro de grupos	51.200	16	3.200		
Total	706.200	19			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*EL TIEMPO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

CUADRO N° 22

PRUEBA HSD (TUKEY) PARA EL TIEMPO DE DEAMBULACIÓN EXTERNA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO

Grupo Experimental	N	Subconjunto para alfa < 0.05		
		1	2	3
Grupo control	5	11.400		
Grupo 250mg/kg	5	12.200		
Grupo 1000mg/kg	5		20.600	
Grupo Farmacológico	5			25.000
Sig.		0.893	1.000	1.000

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*EL TIEMPO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

En el Cuadro N° 21 se observa el promedio de la frecuencia de deambulación externa (Método de campo abierto) presenta una diferencia significativa (Sig.=0.000) a un nivel de confianza del 0.05, por lo que se realizó una Prueba HSD o de Tukey (Cuadro N° 22) en la que se observa al grupo tratado con diazepam, como el grupo que presenta diferencia estadística respecto al grupo control y el que ocupa mayor distancia en cuanto a sus promedios y varianzas, en cuanto al grupo que recibió una dosis de 1000mg/kg, también presenta diferencia estadística con relación al control, sin embargo se sitúa por debajo del grupo farmacológico; en cuanto al grupo tratado con la dosis baja de 250 mg/kg ocupa un lugar inferior y estadísticamente comparable al grupo control. En cuanto a esta etapa de evaluación que evalúa la conducta exploratoria del animal es el grupo tratado con 1000 mg/kg el que presentó mayor eficacia en lo referente a este método.

CUADRO N° 23

FRECUENCIA DE POSICIÓN ERGUIDA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO

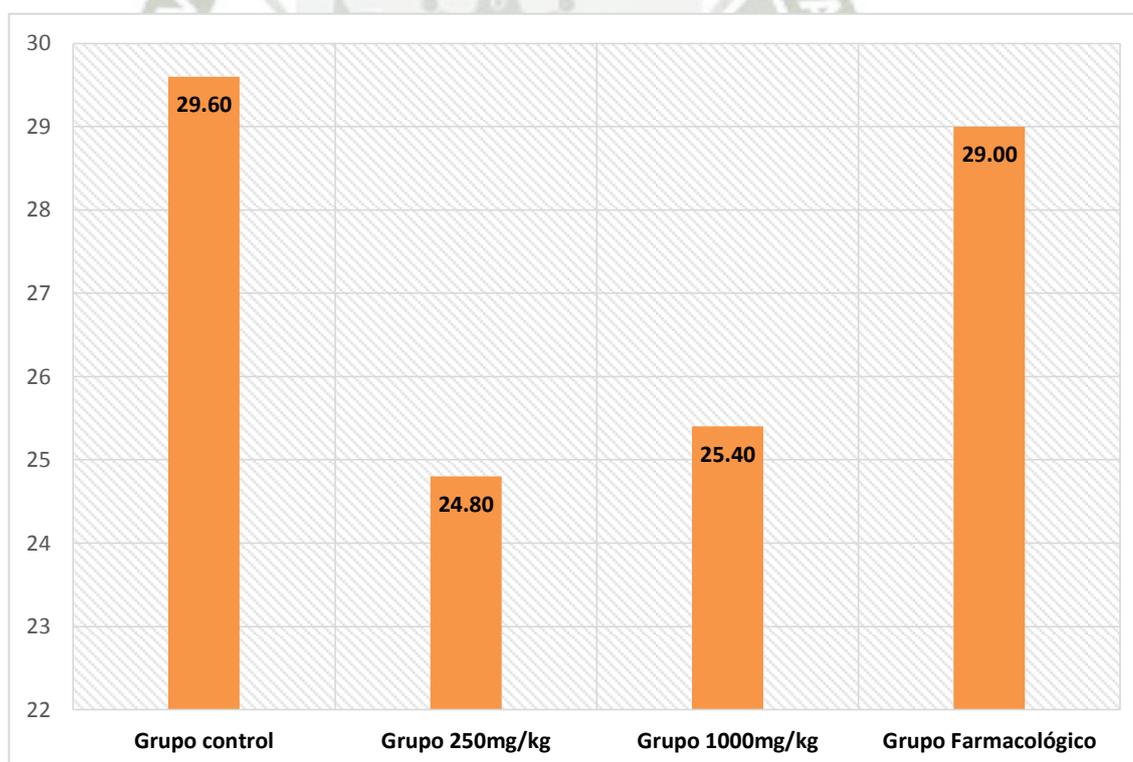
Grupo Experimental	N	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Grupo control	5	29.60	3.97	31.00	23.00	33.00
Grupo 250mg/kg	5	24.80	3.03	25.00	21.00	29.00
Grupo 1000mg/kg	5	25.40	3.91	26.00	19.00	29.00
Grupo Farmacológico	5	29.00	1.87	28.00	27.00	31.00

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

* LA FRECUENCIA SE EXPRESA EN SEGUNDOS

GRÁFICA N° 7

PROMEDIO DE FRECUENCIA DE POSICIÓN ERGUIDA PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

Figura N° 22: Evaluación de la frecuencia de posición erguida para el método de campo abierto



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Dentro del Método de campo abierto también se consideró la medición del tiempo de Posición Erguida (Cuadro N° 23) que es la frecuencia en la que el animal adopta la posición bípeda, es decir, parado sobre sus patas traseras con ayuda de la cola, medido en frecuencia o número de veces (Figura N° 22). Los resultados (Grafica N° 7) indican al grupo que presentó mayor promedio de frecuencia de posición erguida corresponde al grupo control, seguido del grupo farmacológico con 29.00 de frecuencia, luego el grupo que recibió extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a una concentración de 1000 mg/kg con un promedio de frecuencia de posición erguida de 25.40 veces, el grupo con dosis baja un promedio de 24.80 veces.

CUADRO N° 24

ANOVA PARA LA FRECUENCIA DE POSICIÓN ERGUIDA* PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	90.000	3	30.000	2.740	0.078
Dentro de grupos	175.200	16	10.950		
Total	265.200	19			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*LA FRECUENCIA SE EXPRESA EN SEGUNDOS

CUADRO N° 25

**PRUEBA HSD (TUKEY) PARA EL TIEMPO DE POSICIÓN ERGUIDA* PARA EL MÉTODO
DE CAMPO ABIERTO**

Grupo Experimental	N	Subconjunto para alfa < 0.05
		1
Grupo 250mg/kg	5	24.80
Grupo 1000mg/kg	5	25.40
Grupo Farmacológico	5	29.00
Grupo control	5	29.60
Sig.		0.141

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

*EL TIEMPO SE EXPRESA EN SEGUNDOS

La Frecuencia de Posición Erguida (Método de campo abierto) no presenta una diferencia significativa (Sig.=0.078) a un nivel de confianza del 0.05 (Cuadro N° 24), es decir no habría diferencia entre los grupos experimentales en cuanto a sus medias y varianzas, hecho que se confirmó mediante la Prueba HSD o de Tukey (Cuadro N° 25) en la que no se observan diferencias entre los grupos y respecto al control.

CUADRO N° 26

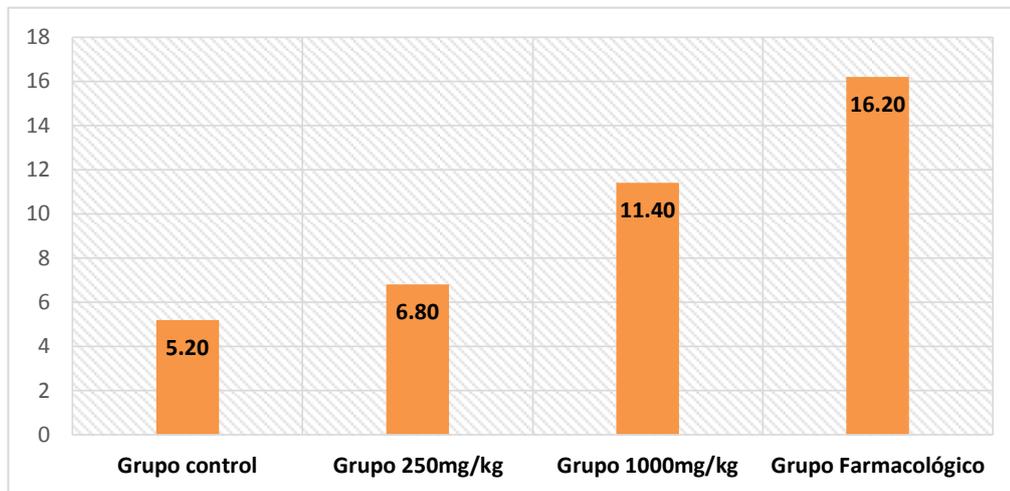
**NÚMERO DE INTROMISIONES EN LOS AGUJEROS PARA EL MÉTODO DE CAMPO
ABIERTO**

Grupo Experimental	N	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Grupo control	5	5.20	0.83	5.00	4.00	6.00
Grupo 250mg/kg	5	6.80	1.78	7.00	5.00	9.00
Grupo 1000mg/kg	5	11.40	1.14	11.00	10.00	13.00
Grupo Farmacológico	5	16.20	1.64	16.00	15.00	19.00

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

GRÁFICA N° 8

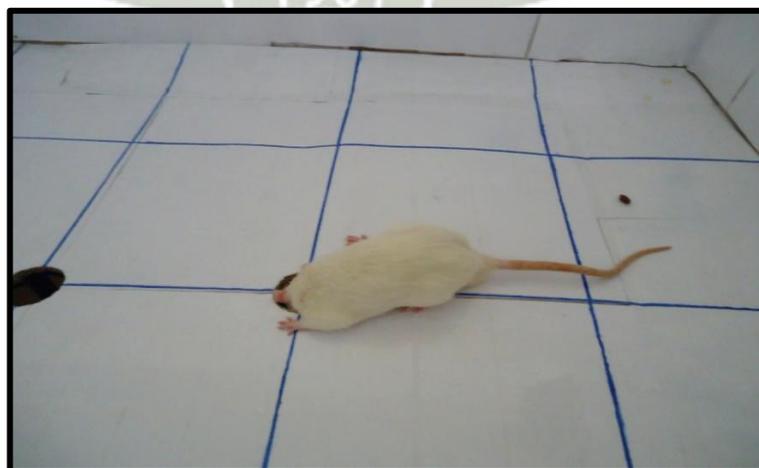
PROMEDIO DE NÚMERO DE INTROMISIONES EN LOS AGUJEROS PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

Otro parámetro que se consideró dentro del Método de campo abierto también fue el número de Intrusiones en los Agujeros (Cuadro N° 26), que es la frecuencia o número de veces en las que el animal introduce totalmente su cabeza en los agujeros centrales. Dicha frecuencia (Grafica N° 8) fue mayor para el grupo farmacológico con 16.20 veces de promedio, seguido del grupo tratado con, extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a una concentración de 1000 mg/kg con un promedio de número de intrusiones en los agujeros de 11.40 veces, luego el grupo con dosis baja con un promedio de 6.80 veces, finalmente el grupo control con 5.20

Figura N° 23: Evaluación de número de intrusiones en los agujeros para el Método de Campo Abierto



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

En la Figura N° 23 se observa al animal de experimentación de la especie *Rattus norvegicus*, introduciendo su cabeza en los agujeros del método de campo abierto.

La intromisión en los agujeros mide básicamente la curiosidad del animal, lo que se favorece cuando la rata se encuentra tranquila y familiarizada con el medio, se considera que la curiosidad es un acto instintivo, pero al enfrentarse a una situación novedosa pueden originar 2 tipos de respuesta: aproximación hacia el estímulo o bien producir una anulación de éste. Se utiliza como indicativo del estado de ansiedad o depresión del animal al evaluar el comportamiento de los psicofármacos sobre el S.N.C ⁽¹⁶⁾

Un estudio realizado sobre el Efecto de la administración del extracto de Justicia Pectoralis sobre la conducta de ratas sometidas a pruebas de comportamiento, en los resultados obtenidos no existe diferencia estadística significativa entre los tres grupos en estudio, lo que implicaría la ausencia de efecto depresor sobre el SNC del extracto de Justicia Pectoralis, ya que se espera que al aumentar el número de intromisiones en los agujeros demuestra un efecto de tipo ansiolítico. La interpretación que se hace de estos resultados, muestra que Justicia pectoralis carece de actividad ansiolítica a diferencia de nuestros resultados en los que si se evidenciaría la actividad ansiolítica del extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja). ⁽²¹⁾

CUADRO N° 27

**ANOVA PARA EL NÚMERO DE INTROMISIONES EN LOS AGUJEROS PARA EL
MÉTODO DE CAMPO ABIERTO**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	368.200	3	122.733	62.143	0.000
Dentro de grupos	31.600	16	1.975		
Total	399.800	19			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

CUADRO N° 28

**PRUEBA HSD (TUKEY) PARA EL NÚMERO DE INTROMISIONES EN LOS AGUJEROS
PARA EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO**

Grupo Experimental	N	Subconjunto para alfa < 0.05		
		1	2	3
Grupo control	5	5.20		
Grupo 250mg/kg	5	6.80		
Grupo 1000mg/kg	5		11.40	
Grupo Farmacológico	5			16.20
Sig.		0.309	1.000	1.000

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

En el Cuadro N° 27 se observa la Frecuencia del número de Intromisiones en los Agujeros centrales (Método de campo abierto) presenta una diferencia significativa (Sig.=0.000) a un nivel de confianza del 0.05, es decir, que existen diferencias significativas entre los grupos experimentales en cuanto a sus medias y varianzas. Y según la Prueba HSD o de Tukey (Cuadro N° 28) el grupo experimental que recibió una dosis de 1000mg/kg de extracto es el que presentó mayor eficacia y es estadísticamente distinto del control, sin embargo, esta eficacia se sitúa por debajo del grupo farmacológico. En cuanto al grupo tratado con la dosis baja de extracto su efecto es similar al grupo control, por lo que en cuanto a este grupo no habría efecto farmacológico a ser considerado.

CUADRO N° 29

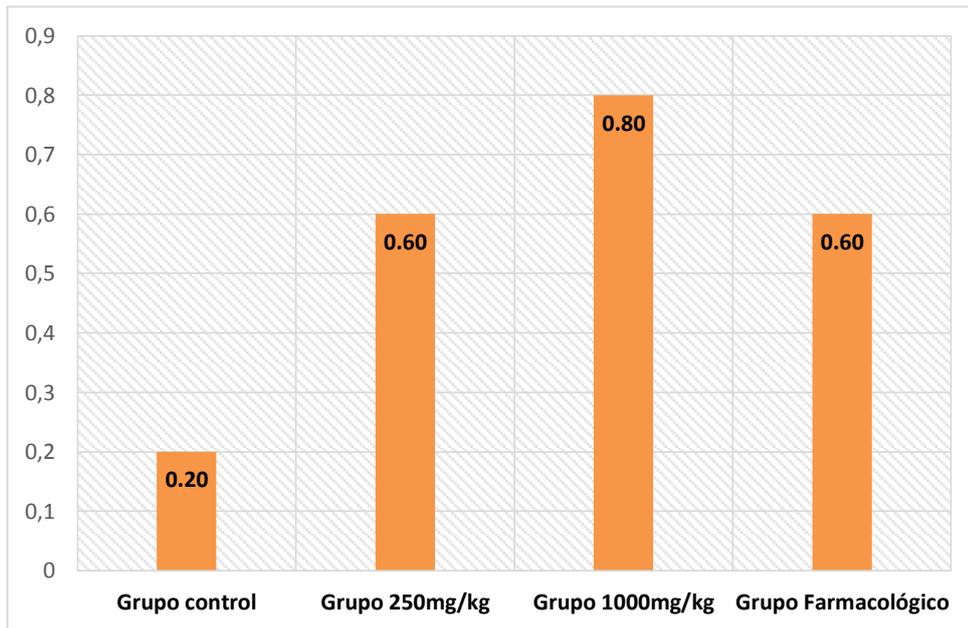
TASA DE DEFECACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO

Grupo Experimental	N	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Grupo control	5	0.20	0.44	0.00	0.00	1.00
Grupo 250mg/kg	5	0.60	0.54	1.00	0.00	1.00
Grupo 1000mg/kg	5	0.80	0.83	1.00	0.00	2.00
Grupo Farmacológico	5	0.60	0.89	0.00	0.00	2.00

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

GRÁFICA N° 9

PROMEDIO DE TASA DE DEFECACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

Figura N° 24: Evaluación de la Tasa de Defecación del Método Campo Abierto



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Según el Método de campo abierto también fue se midió la tasa de defecación (Cuadro N° 29) que es el número de bolos fecales expulsados durante el periodo de evaluación que fue de 10 minutos (Figura N° 24). En el Gráfico N° 9 se observa dicho número fue mayor para el grupo tratado con extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a una concentración de 1000 mg/kg con 0.80 bolos, seguido del grupo farmacológico y el tratado con una dosis baja de extracto ambos con 0.60 bolos, finalmente el grupo control con 0.20 bolos.

CUADRO N° 30

ANOVA PARA LA TASA DE DEFECACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0.950	3	0.317	0.633	0.604
Dentro de grupos	8.000	16	0.500		
Total	8.950	19			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

CUADRO N° 31

PRUEBA HSD (TUKEY) PARA LA TASA DE DEFECACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO

Grupo Experimental	N	Subconjunto para alfa < 0.05
		1
Grupo control	5	0.20
Grupo 250mg/kg	5	0.60
Grupo Farmacológico	5	0.60
Grupo 1000mg/kg	5	0.80
Sig.		0.551

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

En el Cuadro N° 30 se observa la Tasa de Defecación (Método de campo abierto) no presenta una diferencia significativa (Sig.=0.604) a un nivel de confianza del 0.05, es decir no habría diferencia entre los grupos experimentales en cuanto a sus medias y varianzas, hecho que se confirmó mediante la Prueba HSD o de Tukey (Cuadro N° 31) en la que no se observan diferencias entre los grupos respecto al control.

CUADRO N° 32

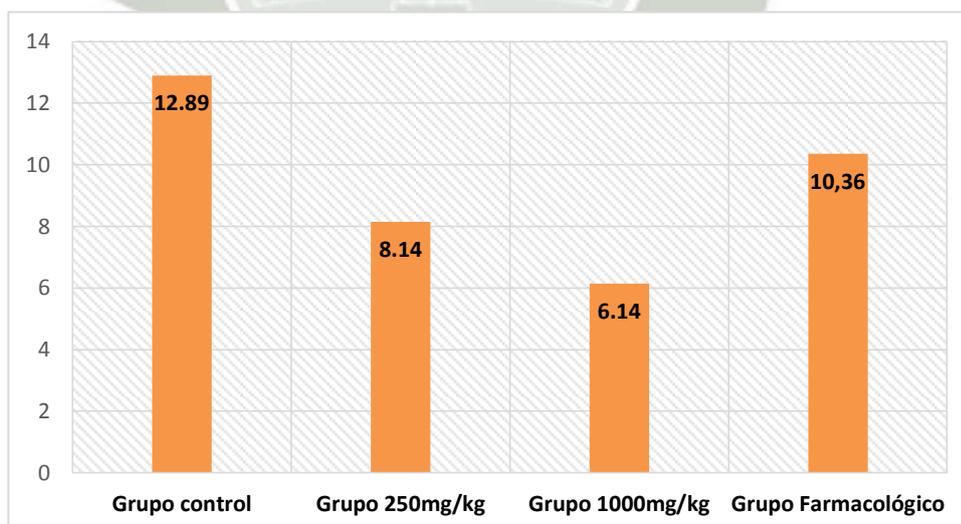
TASA DE ASEO SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO

Grupo Experimental	N	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Grupo control	5	12.89	4.18	11.03	8.59	18.50
Grupo 250mg/kg	5	8.14	2.94	8.01	5.05	11.54
Grupo 1000mg/kg	5	6.14	2.44	6.04	3.00	9.63
Grupo Farmacológico	5	10.36	5.41	9.32	5.77	19.52

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

GRÁFICA N° 10

PROMEDIO DE TASA DE ASEO SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO



FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

Figura N° 25: Evaluación de la Tasa de Aseo del Método Campo Abierto



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Finalmente en el Cuadro N° 32 se observa, el Método de campo abierto se midió la Tasa de Aseo que es el tiempo medido en segundos en el que el animal utilizando su lengua o patas delanteras se acicala o limpia su pelaje (Figura N° 25). En el Gráfico N° 10 se observa dicho número fue mayor para el grupo control con 12.89 segundos, seguido del grupo farmacológico con 10.36, seguidamente del grupo tratado con extracto de *Centranthus ruber* (valeriana roja) a una dosis de 250 mg/kg con 8.14 segundos finalmente el grupo que recibió de 1000 mg/kg de extracto con 6.14 segundos.

CUADRO N° 33

ANOVA PARA LA TASA DE ASEO SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO ABIERTO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	126.589	3	42.196	2.743	0.077
Dentro de grupos	246.149	16	15.384		
Total	372.738	19			

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

CUADRO N° 34**PRUEBA HSD (TUKEY) PARA LA TASA DE ASETO SEGÚN EL MÉTODO DE CAMPO
ABIERTO**

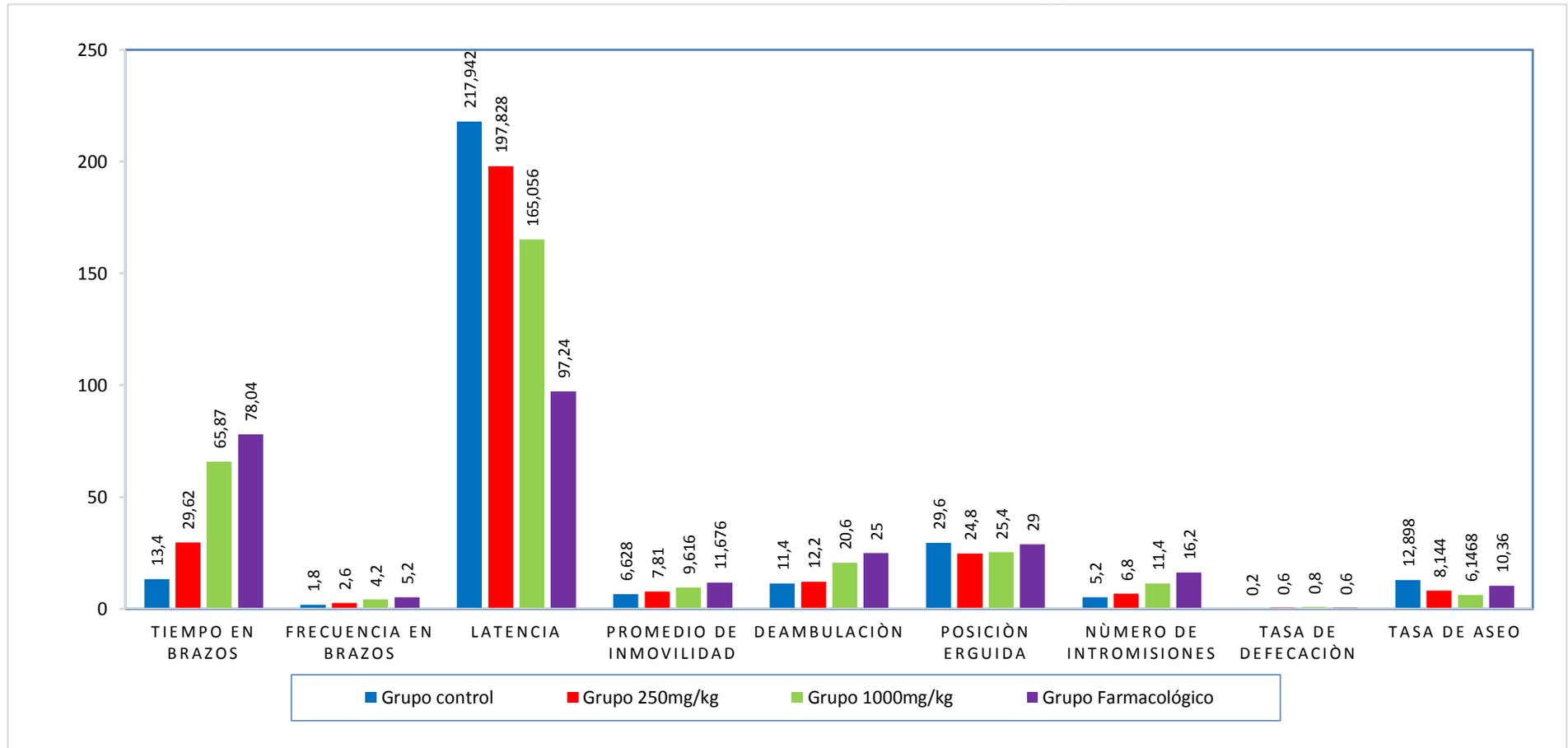
Grupo Experimental	N	Subconjunto para alfa < 0.05
		1
Grupo 1000mg/kg	5	6.1468
Grupo 250mg/kg	5	8.1440
Grupo Farmacológico	5	10.3600
Grupo control	5	12.8980
Sig.		0.065

FUENTE: REGISTRO DE INVESTIGACIÓN PROPIA

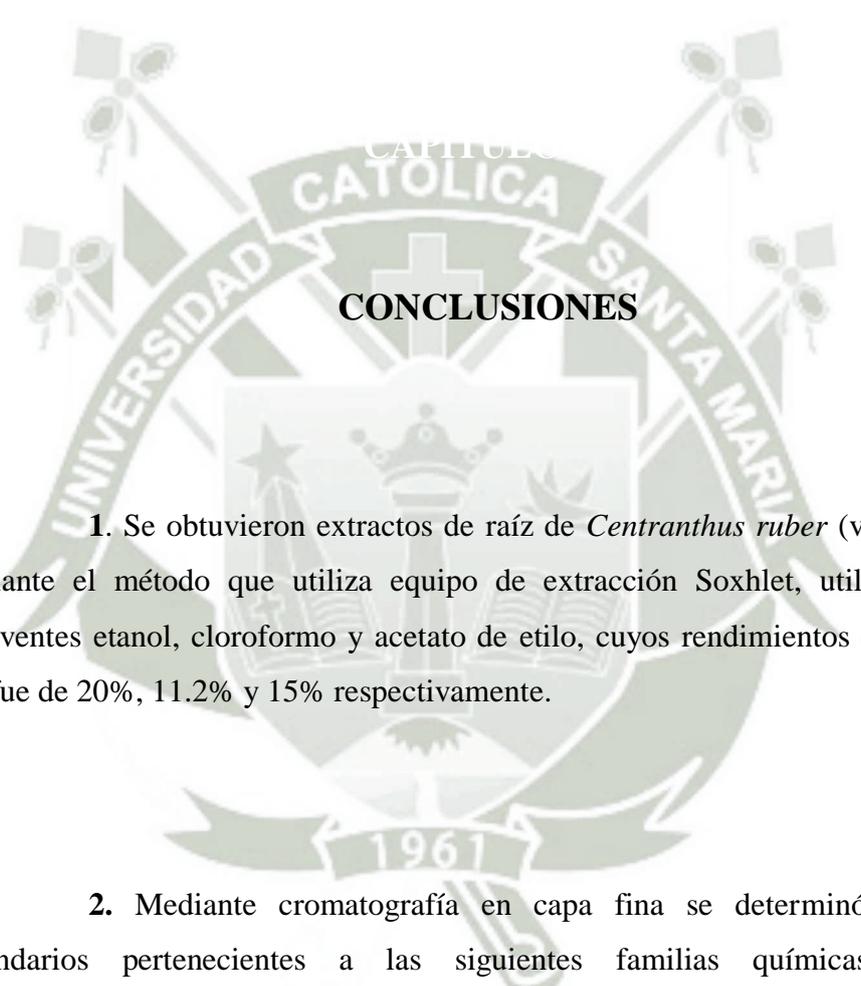
En el Cuadro N° 33 se observa la Tasa de Aseo (Método de campo abierto) no presenta una diferencia significativa (Sig.=0.077) a un nivel de confianza del 0.05, es decir no habría diferencia entre los grupos experimentales en cuanto a sus medias y varianzas, hecho que se confirmó mediante la Prueba HSD o de Tukey (Cuadro N° 34) en la que no se observan diferencias entre los grupos respecto al control.

GRÁFICA N° 11

RESUMEN DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA



CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron extractos de raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) mediante el método que utiliza equipo de extracción Soxhlet, utilizando como disolventes etanol, cloroformo y acetato de etilo, cuyos rendimientos en porcentaje P/P fue de 20%, 11.2% y 15% respectivamente.

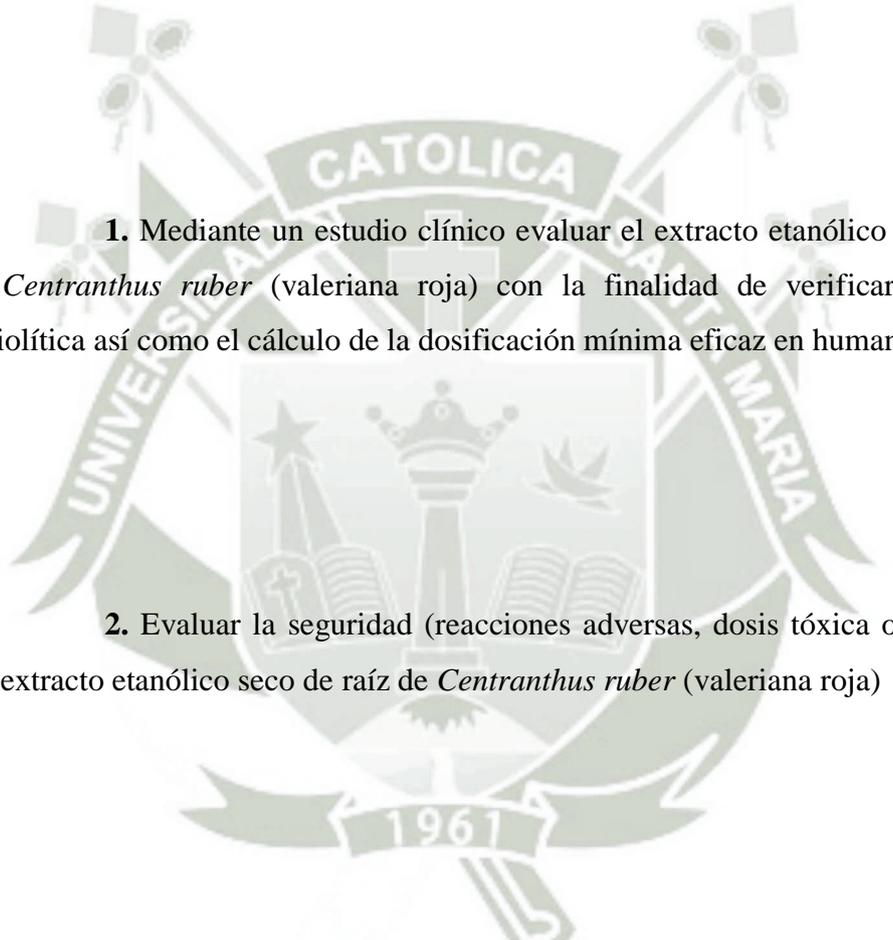
2. Mediante cromatografía en capa fina se determinó metabolitos secundarios pertenecientes a las siguientes familias químicas: Terpenos, sesquiterpenos y taninos. La determinación fue negativa para flavonoides y alcaloides.

3. La evaluación piloto permitió establecer que el extracto etanólico seco de raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) presenta la mayor eficacia.

4. Tras el análisis se concluye que es el extracto etanólico administrado a una dosis de 1000 mg/kg el que tiene mayor efecto ansiolítico, sin embargo, este efecto es menor respecto al grupo farmacológico. Esta intensidad del efecto fue observada en el método de laberinto en cruz alzada, nado forzado y en las pruebas relacionadas al efecto ansiolítico del método de campo abierto (Deambulación externa e intromisiones en los agujeros centrales). Todos a un nivel de confianza del 0.05 bajo el Análisis de varianza y Prueba HSD.



SUGERENCIAS

- 
1. Mediante un estudio clínico evaluar el extracto etanólico seco de raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) con la finalidad de verificar la eficacia ansiolítica así como el cálculo de la dosificación mínima eficaz en humanos.
 2. Evaluar la seguridad (reacciones adversas, dosis tóxica o dosis letal) del extracto etanólico seco de raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja)
 3. Comparar la eficacia ansiolítica del extracto etanólico seco de raíz de *Centranthus ruber* (valeriana roja) con extractos de *Valeriana officinalis* (valeriana).

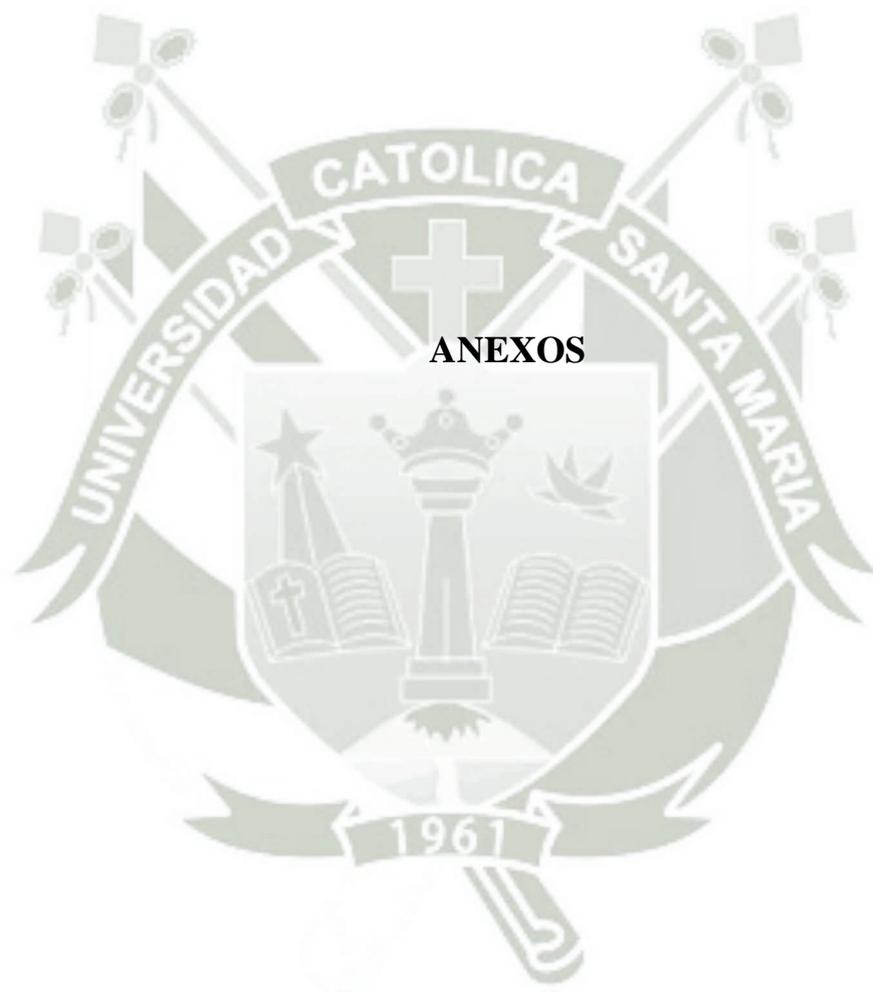
BIBLIOGRAFÍA

1. Aldave A y Mostacero J. Botánica Farmacéutica. 1ª Edición. 1988. Editorial Libertad. Lima, Perú.
2. Alonso J. Tratado de Fitomedicina Bases Clínicas y Farmacológicas. 1ª Edición. 2004. Editorial ISIS. Argentina.
3. Alvarado J. Apuntes de Farmacología. 3ª Edición. 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú. Lima, Perú.
4. Ariza S, Rincón J y Guerrero M. Efectos sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico y fracciones de *Hygrophila tytha* Leonard. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia. 2006.
5. Bonal J. Farmacia Clínica. 1ª Edición. 1999. Editorial SINTESIS S.A.
6. Bonilla J, Santa María A, Toloza G, Espinoza P, Avalos J, Nuñez M y Moreno M. Efecto sedante, ansiolítico y toxicológico del extracto acuoso de flores de *Erythrina berteroana* (pito) en ratones. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Habana. 2014.
7. Bowman C y Rand J. Farmacología Bases Bioquímicas y Patológicas Aplicaciones Clínicas. 2ª Edición. 1984. Nueva Editorial Interamericana. México D.F.
8. Brack A. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. 1ª Edición. 1999.
9. Bravo L. Farmacognosia. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
10. Bruneton J. Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.
11. Carrasco S. Metodología De La Investigación Científica. 1ª Edición. 2005. Editorial San Marcos. Lima, Perú.
12. Cedillo B, Arriaga J y Cruz S. Efectos del contexto en la tolerancia cruzada diazepam - etanol en el laberinto elevado en cruz (LEC). Revista mexicana de análisis de la conducta. México. 2008.

13. Celis T, Rincón J y Guerrero F. Actividad farmacológica sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico y de la fracción alcaloidal de Valeriana pavonii. Rev. colomb. cienc. quim. farm. [revista en la Internet]. 2007 Ene [citado 2014 Oct 25]; 36(1): 11-22.
14. Ciril R. Compendio de Medicina Interna, 2ª Edición. 2002. Ediciones Harcourt S.A.
15. Cseke L, Kirakosyan A, Kaufman P, Duke J and Briemann H. Natural Products From Plants. Second Edition. Taylor and Francis Group. 2006.
16. CYTED. Ciencia y Tecnología para el desarrollo.x. 1ª Reuniao do proyecto X-4. Obtenção de Medicamentos Inovadores com Atividade Anti-Hipertensiva e vasodilatadora através de Validação Orientada de Plantas Mediciniais Iberoamericanas. Recife. 1998.
17. Diaz G y Mora S. Uso de modelos animales en el estudio de plantas medicinales con propiedades ansiolíticas y antidepresivas. Facultad de medicina de Chile. 2012.
18. Duke J. Handbook Of Medicinal Plants Of Latin America. 1ª Edición. CRC Press. 2007.
19. Estrada R, Ubaldo D y Araujo A. Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. Salud Mental [online]. 2012, vol.35, n.5, pp. 375-384. ISSN 0185-3325.
20. Farreras R. Medicina Interna, 13ª Edición. 2003. Editorial Elsevier.
21. Fica S. Efecto de la Administración del extracto de Justicia Pectoralis sobre la conducta de ratas sometidas a pruebas de comportamiento. Tesis, M.V., Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.2005.
22. Flórez J. Farmacología Humana. 5ª Edición. 2008. Editorial Elsevier España.
23. Ganong W. Fisiología Médica. 19ª Edición. 2009. Editorial El Manual Moderno. México.
24. Harman J, Limbirt L y Gilman A. Las Bases Farmacológicas De La Terapéutica, 11ª Edición. 2008. McGraw-Hill Interamericana.

25. Harvey R. & Champe P. (Editors). Pharmacology. 4ª Edición. 2009. Lippincott Edition.
26. Hernández R y Fernández C. Metodología De La Investigación, 5ª Edición, 2010. McGRAW HILL Interamericana Editores.
27. Jans R. Efecto de la Administración del extracto de *Schizanthus grahamii* sobre la conducta en ratas, sometidas a pruebas de comportamiento. Instituto de Farmacología. Universidad Austral de Chile. 2005.
28. Kalant Harold & Roschlau Walter. Principios Básicos De Farmacología Médica. 6ª Edición. 2002. Editorial Oxford University Press. México.
29. Katzung G. Farmacología Básica Y Clínica. 11ª Edición. 2009. Editorial McGraw Hill Interamericana.
30. Kukllinski C. Farmacognosia, Estudio De Las Drogas y Sustancias Medicamentosas De Origen Natural. 1ª Edición. 2000. Ediciones Omega S.A.
31. López F y Álamo C. Historia de la Psicofarmacología. La revolución de la psicofarmacología: sobre el descubrimiento y desarrollo de los psicofármacos. 1ª Edición. 2007. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.
32. López M. Estudio de la actividad ansiolítica y/o sedante potencial de derivados de imidazol [1,2-a] piridina. Escuela nacional de ciencias biológicas. México. 2010.
33. Lorenzo P, Moreno A, Leza J. y Moro M. Velázquez Farmacología Básica Y Clínica. 18ª Edición. 2009. Editorial Médica Panamericana.
34. Makkar H, Siddhuraju L and Klaus Becker. Plant Secondary Metabolites. First Edition. Humana Press. 2007.
35. Marcano D y Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica. 2ª Edición. 2002. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
36. Medina O, Sanchez N, Fraguas D and Arango C. Valeriana en el tratamiento a largo plazo del insomnio. revista.colombiana.psiquiatria. [online]. 2008, vol.37, n.4, pp. 614-626. ISSN 0034-7450.
37. Mostacero J, Mejia F y Gamarra O. Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. 1ª Edición. 2002. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú.

38. Olavarría A. Efecto de la administración de *Passiflora incarnata* y *Passiflora coerulea*, sobre la conducta de ratas sometidas a pruebas de comportamiento. Tesis, M.V., Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. 1999.
39. Olaya P, Lozano C, Botero L, Rincón J y Guerrero M. Evaluation of the acute and subchronic oral toxicity of ethanol extract from *Valeriana pavonii* species in Wistar rats. *Colomb. Med.* [revista en la Internet]. 2010 Sep [citado 2014 Oct 25]; 41(3): 256-266.
40. Ospina J. Fraccionamiento Bioguiado Anticonvulsivante del extracto etanólico de las hojas de *Cecropia peltata* (yarumo). Departamento de Farmacia. Maestría en ciencias Farmacéuticas. Bogota-. 2010.
41. Rang H. & Dale M. *Pharmacology*, 6^a Edition, 2007. Editorial Elsevier.
42. Rejon J, Placer D y Roldan G. Pruebas no condicionados en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas. Universidad de Medicina de Bogota. Colombia. 2011.
43. Salazar A, Goicochea S, Zavala Ernesto, Cazuza Leticia, Lujan Elmer y Pante C. Accion analgésica y neurofarmacologica de las fracciones solubles y no solubles del extracto etanólico de la semilla de *Jatropha curcas L.* Facultad de medicina humana de la Universidad de San Martin de Porres. Lima, Perú. 2014.
44. Thippeswamy BS, Mishra B, Veerapur VP, Gupta G. Anxiolytic activity of *Nymphaea alba* Linn. in mice as experimental models of anxiety. *Indian journal of pharmacology.* 2011;43(1):50-5. Epub 2011/04/02.
45. Tobón F, Gutiérrez G y Mejía M. Evaluación de perfil neurofarmacologico del aceite de *Ulumoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae). Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 2011.
46. Velasco A, Álvarez F. *Compendio de Psiconeurofarmacología*. 1^a Edición. 1988. Ediciones Díaz de Santos S.A. Madrid, España.
47. Villar A. *Farmacognosia General*. 1^a Edición 2000. Editorial Síntesis S.A.
48. Wayne D. *Base Para El Análisis De Las Ciencias De La Salud*. 4^a Edición. 2007. Editorial Limusa S.A. México.



BASE DE DATOS PARA LA EVALUACIÓN PILOTO

Grupos piloto		Frecuencia en zona de brazos abiertos para la evaluación piloto
Grupo control	1	0.00
	2	0.00
	3	0.00
	Total	N
Extracto clorofórmico	1	6.00
	2	5.00
	3	4.00
	Total	N
Extracto etanólico	1	12.00
	2	10.00
	3	14.00
	Total	N
Extracto de acetato de etilo	1	3.00
	2	4.00
	3	3.00
	Total	N
Total	N	12

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

BASE DE DATOS LABERINTO EN CRUZ ALZADA

Grupos Experimentales		Tiempo zona de brazos abiertos (seg)	Frecuencia zona de brazos abiertos
Grupo control	1	0.00	0.00
	2	10.00	2.00
	3	18.00	2.00
	4	22.00	3.00
	5	17.00	2.00
	Total	N	5
Grupo 250mg/kg	1	24.00	3.00
	2	33.00	2.00
	3	30.11	3.00
	4	29.88	2.00
	5	31.14	3.00
	Total	N	5
Grupo 1000mg/kg	1	72.17	4.00
	2	66.87	5.00
	3	68.77	4.00
	4	59.41	4.00
	5	62.15	4.00
	Total	N	5
Grupo Farmacológico	1	79.12	6.00
	2	81.26	5.00
	3	88.41	4.00
	4	75.00	6.00
	5	66.45	5.00
	Total	N	5
Total	N	20	20

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

BASE DE DATOS NADO FORZADO

Grupos Experimentales		Latencia	Frecuencia Inmovilidad	Periodo Inmovilidad	Promedio Inmovilidad
Grupo control	1	248.54	4.00	35.10	8.78
	2	195.65	6.00	20.36	3.39
	3	239.55	5.00	33.59	6.72
	4	200.19	4.00	26.56	6.64
	5	205.78	6.00	45.65	7.61
	Total	N	5	5	5
Grupo 250mg/kg	1	199.65	7.00	47.17	6.74
	2	187.52	6.00	55.82	9.30
	3	201.36	6.00	55.60	9.27
	4	196.25	6.00	45.60	7.60
	5	204.36	7.00	43.00	6.14
	Total	N	5	5	5
Grupo 1000mg/kg	1	155.47	10.00	103.63	10.36
	2	165.21	11.00	100.77	9.16
	3	139.85	9.00	94.12	10.46
	4	175.31	12.00	108.51	9.04
	5	189.44	11.00	99.69	9.06
	Total	N	5	5	5
Grupo Farmacológico	1	108.87	14.00	148.98	10.64
	2	110.41	9.00	135.22	15.02
	3	102.36	10.00	111.44	11.14
	4	68.00	10.00	110.48	11.05
	5	96.56	12.00	126.36	10.53
	Total	N	5	5	5
Total	N	20	20	20	20

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

BASE DE DATOS CAMPO ABIERTO

Grupos Experimentales		Deambulaci3n externa	Posici3n erguida	Intrusiones en los agujeros	Tasa de defecaci3n	Tasa de aseo
Grupo control	1	13.0	29	6	0	18.50
	2	11.0	23	5	0	8.59
	3	11.0	33	4	0	16.05
	4	12.0	31	5	1	10.32
	5	10.0	32	6	0	11.03
	Total	N	5	5	5	5
Grupo 250mg/kg	1	11.0	23	7	1	5.05
	2	15.0	21	5	0	10.67
	3	13.0	25	8	1	11.54
	4	10.0	26	5	0	5.45
	5	12.0	29	9	1	8.01
	Total	N	5	5	5	5
Grupo 1000mg/kg	1	18.0	19	10	0	3.00
	2	19.0	28	11	2	9.63
	3	20.0	25	13	1	5.05
	4	23.0	29	12	0	6.04
	5	23.0	26	11	1	7.01
	Total	N	5	5	5	5
Grupo Farmacol3gico	1	25.0	28	16	0	7.00
	2	26.0	31	15	0	5.77
	3	24.0	27	16	2	10.19
	4	23.0	31	19	1	19.52
	5	27.0	28	15	0	9.32
	Total	N	5	5	5	5
Total	N	20	20	20	20	20

FUENTE: ELABORACI3N PROPIA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA Nº 07-2015-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

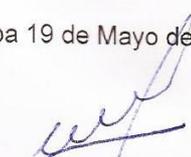
HACE CONSTAR:

Que la planta fresca con tallos y flores presentados por las Bachilleres Nuria Ccahuana Nunoncca y Leyla Karla Llamoca Maldonado Egresadas de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María para la ejecución de su trabajo de Tesis: “Evaluación de la actividad Neurofarmacológica del efecto Ansiolítico de la Raíz de *Centranthus ruber* (Valeriana Roja) en animales de Experimentación. Arequipa. 2015.”. La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, procedente de cultivo en el distrito de Cayma, provincia Arequipa, para determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación según Arthur Cronquist:

- **Division:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Subclase:** Asteridae
- **Orden:** Dipsacales
- **Familia:** Valerianaceae
- **Género:** *Centranthus* DC
- **Especie:** *Centranthus ruber* DC

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen conveniente.

Arequipa 19 de Mayo del 2015


Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
Teléfono: (054) 237755 / 984248674
Apartado Postal: 0028
AREQUIPA – PERÚ