



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

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

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

**“BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO”**

**AUTOR: FABIÁN ERNESTO SILVA MIÑACA**

**TUTORA: DRA. SUSANA ABDO**

**RIOBAMBA-ECUADOR**

**2017**

© 2017, FABIÁN ERNESTO SILVA MIÑACA

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

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

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

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Susana Abdo

**DIRECTORA DE TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

BQF. Diego Vinueza M.Sc

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Ing. Mario Villacrés

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**NOTA TRABAJO ESCRITO**

.....

.....

**DOCUMENTALISTA      SISBIB  
ESPOCH**

Yo, Fabián Ernesto Silva Miñaca soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este proyecto de titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

---

Fabián Ernesto Silva Miñaca

CI. 060334623-0

## **DEDICATORIA**

Dedico esta investigación a mi Madre quien es la persona más importante, mi guía incondicional y por su infinito amor he podido llegar a cumplir esta gran meta.

A mi Hija, Melissa, por ser el eje fundamental y darle un nuevo sentido a mi vida, a mi Esposa, Tatiana, quién me ha sabido entender y apoyar, a su manera, el anhelo de triunfar sin importar los obstáculos que se presenten.

A mi abuelita, A mis tíos y primos por estar siempre presentes y enseñarme que la familia es lo más importante que tiene una persona.

A mis amigos que me apoyaron y aconsejaron en el transcurso de la carrera, tantos buenos y malos momentos que quedarán siempre grabados en mi corazón.

Fabiano

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por brindarme la oportunidad de formarme como profesional.

Dra. Susana Abdo por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección del presente trabajo.

Al BQF. Diego Vinuesa por su Amistad y el gran aporte y ayuda brindada en la elaboración de la investigación.

A mis queridos amigos Martha Guamán y Diego Niquinga quienes son parte fundamental de este trabajo de investigación.

Fabián Silva.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>TAG:</b>	Trastorno de Ansiedad Generalizado
<b>OMS:</b>	Organización Mundial de Salud
<b>GABA:</b>	ácido $\gamma$ -aminobutírico
<b>MAO:</b>	monoamino oxidasa
<b>ISRS</b>	Selectivos de la Recaptación de Serotonina
<b>RIMA:</b>	Inhibidores Selectivos y Reversibles de la Monoaminoxidasa
<b>NaSSA:</b>	Antidepresivos Noradrenérgicos y Serotoninérgicos Específicos
<b>IRNS.</b>	Inhibidores de la Recaptación de Serotonina y Noradrenalina
<b>EPOC:</b>	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
<b>SNC:</b>	Sistema Nervioso Central
<b>APA:</b>	Asociación de Psiquiatras Americanos
<b>CIE:</b>	Clasificación Internacional de Enfermedades
<b>DSM:</b>	Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales
<b>TOC:</b>	Trastorno Obsesivo Compulsivo
<b>TEPT:</b>	Trastorno de Estrés Post- traumático
<b>MHPG:</b>	Metohidroxifenilglicol
<b>BZD:</b>	Benzodiazepina
<b>EPM:</b>	Elevated Plus maze (Laberinto Elevado en Cruz)
<b>OFT:</b>	Open Field Test (Campo Abierto)
<b>msnm:</b>	metros sobre el nivel del mar
<b>TLC:</b>	Cromatografía en Capa Fina

<b>PEG:</b>	polietilenglicol
<b>N°:</b>	número
<b>°C:</b>	grados Celsius
<b>UV:</b>	ultravioleta
<b>nm:</b>	nanómetro
<b>Fm:</b>	fase móvil
<b>Rf:</b>	franja de referencia
<b>FTEQ:</b>	Flavonoides totales expresados como miligramo equivalentes de quercetina
<b>g:</b>	gramo
<b>mg:</b>	miligramo
<b>Kg:</b>	kilogramo
<b>GI/gl:</b>	grados de libertad
<b>Sig:</b>	significancia
<b>min:</b>	minutos
<b>i.p:</b>	intraperitoneal
<b>UV:</b>	Ultravioleta
<b>M:</b>	Molar

## TABLA DE CONTENIDO

<b>PORTADA.....</b>	<b>i</b>
<b>DERECHOS DE AUTOR.....</b>	<b>ii</b>
<b>PÁGINA DE CERTIFICACIÓN.....</b>	<b>iii</b>
<b>DECLARACION DE AUTENTICIDAD.....</b>	<b>iv</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>v</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>TABLA DE CONTENIDO.....</b>	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS.....</b>	<b>xv</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS .....</b>	<b>xvi</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>xvii</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>3</b>
1.1. Antecedentes de la investigación .....	3
1.2. Bases teóricas .....	9
1.2.1. Salud mental.....	9
1.2.1.1. Ansiedad.....	10
1.2.1.2. Etiopatogenia de los trastornos de ansiedad.....	12
1.2.1.3. Causas de los trastornos de ansiedad .....	13
1.2.1.4. Síntomas.....	14
1.3.1.6. Diagnóstico de la ansiedad.....	16

1.3.1.7. Tipos de trastornos de Ansiedad .....	17
1.2.2. Fisiología de la Ansiedad .....	22
1.2.3. Neurobiología de la ansiedad .....	24
1.2.3.1. Estructuras neuroanatómicas de la ansiedad .....	25
1.2.3.2. Neurotransmisores en la respuesta de la ansiedad .....	27
1.2.4. Tratamiento de la ansiedad.....	29
1.2.4.1. Tratamiento no farmacológico .....	30
1.2.4.2. Tratamiento farmacológico .....	31
1.2.5. Género pasiflora .....	39
1.2.5.1. Passiflora manicata (taxo de monte) .....	39
1.2.5.2. Passiflora tripartita .....	41
1.2.6. Modelos animales para el estudio de la ansiedad.....	42
1.2.6.1. Modelos de respuesta condicionada.....	43
1.2.6.2. Modelos de respuesta no condicionada.....	43

## **CAPÍTULO II**

<b>2. MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>45</b>
2.1. Recolección de la materia vegetal .....	45
2.2. Materiales equipos y reactivos.....	47
2.3. Preparación de extractos .....	48
2.3.1. Recolección, lavado, deshidratado de la materia vegetal .....	49
2.3.2. Obtención de extractos liofilizados.....	49
2.4. Métodos y técnicas.....	50
2.4.1. Cromatografía en capa fina (TLC).....	50
2.4.2. Cuantificación de flavonoides.....	51
2.4.3. Determinación de la actividad ansiolítica .....	52
2.4.3.1. Laberinto en Cruz Elevado (EPM).....	53

2.4.3.2.	Cuarto claro/oscuero .....	54
2.4.3.3.	Campo abierto .....	54
2.4.3.4.	Chimenea .....	55

### **CAPÍTULO III**

## **3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....57**

3.1.	Porcentaje de rendimiento.....	57
3.2.	Cromatografía en capa fina (TLC).....	58
3.3.	Cuantificación de flavonoides totales .....	59
3.4.	Evaluación de la actividad ansiolítica .....	60
3.4.1.	Laberinto en cruz elevado (EPM) .....	60
3.4.2.	Cuarto claro/oscuero .....	65
3.4.3.	Campo abierto .....	68
3.4.4.	Test chimenea .....	73

## **CONCLUSIONES.....80**

## **RECOMENDACIONES.....81**

### **BIBLIOGRAFÍA**

### **ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1</b>	Clasificación de Trastornos de Ansiedad según el DSM-IV-TR y la CIE-10: equivalencias.....	13
<b>Tabla 2-1</b>	Las benzodiazepinas y medicamentos similares.....	24
<b>Tabla 1-2</b>	Lista de materiales, equipos, reactivos .....	47
<b>Tabla 2-2</b>	División y codificación de grupos <i>Passiflora manicata</i> y <i>Passiflora tripartita</i> ...	52
<b>Tabla 3-2</b>	Parámetros observados en el modelo de ansiedad .....	55
<b>Tabla 1-3</b>	Porcentaje de rendimiento de hojas de <i>P. manicata</i> y <i>P. tripartita</i> .....	57
<b>Tabla 2-3</b>	Rf obtenidos mediante cromatografía en capa fina.....	58
<b>Tabla 3-3</b>	Rf de posibles compuestos estándares .....	59
<b>Tabla 4-3</b>	Resultados de cuantificación de flavonoides totales.....	60
<b>Tabla 5-3</b>	Número de entradas a brazos .....	60
<b>Tabla 6-3</b>	Porcentaje de tiempo en brazos abiertos, % .....	61
<b>Tabla 7-3</b>	Test Anova para número de entrada a brazos .....	61
<b>Tabla 8-3</b>	Test Anova de porcentaje de tiempo en brazos abiertos .....	61
<b>Tabla 9-3</b>	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de número de entradas.....	62
<b>Tabla 10-3</b>	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de porcentaje de tiempo en brazos abiertos. ....	62
<b>Tabla 11-3</b>	Test t de Student de número de entradas a brazos para comparación de especies de <i>Passiflora</i> .....	64
<b>Tabla 12-3</b>	Test t de Student de porcentaje de tiempo en brazos abiertos para comparación de especies de <i>Passiflora</i> .....	64
<b>Tabla 13-3</b>	Tiempo de permanencia en el cuarto claro, minutos .....	65
<b>Tabla 14-3</b>	Test Anova para el tiempo en cuarto claro .....	66
<b>Tabla 15-3</b>	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en cuarto claro .....	66
<b>Tabla 16-3</b>	Test t de Student de tiempo en cuarto claro para comparación de especies de <i>Passiflora</i> .....	67

<b>Tabla 17-3</b>	Número de cuadros recorridos en campo abierto .....	68
<b>Tabla 18-3</b>	Tiempo en centro de campo abierto, minutos .....	68
<b>Tabla 19-3</b>	Test de Anova para cuadros recorridos en campo abierto .....	69
<b>Tabla 20-3</b>	Test Anova de tiempo en centro de campo abierto .....	69
<b>Tabla 21-3</b>	Test post-hoc Duncan de grupos homogéneos de cuadros recorridos .....	69
<b>Tabla 22-3</b>	Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en el centro .....	70
<b>Tabla 23-3</b>	Test t de Student de cuadros recorridos para comparación de especies.....	71
<b>Tabla 24-3</b>	Test t de Student de tiempo en centro comparación de especies. ....	71
<b>Tabla 25-3</b>	Tiempo que tarda en salir, minutos.....	73

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1</b> Flujograma para el diagnóstico clínico de los trastornos de Ansiedad .....	16
<b>Figura 1-2</b> Punto de recolección de <i>P. manicata</i> .....	46
<b>Figura 2-2</b> Punto de recolección de <i>P. tripartita</i> .....	46
<b>Figura 1-3</b> Cromatografía en capa fina (CCF) para flavonas glicosiladas .....	58

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.2</b> Esquema para la determinación de dosis efectiva para actividad ansiolítica.....	48
<b>Gráfico 2-2</b> Flujograma para la obtención de extractos .....	49
<b>Gráfico 3-2</b> Flujograma de cromatografía en capa fina (TLC) .....	50
<b>Gráfico 4-2</b> Flujograma para la cuantificación de flavonoides totales.....	51
<b>Gráfico 5-2</b> Flujograma para evaluación de la actividad ansiolítica .....	53
<b>Gráfico 1-3</b> Medias de número de entrada a brazos .....	63
<b>Gráfico 2-3</b> Medias de porcentaje de tiempo en brazos abiertos.....	63
<b>Gráfico 3-3</b> Medias de tiempo en cuarto claro .....	67
<b>Gráfico 4-3</b> Medias de cuadros recorridos en campo abierto.....	70
<b>Gráfico 5-3</b> Medias de tiempo en el centro .....	71
<b>Gráfico 6-3</b> Medias de tiempo que tarda en salir .....	74

## ÍNDICE DE ANEXOS

**Anexo A.** *Passiflora manicata* silvestre

**Anexo B.** Bioterio ESPOCH

**Anexo C.** Lecho de animales de experimentación

**Anexo D.** Hojas desecadas de *Passiflora*

**Anexo E.** Molienda de hojas desecadas

**Anexo F.** Filtración

**Anexo G.** Eliminación de solvente

**Anexo H.** Formación de cristal eutéctico

**Anexo I.** Liofilización de extractos

**Anexo J.** Extractos liofilizados

**Anexo K.** Cromatografía de especies *Passiflora*, observado UV

**Anexo L.** Extracto liofilizado reconstituido en

**Anexo M.** Administración del extracto liofilizado a ratones

**Anexo N.** Laberinto Elevado

**Anexo O.** Campo Abierto

**Anexo P.** Chimenea

## RESUMEN

El incremento de trastornos mentales relacionados a la ansiedad colocaron como objetivo de la investigación la determinación de dosis efectivas de los extractos etanólicos de Taxo de monte *Passiflora manicata* y Taxo común *Passiflora tripartita* en ratones *Mus musculus* por administración oral; estudio que se realizó dentro del Laboratorio de Productos Naturales y Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. El material vegetal fue recolectado, se secado, extraído con etanol 85% y liofilizado. La parte flavónica de cada extracto fue analizada por cromatografía en capa fina (TLC) y cuantificada espectrofotométricamente en el UV. La actividad ansiolítica fue evaluada en 60 ratones agrupados cinco por grupo, se les administró cinco dosis de extracto (25, 50, 100, 200, 300 mg/kg) una por grupo, un grupo blanco (propilenglicol 15%) un grupo control (clonazepam 0,5mg/kg). La actividad ansiolítica fue evaluada con test laberinto en cruz elevado (EPM), campo abierto (OFT), cuarto claro/oscuro y actividad miorrelajante (chimenea). Los parámetros medidos fueron: número de entradas a brazos, porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en cuarto claro, número de cuadros recorridos, tiempo en el centro, tiempo que tarda en salir de la chimenea. El porcentaje de extracción de hojas secas de *P. manicata* fue de 4,22% y *P. tripartita* 5,01 %. Por TLC se identificaron schaftoside y apigenina en extracto de *P.manicata* y en *P. tripartita* la isovitexina e isoorientina. El extracto liofilizado de hojas de *P. manicata* contiene  $661,667 \pm 3,803$  FTEQ /g de flavonoides y el de *P. tripartita* de  $157,529 \pm 2,897$  FTEQ/g. En conclusión la dosis con mayor actividad ansiolítica del extracto liofilizado de *P. manicata* fue de 300 mg/kg y 25 mg/kg para *P. tripartita*; constituyéndose en dosis eficaces para tratamiento de ansiedad en ratones. Se recomienda un estudio farmacológico más específico con receptores.

**Palabras Clave:** <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <FARMACOLOGÍA>, <EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES>, <ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA>, <TEST DE EVALUACIÓN ANSIOLÍTICA>, <TAXO DE MONTE (*Passiflora manicata*)>, <TAXO COMÚN (*Passiflora tripartita*)>, <RATONES (*Mus musculus*)>.

## ABSTRACT

The increase of mental disorders related to anxiety were the objective of the investigation to determine the effective doses of the ethanol extracts of wild Taxo *Passiflora manicata* and common Taxo *Passiflora tripartite* in *Mus musculus* mice by oral administration. This was a study, which was carried out in the Laboratory of natural products and vivarium of Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. The plant material was collected, dried, extracted with ethanol 85% and lyophilized. The flavonic part of each extract was analyzed through Thin Layer Chromatography (TLC) and quantified spectrophotometrically in the UV. The anxiolytic activity was evaluated in 60 mice grouped in five per group. It was administered five doses of extract (25, 50, 100, 200, 300 mg/kg) one per group. A white group (propylene glycol 15%) a control group (clonazepam 0.5 mg/kg). The anxiolytic activity was evaluated with Elevated plus maze (EPM), open field test (OFT), light/dark room and muscle relaxant activity (chimney). The measured parameters were the following: number of entrances to arms, percentage of time in open arms, time in clear room, number of squares traversed, time of staying in the center, time that it takes to leave the chimney, The percentage of dry leaves extraction of *P. manicata* was 4.22% and *P. tripartite* 5.01%. By Thin Layer Chromatography TLC were identified Schaftoside apigenin in extract of *P. manicata* and in *P. tripartite* the isovitexin and isoorientin. The lyophilized extract of *P. manicata* leaves contains  $661,667 \pm 3,803$  FTEQ/g flavonoids and the *P. tripartite*  $157.529 \pm 877$  FTEQ/g. In conclusion, the dose with higher anxiolytic activity of the lyophilized extract of *P. manicata* was 300 mg/kg and 25 mg/kg for *P. tripartite*; constituting effective doses for the treatment of anxiety in mice and it is suggested a more specific pharmacological study with receptors.

Keywords: <TECHNOLOGY AND ENGINEERING SCIENCES>, <PHARMACOLOGY>, <FLAVONOID EXTRACTION>, <ANXIOLYTIC ACTIVITY>, <ANXIOLYTIC EVALUATION TEST>, <WILD TAXO (*Passiflora manicata*)>, <COMMON TAXO (*Passiflora tripartite*)>, <MICE (*Mus musculus*)>

## INTRODUCCIÓN

El incremento de los trastornos mentales en Latinoamérica y el Caribe se ve acrecentado en los últimos años por el ritmo de vida que se está llevando, siendo esta la principal causa del padecimiento de este tipo de anomalías en la salud, viéndose un desbalance significativo debido a que dichos trastornos no reciben atención temprana por el desconocimiento de la población en referencia a la existencia de tratamientos para este tipo de aberración. (Khon , y otros, 2010)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) aprecia que alrededor de 450 millones de personas alrededor del mundo sufren algún tipo de trastorno mental, siendo entre otros indicadores estresantes como el campo familiar, educativo, laboral y social; en el caso del último citado las cifras son superiores debido a la situación actual y al desabastecimiento de los servicios de salud para cubrir esta problemática, cuyos datos muestran su existencia dentro de la sociedad a nivel de la salud mental. (Khon, 2014)

Así, la OMS comprobó que el trastorno de ansiedad generalizada en 14 países en lo que se refiere a atención primaria posee una prevalencia del 12%. Manteniéndose una elevada morbilidad al no ser eficazmente tratados y claramente diagnosticados. Trastornos de carácter mental aumentan cerca del 50% al año, viéndose afectado el 10% de la población mundial. (OMS, 2013)

La ansiedad, un hábito normal y emocional, mantiene en equilibrio al ser humano, activando operaciones de defensa, desarrollando la personalidad, contribuyendo al alcance de metas y elevando la conducta y el trabajo. En niveles incrementados, llega a ser perjudicial obteniendo así variedad de enfermedades relacionadas a ella. El término ansiedad cita a un estado momentáneo de angustia, pánico que consecuentemente acarrearán estrés. Su tratamiento va desde psicoterapia a un tratamiento farmacológico con el objetivo de aliviar y de cierta forma eliminar síntomas, evitando algún tipo de recaídas y posteriores secuelas. (Reyes-Ticas, 2016, p. 9)

Una de las vías más usadas para el tratamiento de este tipo de trastornos es la utilización de ansiolíticos y dentro de ellos un grupo de fármacos conocidos como Benzodiazepinas (BDZ) Los siendo el Alprazolam el medicamento de mayor comercialización y los antidepresivos más comunes son los ISRS con fluoxetina encabezando esta lista, estos grupos de fármacos generan

efectos adversos que se presentan como: somnolencia, alteraciones de la memoria, de la atención y de la concentración, dependencia (adicción); razón por la cual su uso está estrictamente controlado y no es de fácil acceso para el común denominador, y tolerancia (pérdida progresiva de efectividad) llamado “rebote” el cual aparece cuando el tratamiento se ve interrumpido regresando al individuo el trastorno de ansiedad con más fuerza y por consiguiente necesitándose una dosis de BZD mucho más concentrada. (American Psychological Association, 2010)

El hombre desde tiempos remotos ha recurrido al uso de plantas, dándoles a éstas usos que van desde mitigar el hambre hasta tratar enfermedades. Actualmente, el uso de plantas medicinales es considerado parte de la medicina tradicional, existiendo un creciente interés por el uso de medicamentos de origen herbolario en países desarrollados y en vías de desarrollo. (Villar y Villavicencio, 2001, p.9)

Para ello la investigación en productos naturales para su aplicación terapéutica posterior en fitofármacos, es una alternativa que contribuye al buen vivir de la población en nuestro país, permitiendo disminuir la importación de medicamentos químicos y promoviendo la autosuficiencia. (Waizel, 2011, pp.61-75)

Es por esto que la búsqueda de tratamientos alternativos y la utilización de productos naturales se ve encaminada a la disminución de los efectos no deseados obtenidos con el uso de medicamentos de origen sintético, así plantas de la familia *Passifloraceae* son utilizadas empíricamente por poblaciones que consideran su uso como un calmante dando indicios hacia especies de esta familia que poseen cierto efecto ansiolítico. Especies como la *Passiflora manicata* que se halla principalmente en la zona subtropical de la provincia de Chimborazo, creciendo en forma silvestre a un lado de la carretera cerca al cantón Pallatanga y *Passiflora tripartita* típica de la zona andina de la misma provincia, encontrada a veces hasta como una planta ornamental en fachadas de algunas casas, crece en este tipo de clima, actualmente voluble de la región sierra del Ecuador.

Este estudio de investigación tiene como objetivo la determinación de la dosis efectiva para actividad ansiolítica del extracto etanólico de hojas de *Passiflora manicata* y *Passiflora tripartita* en ratones *Mus musculus*; utilizando modelos de análisis de comportamiento y actividad en distintos tipos de laberintos como: Laberinto Elevado, Campo abierto, Cuarto Claro-Oscuro, Chimenea.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes de la investigación

Desde principios del siglo XX ha incrementado el interés por la ansiedad dentro de la literatura psicológica siendo considerada como una respuesta emocional paradigmática, investigación realizada en el ámbito de las emociones. Estas investigaciones han venido desarrollándose a lo largo de la historia con problemas fundamentales como: la tergiversación conceptual del constructo de ansiedad y las dificultades metodológicas necesarias para poder ser abordado. Ciertos problemas dieron lugar a que las distintas corrientes psicológicas como la psicodinámica, la psicología humanista, existencial, conductista, psicométrica y, las más recientes, la psicología cognitiva y cognitivo-conductual abarquen la ansiedad, las similitudes y diferencias con otras significaciones, dada la confusión en gran magnitud con terminología como la angustia, el estrés, temor, miedo, tensión, entre otros. Siendo esta confusión conceptual objeto de diversos estudios. (Sierra, et. al, 2003 pp 10-59)

En el siglo XVIII, el fisiólogo Escocés William Collen citó el término ansiedad para poder describir una afección o aflicción al sistema nervioso y distanciarla de la conocida en ese entonces como neurosis ansiosa con la cual era habitualmente confundida y que tiempo después fue denominada como alteración por ansiedad. (Cordoba, et. al, 2005, pp. 7-10)

El término ansiedad proviene del latín “anxietas” que quiere decir angustia, aflicción, una respuesta o conjunto de respuestas emocionales que abarcan aspectos no placenteros o desagradables a nivel cognitivo o subjetivo, distinguidos por un alto grado de activación del sistema periférico y con conductas poco convenientes y adaptativas. (Delgado, F. 2009)

La ansiedad, un sistema de alerta del organismo frente a situaciones consideradas como amenazantes, está relacionado con la percepción de amenaza y con la disposición de respuestas frente a ella, teniendo como principal función el advertir y activar al organismo, así como de activarlo ante probables o reales situaciones, haciendo que pueda salir sin problemas de ellas. (Lozano, A. 2013)

Los trastornos de ansiedad comprenden un grupo de patologías caracterizadas en su mayoría por la presencia de preocupación, miedo o temor desmedido, tensión o activación, provocando un notable malestar o clínicamente, un deterioro significativo en la actividad del individuo. (Masson, 2004, pp.78-94)

El Manual de Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-I) en su primera edición de 1952, incluía reacciones fóbicas, obsesivas y de ansiedad. En 1895 con la influencia de Sigmund Freud comienza a desarrollarse conceptos de neurosis y ansiedad. (Tonina Seres, 2010 pp. 5-8)

Freud, padre del psicoanálisis, comprendió a la ansiedad como señal de peligro proveniente de los impulsos de cada individuo. Posteriormente la DSM-III diferenció a la angustia y ansiedad generalizada. La actual Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE) incluye a los trastornos de ansiedad dentro de trastornos neuróticos relacionados con el estrés incluyendo fobias, estados de ansiedad. (Tonina Seres, 2010 pp. 5-8)

La ansiedad es considerada como un período negativo emocional con estados de nerviosismo, preocupación y aprehensión, relacionadas con el “Arousal” o nivel de activación del organismo que según Gill (1986) se define como “la intensidad de la conducta”, yendo desde un íntimo sueño por un lado hasta una elevada excitación por el otro. (Malmo, 1959)

Por ello la ansiedad se compone de: la ansiedad cognitiva que es el elemento de pensamiento (preocupación y aprehensión) y la ansiedad somática, que aborda al grado de actividad física que se percibe. (Tipos de Ansiedad, 2013, URL: <http://ansiedad.comocombatir.com/tipos-de-ansiedad>)

Al parecer, la interacción de múltiples determinantes favorece la aparición de trastornos de ansiedad, factores biológicos que como alteraciones de los sistemas neurobiológicos gabaérgicos y serotoninérgicos, en el sistema límbico anomalías estructurales (córtex paralímbico), el cerebro, una de las regiones más afectadas, además de estas alteraciones físicas hay un aumento en el uso recurrente de medicinas, alcohol, drogas, etc; además, es muy común la comorbilidad con otros trastornos mentales como los trastornos del estado de ánimo. (Lobo A, Campos R, 1997, pp. 59-67); (Nadal M, Martín-Santos, 2001, pp. 51-67); (Hettema JM, 2001, pp. 145-178)

En los factores psicosociales de riesgo para estos trastornos están: el estrés, el ambiente familiar, las experiencias dañinas de vida y el exceso de preocupaciones tratándose de temas cotidianos, elementos predisponentes e influyentes en relación a las características de la personalidad. (McIntosh A, Cohen A, 2004, pp. 47-89)

Desde comienzos del siglo XX la ansiedad era tratada farmacológicamente con el hidrato de cloral, anfetaminas, previo a los primeros antidepresivos las herramientas farmacológicas eran extremadamente limitadas. A partir del año de 1950 se empiezan a desarrollar ciertos antidepresivos tricíclicos (ADT), barbitúricos que fueron utilizados para inducir el sueño y en cierto modo como sedantes. Debido al estrecho margen que presentaba entre dosis útil y dosis letal iniciaron las investigaciones para poder descubrir nuevas sustancias medicamentosas útiles y seguras para este fin. (Ashton, 2002)

En el ocaso de los años 50's también aparecieron la hidroxicina y la benzocetamina utilizados como ansiolíticos, así como los neurolepticos en dosis disminuidas, dando inicio a campañas en contra de la utilización masiva de BZD porque poseían efectos contraproducentes tales como: la tolerancia, la dependencia y el síndrome de abstinencia, por lo que la investigación de nuevas sustancias ansiolíticas se veía como prioridad, y de ahí el apareamiento de compuestos como la buspirona, que presentaba un efecto mucho menos eficaz. (Idrobo, T., 2016, p. 20)

La década de 1960 las benzodiazepinas tenían el primer lugar dentro del tratamiento de cuadros de ansiedad. Tanto fue su apogeo que se extendió rápidamente su consumo, originando así el calificativo de "píldoras de la felicidad". A principios de la década de los 70's, los beta-bloqueantes se añadieron en el conjunto terapéutico de cardiólogos y psiquiatras. En 1977 las investigaciones que relacionaban la ansiedad y las benzodiazepinas presentaron un sustancial

incremento cuando se descubrió la presencia de los receptores de estas sustancias en el cerebro de los animales de experimentación. (Idrobo, T., 2016, p. 20)

James-Lagen, en una de sus teorías, refiere el rol del sistema nervioso autónomo en el apareamiento de la ansiedad, donde se utilizaron este tipo de fármacos. Posterior a la investigación de la participación del sistema nervioso central (SNC) en la ansiedad, fue bajando cada vez más su utilización, pese a que hoy en día son considerados más eficaces que las benzodiazepinas cuando tratándose de cuadros clínicos que tienen el predominio de las manifestaciones somáticas. (Lagen et al, 2005, p. 718-724)

En la década de 1970, se constató que ciertos tipos de antidepresivos tricíclicos e inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO) tenían efectivos resultados dentro del tratamiento de trastornos de pánico, además un antidepresivo tricíclico conocido como la clomipramina, respondía eficientemente en el tratamiento del trastorno obsesivo-compulsivo. De esta manera se comenzaron las observaciones hacia algunos antidepresivos que se disfrazaban con los ansiolíticos para el tratamiento de ciertas subclases de trastornos de ansiedad o en los cuadros de ansiedad-depresión. (Zubiri, 2011)

La década de 1980 trajo varios avances en cuanto a la tratamiento farmacológico de trastornos afectivos se refería, así: Los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRS), Los Inhibidores Selectivos y Reversibles de la Monoaminoxidasa (RIMA), Los Antidepresivos Noradrenérgicos y Serotoninérgicos Específicos (NaSSA), Los Inhibidores de la Recaptación de Serotonina y Noradrenalina (IRNS) y agentes que combinan la inhibición de la recaptación de serotonina con el bloqueo de los receptores postsinápticos 5-HT<sub>2</sub> (nafazodona). (Salazar et al, 2010, pp. 128-130)

Para la década de 1990, la clasificación de antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (ISRS) se los fue considerando como preferidos de primera línea para el tratamiento de ciertas categorías de los trastornos de ansiedad, que iban desde el trastorno obsesivo-compulsivo hasta el trastorno de pánico y últimamente para la fobia social y el trastorno de estrés postraumático. Sin embargo, de todos los antidepresivos la mayoría no son ansiolíticos eficaces debido a que la desipramina y el bupropión, al parecer resultan de poca ayuda en varias subclases del trastorno de ansiedad; así, la venlafaxina se ha convertido como uno de los primeros

fármacos aprobados para tratar dentro de la depresión al estado de ánimo y también el trastorno de la ansiedad generalizada. (Zubiri, 2011)

La utilización de diversas clases de medicación han tenido siempre a las benzodiacepinas como la primera elección, aunque estos fármacos presentan una variedad de efectos adversos siendo los más severos: La excesiva sedación que es una manifestación agravada, La dosis-dependiente, uno de los efectos básicos sedativos e hipnóticos de las BDZ con síntomas que van desde: somnolencia hasta falta de concentración y coordinación, la debilidad muscular, los mareos y la confusión mental. (Ashton, 2002)

Por ende el uso de terapias alternativas, con productos herbáceos y drogas naturales ha sido reactivada, dicha medicina popular que está basada en el uso de plantas medicinales ha presentado adelantos significativos en las últimas décadas para el tratamiento y/o alivio de ciertos trastornos, traduciéndose en el aumento de productos herbolarios de cuyo efecto terapéutico se ha comprobado mediante modelos experimentales. En la segunda mitad del siglo pasado los modelos animales se han venido utilizando para el tamizaje de plantas seguras y convincentes; permitiendo la validación de productos anteriormente desarrollados. (Rejón-Orantes et al, 2011, p. 80)

La *Valeriana officinalis* (Valeriana), una de las plantas más utilizadas con este fin, se remonta a la antigüedad, donde en literatura ya se encuentran descripciones de autores clásicos como Dioscórides, Hipócrates o Galeno. Dioscórides, médico, farmacólogo y botánico de la antigua Grecia la describió dentro de su Libro I “Remedios y Plantas Naturales” refiriéndose a ella como la Gran Valeriana y el autor la utilizaría para el tratamiento de epilepsia. En épocas más actuales encontramos indicios al valor curativo de la planta, un claro ejemplo lo podemos citar de los escritos de Fabius Colonna (1567) naturista y botánico italiano, que mencionaba que ella funcionaba como remedio para combatir la epilepsia, uso que se lo dio a lo largo de los años 1500, después ya para 1912, Chevalier, un botánico francés, propuso al aceite esencial como causante principal de la actividad sedante que alcanza la raíz de la Valeriana. Durante la II Guerra Mundial la rigidez nerviosa producida por los bombardeos y explosiones era tratada con la utilización de esta planta, años más tarde, en 1944 Ukita consiguió aislar de la Valeriana el primer ácido volátil. Después se seguirían realizando varias experimentaciones dirigidas a la confirmación de las propiedades sedantes de la planta. (López y López, 2011)

Otros escritos científicos también han descrito a ciertas plantas con algún efecto ansiolítico y antidepresivo, además la apreciación de que un alto porcentaje de población prefiere el uso de productos “naturales” suponiendo su seguridad; aunque, las plantas también incrementan la posibilidad del apareamiento de efectos adversos así como también la interacción con la medicación. Algunas plantas como la hierba de San Juan, *Hypericum perforatum*, utilizada para tratar la depresión y el Kava-kava, *Piper methysticum*, utilizado como un ansiolítico; han sido ampliamente ensayadas pese a que en su información no es suficiente su efectividad y su seguridad. (Díaz et al, 2012, p. 20)

Estudios del género Passifloraceae se han venido dando desde sus tallos, hojas, flores y frutos, siendo una de las más estudiadas la *Passiflora. Edulis*, la *Passiflora alata*, y la *Passiflora incarnata*, pero pese a esto todavía no se conocen en gran medida los mecanismos con los que estas actúan. Países de América del Sur utilizan el extracto de partes aéreas *Passiflora edulis* en infusión como bebida en el tratamiento de la epilepsia así como relajante muscular y en la fiebre. (Taborda, 2013, p. 27)

Los animales de experimentación han ayudado en el desarrollo de ensayos farmacológicos en el estudio de tratamientos para el insomnio con el uso de plantas medicinales, en Madrid en el año 2008 el Centro de Investigaciones Sobre Fitoterapia, concluyó que el extracto Hidroalcohólico de partes aéreas de *Pasiflora incarnata* al 40%, tuvo actividad en el SNC con disminución significativa de actividad locomotora en el ratón, y en un extracto de flores al 70% hubo una rebaja de hipermotilidad. Además afirman que el extracto Hidroalcohólico en concentraciones de 50% y 100% de *P. edulis* y *P. alata* ha demostrado actividad ansiolítica. (Donoso, A, 2008)

En la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo los estudios que se han realizado con animales de experimentación han mostrado actividad hipertensiva, sin toxicidad; además potenciador del sueño, reductor de la actividad motora y posible efecto analgésico en varias tesis que se han desarrollado con el fin de despejar ciertas dudas dentro de temas relacionados a este tipo de afecciones, comparándolas con tratamientos farmacológicos químicos y tradicionales, trabajos donde se demostró existencia de la actividad ansiolítica en distintos géneros de Pasifloras que en cierta forma pueden ser considerados como conjeturas suficientes para que fármacos tradicionales como el Diazepam sean reemplazados y cierta actividad se la responsabiliza a los flavonoides y alcaloides presentes en las plantas estudiadas, la dosis considerada como la mejor fue a concentraciones de 100% en extractos hidroalcohólicos de hojas y flores. (Idrobo, 2016, p. 23)

La *Passiflora incarnata*, conocida como pasionaria, es otra de las pasifloras ya estudiadas en la investigación “Medicina tradicional: estudios preclínicos de plantas con propiedades ansiolíticas” en México en el año 2011 por Sollano. M, donde se indica que estudios “in vitro” fueron favorables para su efecto inhibitor y en estudios preclínicos de diferentes subclases de ansiedad los monoflavonoides de esta planta demuestran un efecto estimulante y la fracción de fitosteroles induce iguales o mejores efectos ansiolíticos a los generados por el Diazepam. (Sollozo. M, 2011) (Sanabria, 2012, pp. 34,35)

## **1.2. Bases teóricas**

### ***1.2.1. Salud mental***

Para poder conceptualizar correctamente a la salud mental partimos de la definición universal que hizo la OMS de la palabra "salud" que dicta: "Estado de completo bienestar mental, físico y social, y no meramente la ausencia de enfermedad o dolencia". (O.M.S., 1946)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2010, la definió como: “Estado de bienestar en el cual el individuo es consciente de sus propias capacidades, puede afrontar las tensiones normales de la vida, puede trabajar de forma productiva, fructífera y es capaz de hacer una contribución a su comunidad”. (OMS, 2010, URL: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44095/1/9789241547697\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44095/1/9789241547697_eng.pdf))

Afirmando a esta definición de salud mental, implícitamente también estamos aceptando que parte de la evaluación del estado de salud de cualquier individuo también forma parte el estado de salud mental, debido a que no se puede aparentar un óptimo estado de salud y un estado mental pésimo. Por lo tanto, la conceptualización de salud mental así como como la de la salud están estrechamente ligados como algo indisociable. (Pacheco, G., 2009, URL: <http://www.psicomed.net/saludmental.html>)

Siendo una parte indivisible de la salud, la salud mental, aporta significativamente a una buena participación en el ámbito social. Trastornos mentales producen una frecuente comorbilidad y

discapacidad mentales debido a una sustancial carga social y económica, considerándolos la segunda causa de dolencia dentro de la sociedad, con un aumento sin pronóstico. Los problemas mentales abarcan trastornos de ansiedad y relacionada con niveles declarados de incapacidad, disfunción que impacta sustancialmente en el desarrollo laboral y social llegando a ser una condición deshabilitante igual que cualquier otra enfermedad física de consideración. (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2010, p. 21)

La salud mental de cada individuo se ve afectada por una diversidad de factores y experiencias como: la interacción social, estructuras y recursos de la sociedad y también los valores culturales, todas estas determinantes están influenciadas por la vida diaria, la escuela, la familia y el trabajo como experiencia personales que van a ser las que predominen en su salud mental. (Riikonen & Lahtinen, 1997; Lahtinen et. Al, 1999) (OMS, 2004, URL: [http://www.who.int/mental\\_health/evidence/promocion\\_de\\_la\\_salud\\_mental.pdf](http://www.who.int/mental_health/evidence/promocion_de_la_salud_mental.pdf))

Todavía no está claro algún factor que precisamente separe al sujeto mentalmente sano de aquel que no lo está, existiendo toda una variedad de escalas en la salud mental y no hay una descripción certera que pueda tomarse como evidencia de que se la tiene. Por otro lado, ni la ausencia de uno de esos factores puede admitirse como prueba suficiente de la presencia en sí de “enfermedad” mental y cabe recalcar que ningún sujeto mantiene a lo largo de toda su vida condiciones de una “buena” salud mental. (Vailant, 2003, p. 1374) (OMS, 2004, URL: [http://www.who.int/mental\\_health/evidence/promocion\\_de\\_la\\_salud\\_mental.pdf](http://www.who.int/mental_health/evidence/promocion_de_la_salud_mental.pdf))

El bienestar y rendimiento de cada individuo de la sociedad es directamente proporcional a la salud mental, parte fundamental de la salud integral del ser humano que se la relaciona de tal forma que es primordial en el correcto funcionamiento de cada persona, sus familias, países, regiones, englobando el diario vivir de cada hogar, trabajo y cualquier acción de recreación. Específicamente los trastornos de ansiedad se presentan como un conjunto de deficiencias del ánimo; siendo los que más contribuyen a la morbi-mortalidad y afectan más a la economía mundial, y que deberían ser objetivo base dentro del marco de la Salud Pública para mejorar la salud mental y disminuir costes personales y a nivel social de estos problemas de salud mental con la promoción de la salud, prevención de la enfermedad y discapacidad con el tratamiento y su correspondiente rehabilitación de personas afectadas. (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2010, p. 22) (OMS, 2004, URL: [http://www.who.int/mental\\_health/evidence/promocion\\_de\\_la\\_salud\\_mental.pdf](http://www.who.int/mental_health/evidence/promocion_de_la_salud_mental.pdf))

#### *1.2.1.1. Ansiedad*

La ansiedad puede considerarse como un sistema de alerta de un organismo en situaciones consideradas como amenazadoras, debido a que se relaciona con la percepción de amenaza y disposición de respuesta a ella. La ansiedad tiene como objetivo el advertir y generar la activación del organismo, movilizándolo ante situaciones probables o reales, de tal manera que pueda aflorar sin problemas de ellas. (Lozano, A. 2013)

La Clasificación Internacional de enfermedades CIE 10, clasifica como F06.4 trastornos de ansiedad y F41.1 trastorno de ansiedad generalizada. (CIE 10, 2016, URL: [http://www.psicomed.net/principal/cie10\\_indice.html](http://www.psicomed.net/principal/cie10_indice.html))

Según el Ministerio de Salud Pública del Ecuador en el 2012, se lo considera como: “Un trastorno emocional caracterizado por una sensación subjetiva de malestar, de temor no especificado, que el paciente no puede explicar. Acompañado de episodios agudos de pánico, con etiología variada, generalmente en relación con factores exógenos”. Se conoce que probablemente afecta al 5% de la población, particularmente a la población joven. Se ve custodiado frecuentemente de estrés, factor sintomático de naturaleza neurovegetativa. En el paciente geriátrico, la ansiedad se puede presentar como un síndrome o en otros casos asociarse a la depresión o a la demencia. La depresión ansiosa es una manera de manifestación común de la ansiedad en la vejez con un 95% de la población de ancianos en estado depresivo los cuales presentan indicios de ansiedad; la ansiedad en su curso puede desembocar, a corto o largo plazo en depresión. Estos trastornos de ansiedad en general afectan a la población adulta y siendo más comunes en servicios ubicados dentro del primer mundo. Se la diagnostica más tempranamente con una media de 15 años de edad y la prevalencia se ubica entre los 25 y 45 años, obteniéndose que la población femenina es la que más se ve afectada (MSP, 2012) (Idrobo, T., 2016, p.27)

En cuanto a esta predisposición, la población de sexo femenino posee más riesgo que la del sexo masculino para padecer algún tipo de trastorno de ansiedad durante alguna etapa de su vida, teniendo mayor prevalencia en el caso de las mujeres, a excepción en el caso de fobia social, en la que la diferencia entre los grupos es menor. La edad de inicio de los trastornos depresivos es mayor que la de los trastornos de ansiedad, lo que parece indicarnos que la mayoría de las personas durante cualquier etapa de su vida ya sea esta la niñez, adolescencia o primeros años de la vida adulta se nota la presencia de algún tipo de trastorno de ansiedad poseen un riesgo mayor de que esta anomalía evolucione posteriormente a un trastorno depresivo. Por ende un tratamiento

terapéutico de estos trastornos de ansiedad daría lugar a la prevención en la aparición de estos trastornos depresivos. (MSC, 2013) (Idrobo, T., 2016, p. 28)

Independientemente de la dificultad de la adversidad que se haga presente, la ansiedad incita al organismo para que enfrente a los posibles peligros o problemas, haciéndolo escapar de amenazas, situaciones temidas, en busca de algún elemento que le brinde seguridad y protección, pese a que este término no ha sido utilizado de forma categórica ha generado una gran confusión terminológicamente hablando con un conjunto de vocablos tales como: la angustia, el temor, el stress, el miedo, la amenaza, la tensión, la frustración; existiendo así diferencias entre lo que en realidad es la ansiedad y algunos de sus homónimos. (Naranjo, K. y Salazar, J. 2012)

A nivel fisiológico, cognitivo o motor se manifiesta la actividad, no obstante en ciertas ocasiones, es posible que las repuestas de activación de diferente tipo convivan (por ejemplo más activado física que mentalmente o a la inversa), cada persona para cualquier acción necesita una cierta generación de tensión acorde, en trabajos difíciles o de exigencia intelectual, como el estudiar para un examen, exponen su punto extremado en niveles relativamente bajos de estrés, en tanto que otras actividades que precisan resistencia, como el practicar algún tipo de deporte, denotan ese punto más elevado con niveles inclusive más altos de estrés los cuales favorecen la motivación. (Nivel De Activación, Arousal, URL: <http://www.triatlonrosario.com/2011/07/nivel-de-activacion-o-arousal.html>)

#### *1.2.1.2. Etiopatogenia de los trastornos de ansiedad*

Los trastornos de ansiedad fueron considerados como una deficiencia que únicamente se evolucionaba en problemas intrapsíquicos. Actualmente la definición afirma que su origen depende principalmente de factores sociales, traumas previos, incluso determinantes biológicos. Los trastornos en su mayoría de se originan a partir de anomalías genéticas, como derivación de circunstancias estresantes, conductas perturbadoras, asociándolos a todos estos componentes se acerca a la etiología de la ansiedad. (Guamán, M, 2016, p. 9)

La ansiedad como un mecanismo de acomodación o adaptación se la puede considerar como normal ya que no representa problema alguno de salud. No obstante, en algunos casos, cuando este mecanismo funciona de forma defectuosa, origina problemas de salud y en vez de ser de ayuda llega a incapacitarnos nos incapacita. (Chávez. H, 2010)(Idrobo, T., 2016, p. 26)

La población común ocasionalmente acude al uso indistintamente de términos como ansiedad y angustia, y los puede confundir como miedo, temor o fobia. Por desgracia también tenemos la presencia de este fenómeno, algo atenuado, entre los miembros del equipo de salud, los que aparte ya poseen el problema de diferenciar entre la ansiedad normal y/o la patológica, diferenciación que el equipo de salud debe esclarecer al momento de dar un diagnóstico.(Idrobo, T., 2016, p. 27)

#### *1.2.1.3. Causas de los trastornos de ansiedad*

Los elementos cruciales para el apareamiento de la ansiedad que pudieran mencionarse son los factores genéticos, poniendo una predisposición a dicho trastorno, pese a que se desconoce su tributación exacta durante la educación en la infancia y el desarrollo de la personalidad en la adolescencia, mostrando un riesgo mayor en las personas que tienen dificultad para sobrellevar acontecimientos estresantes. Dentro de los principales factores de la enfermedad estarían acontecimientos estresantes, particularmente en aquellos cuyas dificultades están presentes en las relaciones interpersonales, enfermedades físicas y en problemas laborales. Estos trastornos de ansiedad se pudieran hacerse crónicos si existiría su persistencia con acontecimientos estresantes que han sido provocados o la conservación de modos de pensamiento que ocasionen miedo a la presentación de los síntomas, y de esta manera se crearía una ruta sin escape de la ansiedad y el temor a presentarla. (Escamilla, 2011, pp. 5725-5733)

Dentro de las causas que benefician la aparición del trastorno de ansiedad tenemos:

- El Estilo de vida (presión laboral, jornadas de trabajo extenuantes, vida sedentaria, etc.)
- Malos hábitos de sueño (dormir menos de 7 horas con calidad de sueño)
- Alimentación deficiente (endeble nutrición, comidas a destiempo)

- Vicios (alcohol, tabaco)
- Factores fisiológicos (enfermedad que afecten el estilo de vida)
- Predisposición emocional (pesimismo ante condiciones de riesgo, incomodidad autónoma)
- Elementos sociales (rechazo, acoso, baja autoestima, pobreza)

(Romero, M., 2016, pp. 20-21)

#### 1.2.1.4. Síntomas

La diferenciación entre la ansiedad normal no siempre es fácil de separarla de la ansiedad patológica. Un diagnóstico que se ha venido dando es que la ansiedad normal es más bien pasajera y siempre se relaciona a un hecho que puede identificarse, siendo proporcional entre la correlación de estímulo-respuesta y que pocas veces ocasiona repercusiones en el desenvolvimiento laboral y social, en cambio que la ansiedad patológica se perfila contrariamente a la descripción de la ansiedad normal ya que la persona vive un sufrimiento agudo. Se asume que por su presentación irracional la ansiedad es patológica, sea esto por la ausencia del estímulo, la excesiva intensidad en relación al estímulo o injustificadamente tiene una duración prolongada y absurda recurrencia, siendo concebido indiscutiblemente un nivel de disfuncionalidad en la persona. (IMSS)(Idrobo, T., p. 28)

La variedad de síntomas que se presentan en la ansiedad, los cuales se podrían clasificar dentro de cinco grupos como: Físicos, psicológicos, de conducta, intelectuales o cognitivos y sociales como se indica en la siguiente tabla (Tabla 1). Se debe mencionar que estas expresiones sintomatológicas no están generalizadas para todas las personas, ni poseen la misma intensidad en todos los casos, ya que cada persona es un universo diferente. La predisposición biológica y/o psicológica en la que está cada persona es de lo que los síntomas dependen, así como el nivel de la ansiedad, sea ésta normal o patológica. Ciertos síntomas se manifiestan con mayor o menor intensidad en alteraciones de la ansiedad. (Delgado,2009, pp. 450-500) (Romero, M., 2015, pp. 20-21)

Tabla 1-1 Síntomas de la ansiedad

SOCIAL	FÍSICO	PSICOLÓGICO	CONDUCTA	COGNITIVO
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Irritabilidad</li> <li>- Hostilidad</li> <li>- Conformismo</li> <li>- Dificultades para iniciar o seguir una conversación</li> <li>- Bloquearse o quedarse en blanco a la hora de preguntar o responder</li> <li>- Dificultad para expresar opiniones o hacer valer los propios derechos</li> <li>- Temor excesivo a posibles conflictos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temblores o sacudidas</li> <li>- Sudoración excesiva</li> <li>- Dificultad para respirar</li> <li>- Mareos</li> <li>- Dolor en el pecho o malestar</li> <li>- Enrojecimiento de la piel</li> <li>- Náuseas, vómitos, diarrea</li> <li>- Tensión muscular</li> <li>- Problemas de sueño</li> <li>- Impulsividad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inquietud</li> <li>- Agobio</li> <li>- Inseguridad</li> <li>- Sensación de amenaza o peligro</li> <li>- Ganas de huir o atacar.</li> <li>- Temor a perder algo</li> <li>- Dificultad para tomar decisiones</li> <li>- Sensación de vacío</li> <li>- Sospechas</li> <li>- Incertidumbre</li> <li>- Temor a la muerte, locura o suicidio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estado de alerta e hipervigilancia</li> <li>- Inhibición</li> <li>- Bloqueos</li> <li>- Torpeza o dificultad de hablar</li> <li>- Impulsividad</li> <li>- Inquietud motora</li> <li>- Dificultad para estar quieto y en reposo</li> <li>- Cambios en la expresividad y lenguaje corporal como rigidez, cambios en la voz, movimientos torpes, posturas cerradas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dificultades de atención, concentración y memoria</li> <li>- Aumento de los despistes y descuidos</li> <li>- Preocupación excesiva</li> <li>- Expectativas negativas</li> <li>- Pensamientos distorsionados e inoportunos</li> <li>- Incremento de las dudas y la sensación de confusión</li> <li>- Tendencia a recordar cosas desagradables</li> <li>- Abuso de la prevención y de la sospecha</li> <li>- Interpretaciones inadecuadas</li> <li>- Susceptibilidad</li> </ul>

Fuente: (Rea, V., 2014 p. 6)

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

1.3.1.6. Diagnóstico de la ansiedad

**FLUJOGRAMA PARA EL DIAGNOSTICO CLÍNICO DE LOS TRASTORNOS DE ANSIEDAD**

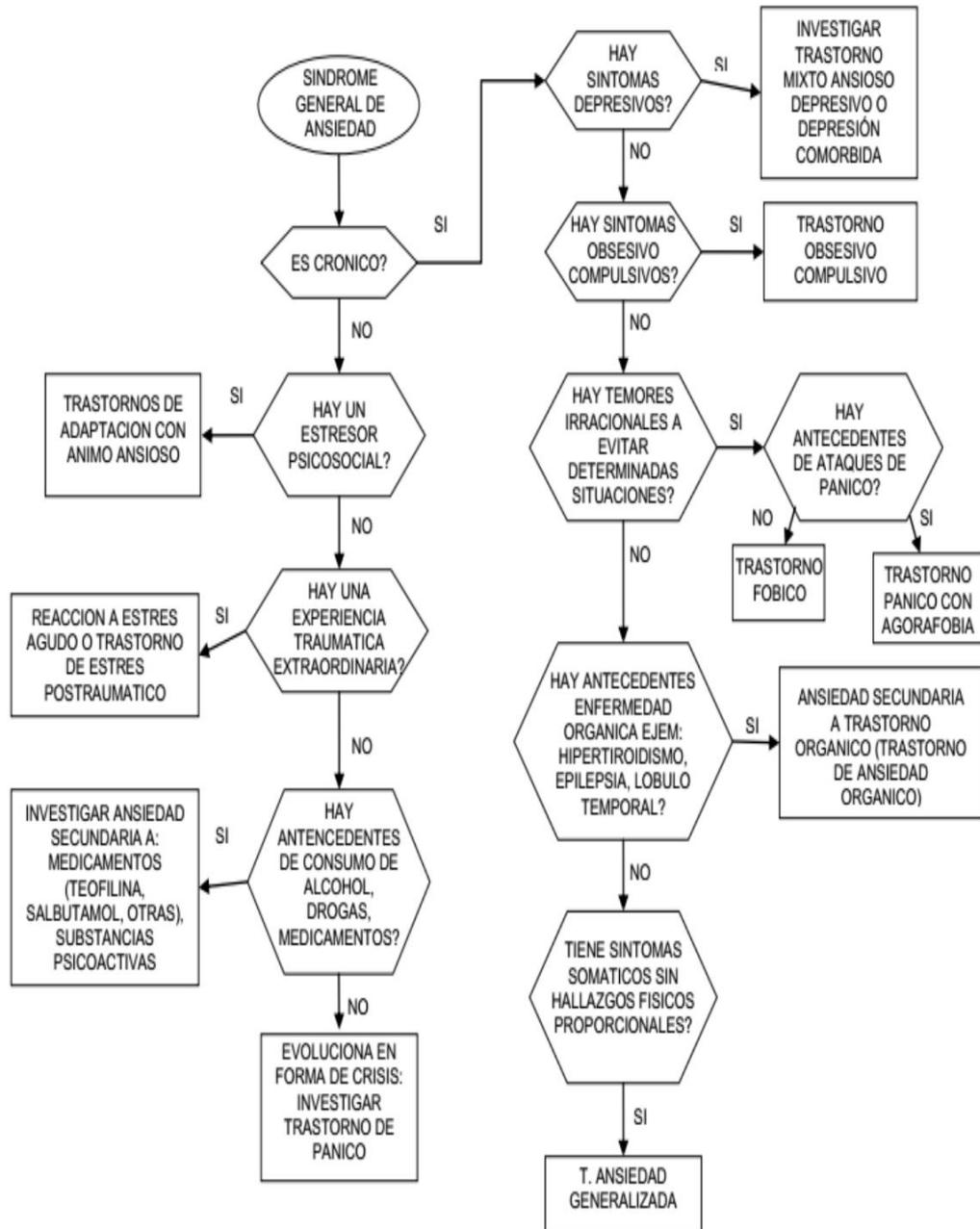


Figura 1-1 Flujograma para el diagnóstico clínico de los trastornos de Ansiedad

Fuente: (Diagnóstico de la Ansiedad, 2010, URL: <http://www.bvs.hn/Honduras/pdf/TrastornoAnsiedad.pdf> )

### *1.3.1.7. Tipos de trastornos de Ansiedad*

Los trastornos de ansiedad hacen que el individuo la sienta inseguridad aproximadamente todo el tiempo, pudiendo tener algún tipo de sentimiento tan incómodo que hace que eviten ciertas actividades de la rutina diaria, algunos de ellos sufren ocasionalmente de ataques de ansiedad que se presentan con gran intensidad que permanecen horrorizados e inmovilizados. En general, los sujetos con trastornos de ansiedad tienen consciencia de la naturaleza irracional y desmedida de sus temores. (Caicedo, V. y otros, 2011)

Existe una diversidad de trastornos de la ansiedad, cada uno establece un tipo de sintomatología, la que puede no ser objetiva debido a la naturaleza de cada una, lo que se puede generalizar en torno a un sentimiento de temor y un excesivo miedo irracional. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 7-8).

De entre la variedad de criterios utilizados universalmente para diagnosticar individuos con algún tipo de trastorno de ansiedad, podríamos generalizarlas dentro de la clasificación realizada por instituciones de nivel mundial, ya sea en la promoción o tratamiento como son:

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

La CIE-10 hace mención a los trastornos neuróticos o de ansiedad asociándolos en grupos con perturbaciones que aparecen relacionados principalmente con el estrés y somatomorfos. La DSM-IV-TR, en cambio, considera doce trastornos de ansiedad.

Tabla 2-1 Clasificación de Trastornos de Ansiedad según la CIE-10 y la DSM-IV-TR: paridades

CIE-10	DSM-IV-TR
<b>Trastorno de ansiedad fóbica</b>	
Fobias sociales	Fobia social
Fobias específicas	Fobia simple
Agorafobia	Agorafobia sin crisis de angustia
<b>Otros trastornos de ansiedad</b>	
Trastorno de angustia	Trastorno de angustia con agorafobia
Trastorno de ansiedad generalizada	Trastorno de angustia sin agorafobia
Trastorno mixto ansioso-depresivo	Trastorno de ansiedad generalizada
Otro trastorno mixto de ansiedad	-
Otros trastornos de ansiedad	-
<b>Trastorno obsesivo-compulsivo</b>	Trastorno obsesivo-compulsivo
<b>Reacciones de estrés y trastornos de adaptación</b>	
Trastorno por estrés postraumático	Trastorno por estrés postraumático
Reacción por estrés agudo	Trastorno por estrés agudo
Trastorno de adaptación	-
Trastornos disociativos	-
-	Trastorno de ansiedad inducido debido a una enfermedad médica
-	Trastorno de ansiedad inducido por sustancias
<b>Trastornos somatomorfos</b>	-
<b>Otros trastornos neuróticos</b>	Trastorno de ansiedad no especificado

Fuente: (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2010 pp. 32,33 )

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

○ Fobia Social

La población masculina como femenina tienen iguales probabilidades de desarrollar este tipo de trastorno. Puede empezar en la infancia o adolescencia, donde con normalidad hay demasiada ansiedad frente a situaciones de actividades diarias como hablar públicamente, comer o escribir teniendo la presencia de terceras personas, inclusive hacer las necesidades en baños públicos por temor, vergüenza y miedo que presumen de ser criticados o humillados. (Gómez, H., 2013) (Hollander, E. y Simeon, D., 2004)

En ocasiones el individuo siente ansiedad con un intenso miedo que puede interferir en el desenvolvimiento de actividades como el trabajo y/o estudio, haciendo difícil también la relación con el resto de personas a su alrededor. Estos individuos sienten incomodidad y tienen

preocupación inclusive después de la exposición; consecutivamente se preguntan sobre lo que opinan los demás de ellos. Hay una efectividad en el tratamiento con fármacos y sesiones de psicoterapia. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009 pp. 13,14)

- Fobia Específica

Las personas con fobia específica tienen un miedo irracional, se anticipan al daño, como el ser atacado por un animal salvaje, o temor de perder el control en una determinada situación, tienen varias fobias como son a escaleras, túneles, agua, a volar, a las alturas, etc que habitualmente son miedos monosintomáticos. Estos individuos tienen conciencia de este miedo irracional que generan, se presentan en la mayoría de casos en un número superior en mujeres, apareciendo durante la niñez y/o adolescencia que se mantiene también en la adultez. Esporádicamente estos individuos evaden situaciones pero interfieren en su diario vivir. (Mardomingo, M.,1994)

- Agorafobia

Se lo considera como un trastorno caracterizado por el miedo absurdo que los individuos sienten al encontrarse en espacios abiertos, en frente de grandes multitudes de gente y por el temor generado abandonan estos lugares y acuden a su casa, lugar que consideran seguro. El mayor miedo de una persona que posee agorafobia es quedarse solitario y desamparado, y solo el hecho de pensarlo puede recurrir en un desmayo lo que les aterra, sin tener ayuda, y en público y a esto se debe la selección de su hogar en compañía de una persona en la cual confían y ayudándoles en parte a la reducción de esa conducta de evitación. La agorafobia es uno de los trastornos más incapacitantes, haciendo que el individuo opte por quedarse prácticamente internadas en su hogar. (CAICEDO. V. y otros. 2011) (HOLLANDER, E. y SIMEON, D. 2004)

- Trastorno de Ansiedad Generalizada (TAG)

Las personas con TAG tienen tensión y preocupaciones excesivas durante todo el día, sin tener nada lo suficientemente importante que lo justifique, cada sujeto tiene un grupo de temas a los que frecuentemente se anticipan al desastre como en ámbitos de salud, dinero, pareja. La intensidad de estas preocupaciones llega al bloqueo en la toma de decisiones que aparentan ser fáciles e interfieren de forma severa en la vida cotidiana. Físicamente también poseen dificultad para relajarse y/o concentrarse así como también para el descanso nocturno lo que facilita a la

fatiga, cefaleas, contracturas y una elevada tensión muscular, como sintomatología posible inespecífica a nivel digestivo, respiratorio o cardíaco que favorablemente no tienen relación con otros padecimientos. Para su diagnóstico, es preciso la valoración de estos síntomas durante más de 6 meses. (Lara, A., 2005)

- Trastorno de Pánico (TP) o Trastorno de Angustia.

Este tipo de trastorno es catalogado como una enfermedad que padecen con el doble de la población femenina que en la masculina, presentándose en el 2,7% de la población adulta. Dentro de esta deficiencia se presenta imprevistas crisis de que se caracterizan por el apareamiento de un intenso miedo intenso que va de la mano con signos corporales como palpitaciones, ataxia, temblores, sudoración y en casos extremos hasta la pérdida de conocimiento. Las crisis de angustia pueden llegar a producir sensaciones de aberraciones del medio externo, aunque suelen durar en promedio unos 10 minutos, tiempo que según ellos se hace eterno, pero existen síntomas que duran mucho más tiempo. (Lara, A. 2005)

El trastorno de pánico se lo puede disminuir con un tratamiento adecuado. El factor hereditario y genético es preponderante para el desarrollo de este tipo de trastorno haciendo dificultoso el diagnóstico de esta enfermedad. Debido a que el individuo recurre una y otra vez hacia las salas de emergencia en lugar de dar un tratamiento definitivo a su trastorno, hábito que se transforma en un impedimento porque el trastorno es totalmente tratable sea esto por la vía farmacológica o también por la vía psicoterapéutica. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 5-6)

- Trastorno Estrés Postraumático

El trastorno de estrés postraumático florece posterior a una situación o acontecimiento que afectó a la persona de manera directa o indirecta y que se encuentra fuera del rango normal de la experiencia humana como puede ser: un desastre, una violación, el incesto, el secuestro, la tortura, o cualquier tipo de accidentes, donde es víctima directa del trauma o haberlo. Los sujetos presentan un tipo de retrospectiva constante del trauma, con evocación de ciertos estímulos que se relacionan al trauma y signos elevados de alerta. Estos signos se ven prolongados por lo menos en un lapso de un mes, considerándose agudo si tiene una duración de menos de un trimestre y

llegando a ser crónico si la duración supera el trimestre. (Caicedo, V. Y Otros. 2011) (Lozano, A. 2013)  
(Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 10-11)

- Trastorno Obsesivo – Compulsivo (TOC)

Este trastorno es conocido por la presencia de sentimientos o pensamientos no deseados los cuales son persistentes, incontrolables que pueden determinarse como obsesiones y que tienen compulsiones que son acciones y/o ritos para de alguna manera controlar la ansiedad los cuales con frecuencia terminan con el control hacia la persona.

Teniendo un sinnúmero de conductas extrañas, la obsesión por determinado objeto o actividad llevan al sujeto a conductas compulsivas. Como por ejemplo una persona obsesionada por la limpieza hace de esta conducta, un ritual repetitivo. El orden, otro tipo de obsesión, desencadena una serie de tareas las que aparte de quitar tiempo puede ser cizallante. También la seguridad se ha convertido en una obsesión que lleva a la repetitiva comprobación de servicios causales de accidentes como son la electricidad, el gas, o el cierre de puertas y ventanas. Estas actividades repetitivas requieren siempre una secuencia de actos y si existiese alguna duda de las compulsiones que se están realizando “correctamente”, el individuo queda encerrado hasta por horas, en esa conducta. (Caicedo, V. Y Otros. , 2011) (Lader, M. Y Otros., 2009)

Los primeros signos surgen durante la infancia y se relacionan, también, con factores hereditarios y genéticos que afectan de sobremanera tanto a hombres como a mujeres en porcentajes iguales dentro de la población. Avances en el área del trastorno llevan la tendencia a tener una conceptual variación porque los signos y síntomas aparecen y/o desaparecen, algunos individuos personalmente tratan de alejarse de estos llamados “malos hábitos” y que traen como consecuencia problemas como el alcoholismo y drogadicción en la búsqueda de calmar los síntomas. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 7-8)

### ***1.2.2. Fisiología de la Ansiedad***

El Sistema Nervioso está compuesto de dos principales elementos que son: el Sistema Nervioso Central (SNC) conformado por el cerebro y la médula espinal y el Sistema Nervioso Periférico (SNP) que todas las fibras nerviosas que se ramifican a partir de los nervios craneales y de la médula espinal hacia el resto del cuerpo incluyendo los órganos lo componen. El Sistema Nervioso Periférico (SNP) a su vez se forma de dos sistemas que son: El Sistema Nervioso Somático el cual está bajo control voluntario, ejemplo: mover las manos, abrir la boca etc., y el Sistema Nervioso Autónomo que se caracteriza por ser involuntario y es el encargado de regular aquellas actividades importantes como la digestión, la respiración, la circulación sanguínea y el metabolismo. (Aronson, J. 2009)

La división del Sistema Nervioso Autónomo son dos subsistemas conocidos como:

- Sistema Nervioso Simpático: Encargado de preparar al organismo para responder a cualquier acción (defensa o huida) en caso de amenaza.
  
- Sistema Nervioso Parasimpático: Que al contrario que el sistema nervioso simpático, establece la desactivación, recuperación y reposición del cuerpo conservando la acumulación de energía.

El Sistema Nervioso Central (SNC) controla las actividades de este par de sistemas, controlando también órganos como el Corazón, los Pulmones, el Sistema Digestivo (estómago e intestinos) y demás partes del cuerpo comprometidas con la disposición del organismo humano para la acción.

*“Es de mucha importancia tener en cuenta esta división en especial si se trata de ansiedad debido a que los síntomas fisiológicos observados como consecuencia de ésta, provienen de la activación del Sistema Autónomo Simpático”.* (Gómez, H. 2013) (Reyes, A., 2010) (Rea, V., 2014, p. 35)

- Sistema Nervioso Autónomo Simpático.

El Sistema Nervioso Autónomo Simpático es el que mantiene la homeostasis del organismo. La activación simpática supone la secreción de catecolaminas que son: la adrenalina producida por la médula de la glándula suprarrenal, en especial en casos extremos de estrés psíquico y de ansiedad y de la noradrenalina que es secretada en las terminaciones nerviosas simpáticas, aumentando principalmente la concentración en etapas de estrés físico y en circunstancias de alto riesgo o de agresividad. (Rea, V., 2014, p. 35)

Estas hormonas son responsables de poner el cuerpo en un período de alerta alistándolo para la lucha o el escape, permitiendo relacionar al estrés con otros fenómenos psicofisiológicos de la emoción.

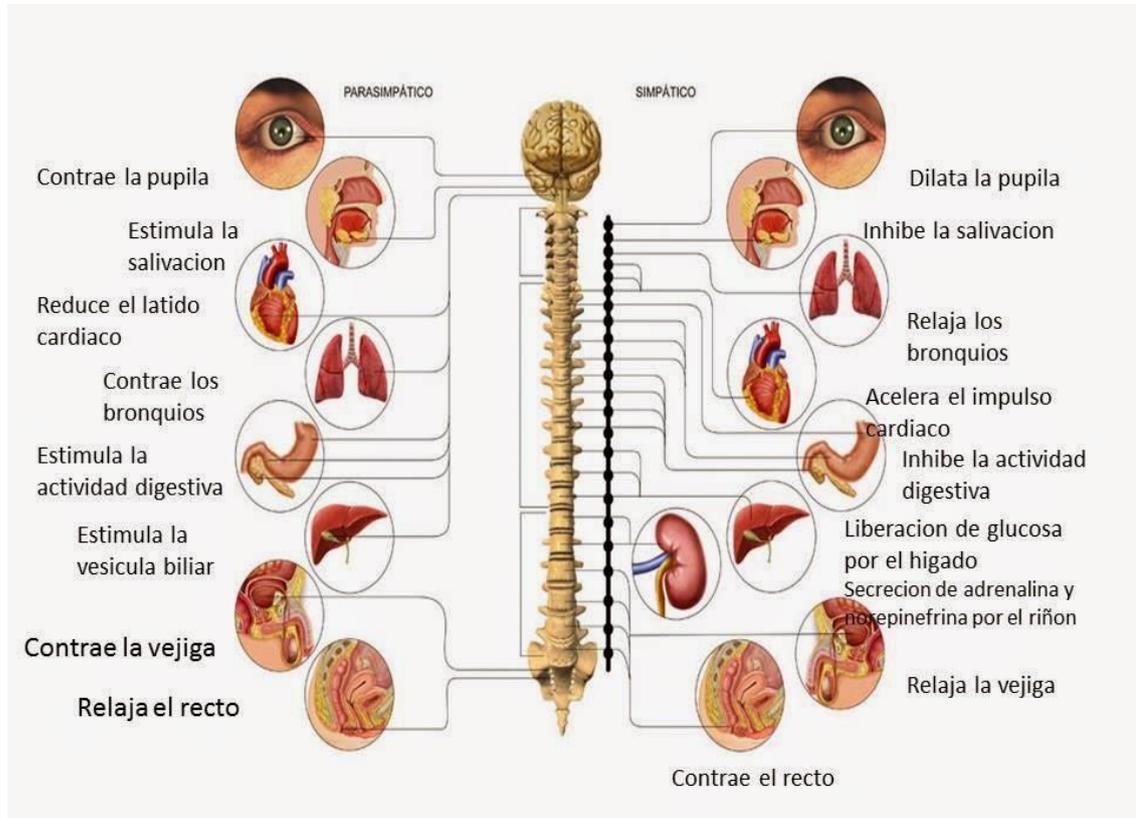
Tabla 3-1 Clasificación de Trastornos de Ansiedad según la CIE-10 y la DSM-IV-TR: paridades

<p>FACTORES EN LOS QUE INTERVIENEN LA ADRENALINA Y LA NORADRENALINA</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dilatación de las pupilas.</li> <li>- Dilatación bronquial.</li> <li>- Movilización de los ácidos grasos, pudiendo dar lugar a un incremento de lípidos en sangre (posible arterioesclerosis).</li> <li>- Aumento de la coagulación.</li> <li>- Incremento del rendimiento cardíaco que puede desembocar en una hipertensión arterial.</li> <li>- Vasodilatación muscular y vasoconstricción cutánea.</li> <li>- Reducción de los niveles de estrógenos y testosterona, que son hormonas que estimulan el desarrollo de las características secundarias masculinas, inhibición de la secreción de prolactina, incremento de la producción de tiroxina, que favorece el metabolismo energético, la síntesis de proteínas, etc.</li> </ul>
---	---

Fuente: (Lader, M., y otros, 2009)(Rea, V., 2014, p.36)

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Como se muestra en la Fig. No. 2-1. El Sistema Nervioso Simpático es el responsable de las acciones que denotan todos los signos de alerta generados por la ansiedad, lo que el Sistema Nervioso Parasimpático incita a la relajación, manteniendo el balance, la armonía y el bienestar del cuerpo y a la mente como un conjunto. (Lader, M. Y Otros. 2009)



**Figura 2-1** Sistema Simpático y Parasimpático

**Fuente:** (Fisiología Sistema Nervioso Autónomo, 2014, URL: <http://jesudanieltradafisio.blogspot.com/2014/10/sistema-nervioso-autonomo-simpatico.html> )

### 1.2.3. Neurobiología de la ansiedad

El establecimiento de un sistema neuronal en la filogenia hace responsable la preservar la vida mediante reacciones de lucha, huida, cólera, miedo, ansiedad y también la actividad sexual. Estas estructuras anatómicas implican también al sistema límbico, encabezado por la amígdala y el locus cerúleo, que en conjunto con sus mecanismos químicos ayudan a una mejor comprensión de la bases neurobiológicas de la ansiedad. (Guamán, M., 2016, p. 16)

### 1.2.3.1. Estructuras neuroanatómicas de la ansiedad

- La amígdala

Es un órgano que coordina y regula los estados de alarma, su ubicación está en el lóbulo temporal. Envía las señales hacia la corteza prefrontal, sensorial, al hipocampo, estriatum, hacia el hipotálamo, el tálamo, los núcleos dorsales del vago, núcleos parabranciales, locus ceruleus. Siendo estas proyecciones dirigidas hacia los sistemas neurohumorales, autonómicos y musculosqueléticos que a su vez se asocian a las respuestas de ansiedad y miedo. La amígdala también es considerada como centro regulador que evalúa los estímulos exteroceptivos e interoceptivos iniciando las respuestas conductuales del estado de alarma. Los receptores noradrenérgicos, benzodiazepínicos y 5HT-1<sup>a</sup> son los que interfieren en su función. (Reyes-Ticas, 2016 pp. 15,16)

- Locus cerúleo

En su mayoría contiene norepinefrina, y su accionar se ve regulado por receptores GABA-benzodiazepínicos y serotoninérgicos. La información la recibe de los estímulos tanto internos como externos, llegando al núcleo paragigantocelularis y el núcleo prepositus hipoglosos la información interoceptiva. La información exteroceptiva entra por la corteza insular, orbital e infralímbica. Cuando la presión sanguínea se reduce esta se activa, existiendo cambios en la termorregulación, recibiendo estímulos nocivos y/o amenazantes, siendo de vital importancia para asegurar la supervivencia de los individuos.

- Tálamo

Es considerado como un canalizador de estímulos ambientales hacia la corteza. Está ubicado en la parte central del diencefalo. Cuando aparece una lesión en este órgano la presencia de miedo desaparece considerablemente o totalmente.

- Hipotálamo

Es el responsable de activar al Sistema Simpático y se involucra en la liberación neuropéptica y neuroendocrina, es la que secreta la corticotropina, la vasopresina y la oxitocina. El hipotálamo está formando parte del diencefalo, localizado a partir de la región óptica hasta los cuerpos mamilares.

- Substancia gris periacueductal

Cuando existe un estímulo muy peligroso este es canalizado hacia la amígdala, y se desarrolla una actividad defensiva en la sustancia gris periacueductal lateral; no obstante, al existir un peligro menor produce un espasmo o "congelamiento" de la sustancia gris periacueductal ventrolateral.

- Hipocampo

Es el que mantiene las conexiones con el sistema límbico y las áreas corticales, tiene receptor 5HT-1A que es controlado por sus agonistas como la buspirona; estructura que tiene un papel preponderante en el control de la ansiedad.

- Corteza orbitofrontal

Cuando la corteza orbitofrontal recibe interacciones recíprocas del sistema límbico e información sensorial las interpreta en los eventos significativos, hace una selección y planea el comportamiento de respuesta ante alguna eventual amenaza. La estructura de la corteza orbitofrontal tiene una densidad aumentada de receptores 5HT-2 por lo que se presume que se involucra con los sentimientos del individuo.

### 1.2.3.2. Neurotransmisores en la respuesta de la ansiedad

Los neurotransmisores provienen de la síntesis de las neuronas, cuando se liberan realizan su acción característica sobre el receptor específico, estos receptores se están localizados en la membrana neuronal y se ubican tanto en la neurona que los sintetiza como en otra diferente a esta.

Por otro lado tenemos que indicar que están implicados muchos circuitos sinápticos, que fundamentalmente comprenden los Sistemas de Noradrenalina, Serotonina, Dopamina y Ácido Gamma Amino Butírico (GABA), aunque la existencia en la implicación de otros neurotransmisores, ya sea de manera directa o indirecta dentro de la manifestación de algún tipo de ansiedad. (Flórez, 2014, pp. 543-565).

- Noradrenalina

Es secretado fundamentalmente en el locus ceruleus, Conocida también como Norepinefrina es una catecolamina que tiene a la Tirosina como precursor y que al actuar la enzima Tirosina-Hidroxilasa se produce Dopa, la cual, después produce la Dopamina por acción de la enzima Dopa-descarboxilasa, la que da origen a la Noradrenalina intermediado por la dopamina- $\beta$ -hidroxilasa en las vesículas presinápticas. Tiene fundamental participación en el control sueño - vigilia, en la reducción de la agresividad, buena memoria y aprendizaje, además de regular el humor y la conciencia, aumenta el estado de alerta. Existen niveles anormales de noradrenalina en enfermedades como el Alzheimer, Parkinson, esquizofrenia, manía, depresión y ansiedad.

- Serotonina

La serotonina, un neurotransmisor, procede del aminoácido triptófano y es sintetizada en la neurona, el 5-hidroxi-indolacético (5HT) es su metabolito principal. Los receptores serotoninérgicos pre y post sinápticos que están asociados con la ansiedad son: 5 HT 1A, 2A, 2C y 1D, encontrándose en una región del cerebro medio conocida como los núcleos de Raphe. A la serotonina se considera que toma parte en alteraciones como apetito, energía, sueño, estado de ánimo y la función cognitiva en estados de ansiedad, teniendo una función en esta, que se

encuentra respaldado por la regulación de efecto en el locus ceruleus y a sus proyecciones hacia la amígdala. El miedo y el estrés activan las vías serotoninérgicas.

Este neurotransmisor se encuentra relacionado con la génesis de trastornos procedentes de estados de ansiedad, principalmente en el pánico, la fobia social y el conocido trastorno obsesivo compulsivo. (Monti, J. Y Otros. 2010)

- Dopamina

Químicamente la dopamina se presenta como una catecolamina que es resultado de la Tirosina. Se conocen dos rutas principales de dopamina a nivel cerebral que son: la mesolímbica y la mesocortical. La mesolímbica se activa de forma directa o indirectamente a través de la mayoría de las sustancias psicoactivas y la ruta dopaminérgica mesocortical que es distinguida como ruta nigroestriada, debido a la proyección de la sustancia negra al estriado. En enfermedades como el Parkinson, ésta ruta parece degradarse desembocando en trastornos en el movimiento. Se diferencian 4 subtipos básicos de receptores de dopamina los cuales son; los D1, D2, D3, y D4, donde el D1 relacionado con un factor activador y el D2 con un factor inhibidor. Generalmente a este neurotransmisor se lo responsabiliza de acciones como el movimiento, el aprendizaje y la motivación, aparte que se le señala como un elemento activo en la ansiedad siendo más común en la Fobia social. (Monti, J. 2010)

- Ácido Gamma Amino Butírico (GABA)

El Ácido Gamma Amino Butírico (GABA) y el Glutamato son utilizados por la mayoría de las neuronas cerebrales como un neurotransmisor, distribuido por todo el cerebro, pero en el Cerebelo se lo encuentra en mayor porcentaje, forman parte del grupo de Aminoácidos (AA) neurotransmisores conjuntamente con el Ácido Aspártico y la Histamina. Se sintetiza en diferentes lugares del Encéfalo, predominantemente en interneuronas inhibitorias. Los receptores GABA que están en la amígdala y en el hipocampo, y su correspondiente vía gabaérgica tienen un efecto de disminución de respuesta al miedo y también a la capacidad de aprendizaje. (Sánchez & Román, 2004, pp. 223-240)

Existen tres tipos fundamentales de receptores GABA:

- Los inotrópicos GABA-A, que son los responsables de la apertura de los canales de cloro y debido a esto inhiben el impulso nervioso, lo que provoca un decrecimiento en la excitabilidad neuronal teniendo una acción inhibitoria como respuesta. Cuando se sitúa en la membrana plasmática del terminal post-sináptico está relacionado con los receptores benzodiazepínicos (BZD).
- Los metabotrópicos GABA-B y los metabotrópicos GABA-C los cuales no tienen relación alguna con los receptores benzodiazepínicos. (Sánchez & Román, 2004, pp. 223-240)

#### ***1.2.4. Tratamiento de la ansiedad***

El tratamiento de los diferentes trastornos de ansiedad va desde la medicación hasta tratamientos psicoterapéuticos o la mixtura de ambos. El diagnóstico diferenciado por parte de un médico es de vital importancia previa a cualquier tipo de tratamiento, tomándose en cuenta la combinación entre trastornos así como también la presencia de otra enfermedad la cual ya posea un tratamiento medicamentoso, que pueda interferir de sobremanera en la evolución positiva del paciente. (American Psychological Association, 2010, p. 18)

Habitualmente en pacientes con trastornos de ansiedad generalizada es necesaria la utilización dos tipos de tratamientos al mismo tiempo, uno agudo para seis meses de tratamiento y un tratamiento crónico de seis meses para evitar algún tipo de recaída. Para ello es muy importante una elección precisa de los fármacos que van a ser utilizados; que se caractericen por poseer una baja probabilidad de abuso, una buena tolerancia y que en el menor tiempo posible se tenga su efecto terapéutico. En pacientes con enfermedades concomitantes deben mostrar su eficacia para las patologías para las que estas destinadas y así poder tener una mejoría en la calidad de vida del individuo.

#### *1.2.4.1. Tratamiento no farmacológico*

La psicoterapia, considerada como un tratamiento no farmacológico, está basada en la comunicación terapeuta (psicólogo o médico) con el paciente, ha representado una alternativa de preferencia en la atención primaria que demostrado disminuir e incluso eliminar síntomas relacionados al trastorno de ansiedad. Este tratamiento implica la ayuda de un profesional para el manejo de la sintomatología, donde el terapeuta muestra una empatía por las ideas y sentimientos del paciente, lo que le permite expresar de mejor manera los criterios y emociones, y con esto el paciente se llega a sentir aliviado y reconfortado sabiendo cual es el origen de la ansiedad. Los efectos terapéuticos que se esperan aparecen al cabo de varias sesiones de recuperación. Este tipo de tratamiento es tomado como eficaz ya que los pacientes son insertados de nuevo a la sociedad y tienen la capacidad de tomar control total de sus vidas. (Ferre & Camarillo, 2013, pp. 2749-2752)

Un ejemplo claro tenemos al mencionar a los pacientes que padecen con Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC), que se sienten asehados por la suciedad y los gérmenes, un tratamiento que se propone es ensuciarse las manos; y alargando el tiempo en que deben aseárselas, en cambio que a los que tienen fobia social, se los trata exponiéndolos en eventos sociales sin dejar que escapen de esta situación atemorizante para ellos mejorando así sus síntomas. En el tipo de trastorno post traumático tienen orientación de apoyo del recuerdo de los eventos que causaron ese trastorno. Objetivos planteados en este tipo de terapias son la enseñanza de clases de respiración y algunas técnicas de relajación que al ser utilizadas en el momento que se presencien este tipo de situaciones, estas prácticas frecuentemente ayudan a la eliminación de síntomas de los trastornos de ansiedad. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, pp. 24-27)

Otra clase de tratamiento no farmacológico es la terapia cognitiva la cual está destinada a entender los pensamientos y sentimientos que traen a la sintomatología de los trastornos de ansiedad, reduciendo en su mayoría el número de reincidencias y la intensidad con la que se sufren los ataques. La terapia cognitiva-conductual está conformada por: la cognitiva aquella responsable de la modulación de los patrones en pensamientos que producen temores y la conductual que provoca el cambio en las reacciones de las personas en el momento que se vivan cualquier tipo de situaciones amenazantes. El ser interactivo y directo son las principales características de este tratamiento por lo que es muy importante que el paciente tenga predisposición al tratamiento y su colaboración hace que el alivio del trastorno de ansiedad llegue. Esta terapia está dedicada hacia Trastornos de ansiedad generalizada (TAG), trastornos de pánico con y sin agorafobia, trastornos obsesivo- compulsivo, trastornos de fobias específicas, fobia social. Tanto el tratamiento

farmacológico como el no farmacológico obligatoriamente deben ser dirigidos por profesionales afines, en este caso un terapeuta y un médico. (American Psychological Association, 2010, p. 12)

#### *1.2.4.2. Tratamiento farmacológico*

En los tratamientos farmacológicos la medicación prescrita mantiene los síntomas bajo control, lo que quiere decir que no los elimina definitivamente, estos tratamientos tienen como objetivo el alivio de síntomas, la prevención en casos de recaídas y la evasión de posteriores repercusiones. Los psiquiatras o especialistas afines como: psicólogos, consejeros, trabajadores

sociales; son los que prescriben la medicación, en algunos casos y están capacitados para ofrecer la psicoterapia o trabajar en conjunto con el propósito de obtener respuestas requeridas al tratamiento, el tratamiento del médico debe basarse en la edad, sexo, historial clínico, posibilidades de embarazo e informar acerca de los efectos secundarios y reacciones adversas que pudieran presentarse. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, p. 20).

##### *1.2.4.2.1. Benzodiazepinas*

El grupo principal de agentes ansiolíticos es el de las benzodiazepinas, con su abreviación BDZ, son medicamentos que surgieron en la década de 1960, y que actúan preferentemente en el Sistema Nervioso Central (SNC), siendo la somnolencia el efecto secundario más frecuente. Debido a la necesidad de los pacientes de dosis más elevadas luego de transcurrir algo de tiempo, la prescripción se da por lapsos de tiempo cortos, en especial en personas con antecedentes de problemas sociales como son el alcoholismo o drogadicción, exceptuando pacientes con el trastorno de pánico que pueden ser medicados con benzodiazepinas por hasta un año. (Instituto Nacional de Salud Mental, 2009, p. 28)

Clínicamente se caracterizan porque son capaces de producir varios efectos como los de sedación y disminución de la ansiedad, reducción del insomnio, relajación muscular, así como efectos anticonvulsivantes, además de poseer la particularidad de ser más seguros que los barbitúricos, en la actualidad se puede mencionar la existencia de 15 tipos de BZD utilizados para el tratamiento de los trastornos psicológicos. Dependiendo del efecto deseado las BZD se clasifican por el tiempo de acción sobre el sistema nervioso (Gutiérrez, 2012) (Bravo. M, 2013)

La diferencia en la potencia de las benzodiazepinas se hace evidente con una variación de hasta 20 veces de otra benzodiazepina. Un ejemplo sería el del Alprazolam que con solo 0.5 mg equivale a 10 mg de diazepam; lo que indica que medicarse con 6 mg de alprazolam significa tomar aproximadamente 120 mg de diazepam. Diferencias como estas son de importancia al cambiar un fármaco por otro; contraste que no es tomado en cuenta por los médicos. (Ashton, 2010, URL: <http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>)

**Tabla 2-1** Las benzodiazepinas y medicamentos similares

COMPUESTO (NOMBRE COMERCIAL)	VÍAS DE ADMINIS- TRACIÓN*	EJEMPLOS DE APLICACIONES TERAPÉUTICAS†	COMENTARIOS	<i>t</i> <sub>1/2</sub> , horas‡	DOSIFICACIÓN SEDANTE E HIPNÓTICA OR- DINARIA, mg§
Alprazolam (XANAX)	Oral	Trastornos de ansie- dad, agorafobia	Los síntomas de abstinencia pueden ser particularmente graves	12 ± 2	—
Clordiazepóxido (LIBRIUM, otros preparados)	Oral, IM, IV	Trastornos de ansie- dad, tratamiento de la abstinencia de alcohol, premedica- ción anestésica	De acción prolongada y de autoajuste decreciente a causa de los metabolitos activos	10 ± 3.4	50 a 100, qd a qid§
Clonazepam (KLONOPIN)	Oral	Trastornos convulsi- vos, tratamiento auxiliar en caso de manía aguda y en ciertas anomalías de los movimientos	Se crea tolerancia a los efectos anticonvulsivos	23 ± 5	—
Clorazepato (TRANXENE, otros prepara- dos)	Oral	Trastornos de ansie- dad, trastornos de los movimientos	Profármaco; la actividad se debe a la formación de nordazepam durante la absorción	2.0 ± 0.9	3.75 a 20, bid a qid§
Diazepam (VALIUM, otros preparados)	Oral, IM, IV, rectal	Trastornos de ansie- dad, estado epilep- tico, relajación del músculo estriado, premedicación anestésica	Benzodiazepina prototípica	43 ± 13	5 a 10, tid a qid§
Estazolam (PROSOM)	Oral	Insomnio	Contiene un anillo triazol; los efectos adversos pueden ser semejantes a los del triazolam	10 a 24	1 a 2
Flurazepam (DALMANE)	Oral	Insomnio	Se acumulan metabolitos activos con el uso prolongado	74 ± 24	15 a 30
Halazepam (PAXIPAM)	Oral	Trastornos de ansiedad	La actividad se debe en gran medida a la conversión metabólica en nordazepam	14	—
Lorazepam (ATIVAN)	Oral, IM, IV	Trastornos de ansie- dad, medicación preanestésica	Se metaboliza sólo por conju- gación	14 ± 5	2 a 4
Midazolam (VERSED)	IV, IM	Medicación preanesté- sica y transoperatoria	Es la benzodiazepina inactivada con mayor rapidez que se utiliza para premedicación anestésica	1.9 ± 0.6	—#
Oxazepam (SERAX)	Oral	Trastornos de ansiedad	Se metaboliza solamente por conjugación	8.0 ± 2.4	15 a 30, tid a qid§

Fuente: (<https://www.google.com.ec/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiqnt-QwvfRAhVDSiYKHZZABH8QjRwIBw&url=http%3A%2F%2Fwww.monografias.com%2Ftrabajos82%2Fbenzodiazepinas%2Fbenzodiazepinas2.shtml&psig=AFQjCNEOYc-lXhmEO6EgVoK393kodnTUw&ust=1486334615129754>)

Tabla 4-1 Vida media de las benzodiazepinas según su tipo de acción

TIPO DE BDZ	VIDA MEDIA
Acción larga	24 – 60 Horas
Acción media	12 - 30 Horas
Acción corta	3 – 15 Horas

Fuente: (Bravo, 2013) (Idrobo, T., 2016, p. 32)

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

### Mecanismo de acción

Las benzodiazepinas poseen un mecanismo de acción que se explica en la siguiente figura (Figura 3-1) que principalmente se perfila en las funciones de los receptores GABA que al tener unión con el fármaco produce la apertura de los canales de Cloro, haciendo que la célula tenga más resistencia a la excitación, es decir existe desensibilización, inhibiendo de esta manera los impulsos nerviosos y se controla la ansiedad. (Gutiérrez. I 2012)(Idrobo, T., 2016, p. 33)

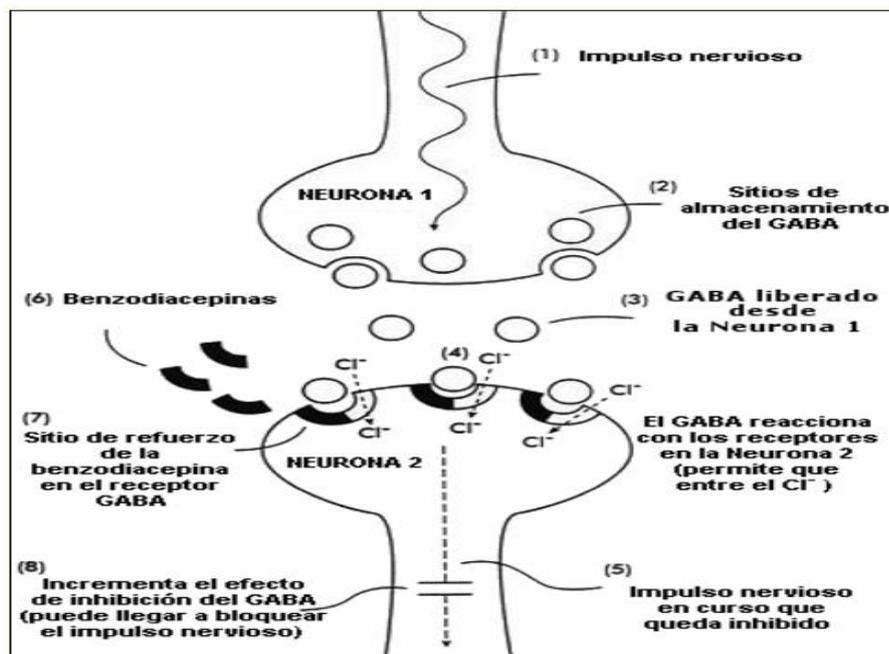


Figura 3-1 Mecanismo de acción de Benzodiazepinas

Fuente: (<http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>)

(1)(2) El impulso nervioso hace que el GABA se libere a los sitios de almacenamiento de la neurona 1.

(3) El GABA se libera al espacio interneuronal.

(4) El GABA llega y activa los receptores la neurona 2 y permite que los iones de cloruro (Cl-) ingresen en la neurona 2.

(5) El efecto impide que el impulso nervioso continúe.

(6)(7) Las benzodiazepinas reaccionan en el sitio de refuerzo.

(8) La acción aumenta la inhibición debido al GABA; el impulso nervioso queda bloqueado temporalmente o incluso definitivamente. (Ashton, 2010, URL: <http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>)

#### 1.2.4.2.2 *Clonazepam*

Es un fármaco que pertenece al grupo de las benzodiazepinas, que ejerce su acción sobre el Sistema Nervioso Central (SNC), que tiene propiedades ansiolíticas, anticonvulsiantes, miorrelajantes, sedantes, hipnóticas y estabilizadoras en el estado de ánimo, puesto que es notable su adicción y alta tolerancia, característica que comparte con el resto de las benzodiazepinas, es administrada breves lapsos de tiempo o emergencia es destinado a pacientes con trastorno bipolar. (Agencia Española de Medicamentos, 2011)

#### Mecanismo de acción

Estos fármacos ejercen su acción en las regiones límbicas, talámica e hipotalámica del cerebro generando sedación, hipnosis, relajación muscular, actividad anticonvulsivante e inclusive induciendo al coma. El GABA, un neurotransmisor inhibitorio, es el responsable de todos los efectos producidos. Al integrar alostéricamente receptores GABA-érgicos con receptores benzodiazepínicos, se tiene como resultado la potencialización del efecto del GABA conjuntamente con la inhibición del sistema reticular ascendente. El grupo de las benzodiazepinas se caracterizan por bloquear también los efectos corticales y límbicos que provienen del estímulo de las vías reticulares. (Nardi, 2006, pp. 31-42)

## Farmacocinética

Al ser administrado por vía oral, el clonazepam es absorbido rápidamente, se distribuye considerablemente por todos los tejidos, uniéndose a las proteínas plasmáticas aproximadamente en un 85%. El clonazepam alcanza su efecto farmacológico a partir de los 20 a 60 minutos después de la administración y tienen una duración de 6 a 8 horas en pacientes pediátricos y superando las 12 horas en los pacientes adultos. La vida media va de 22 a 33 horas en los niños y entre 19 a 50 horas en los adultos. Este medicamento es metabolizado ampliamente en el hígado, por un proceso de reducción del grupo nitro del cual resultan varios metabolitos inactivos los cuales se eliminan en la orina. (Nardi, 2006, pp. 31-42)

## Contraindicaciones

La utilización del clonazepam se exceptúa en pacientes con depresión respiratoria o en shock o coma porque este fármaco tiene efectos depresores a nivel respiratorio y sobre el sistema nervioso central. En pacientes con enfermedades obstructivas respiratorias (EPOC) o con apnea del sueño también son contraindicados y se debe tener precaución al administrarlo en pacientes que roncan regularmente. (Romero, M., 2016, p. 41)

Por los efectos depresores que tiene sobre el sistema nervioso central (SNC) los pacientes deben conocer que el medicamento produce somnolencia e incapacidad para realizar tareas específicas. Pese a ello, los efectos en relación a otras benzodiazepinas de duración media o larga son menores. (Nardi, 2006, pp. 31-42)

Este medicamento también tiende a la producción de salivación en exceso, lo que debe ser tomado muy en cuenta en los pacientes en los que se presentan problemas obstructivos respiratorios o esofágicos, aquellos que consumen alcohol, podrían percibir depresión a nivel respiratoria e incluso llegar a un coma.

No se recomienda su administración en grandes dosificaciones a pacientes que posean tendencias suicidas conocidas, en individuos con miastenia grave, se recomienda precaución para su administración porque se puede agravar su condición.

## Reacciones Adversas

La mayoría de las reacciones adversas que se asocian a tratamientos con este fármaco, se deben principalmente a los efectos que produce sobre el sistema nervioso central (SNC), incluyendo fatiga, sincope, disartria, depresión, confusión, jaquecas, somnolencia, ataxia, mareos, temblores y vértigo, síntomas que a medida que pasa el tiempo van decreciendo. (Romero, M., 2016, p.41)

También podemos mencionar otro tipo de reacciones adversas que se presentan, comparándolas con las anteriores, con menos frecuencia como son: hipotensión, bradicardia, urticaria, rash cutáneo, diplopía, visión borrosa, sofocos, náuseas, vómitos y en casos minúsculos constipación, rebaja del lívido, disfunción hepática y espasmos abdominales. (Romero, M., 2016, p.41)

Contrariamente a los efectos que son habituales, llega originarse cierta estimulación del sistema nervioso central que incluye: excitación, euforia, pesadillas, temblores, alteraciones del sueño, espasticidad muscular, ataques de rabia e hiperreflexia, hostilidad; reacciones que la mayoría de casos se presentan en pacientes psiquiátricos y en niños hiperactivos que reciben tratamiento con este fármaco, donde se recomienda la discontinuación del tratamiento con clonazepam. (Karatas,2007,pp.294-301)

## Tratamiento

Mediante administración oral los adultos y adolescentes de peso inferior a 30 kg: se parte con dosis iniciales de 1.5 mg/día cada 8 horas, es decir en tres tomas equivalentes. Pudiéndose aumentar progresivamente la dosis incrementando de 0.5 a 1 mg con intervalos de tres días hasta lograr controlar totalmente las convulsiones. Las dosis que se recomiendan como máximas no deben ser exceder a los 20 mg al día, siendo entre 2 y 8 mg/día las dosis medias de mantenimiento.

Pacientes geriátricos o debilitados requieren de dosis iniciales menores, concordando con aumentos de dosis más pequeñas.

Los pacientes pediátricos menores a 10 años y 30 kg en peso, deben tener dosis iniciales de 0.01 a 0.03 mg/kg sin sobrepasar los 0.05 mg/kg al día, los cuales son dispuestos en tres tomas iguales, de necesitarse dosis más elevadas, se utiliza adiciones de 0.25 a 0.5 mg/día intercalándolo cada 3 días, hasta tener un máximo de 0.1-0.2 mg/kg al día. (Karatas,2007,pp.294-301)

### 1.2.4.2.3 *Terapias alternativas*

#### Medicina Herbolaria

Las plantas son consideradas como parte fundamental en el tratamiento de la salud del hombre. Desde tiempos ancestrales, la utilización de estas plantas destinadas al tratamiento de enfermedades. Hoy en día se busca tomar estos conocimientos, prácticas, rituales, hábitos para poder transformarlos en información científica que contribuya en la elaboración de fármacos para tratamientos comprobados y poder eliminar de esta manera las nuevas enfermedades que se están presentando. (Medicina Natural, 2013, URL:<http://mednaturesagradafamilia.blogspot.com/2009/10/lagranadilla-pasiflora-ligularis-juss.html>)

Aproximadamente el 80 % de la población mundial, principalmente en países en vías de desarrollo acuden a la utilización de medicina originaria de plantas para cubrir las necesidades primarias de salud. Países como China, Cuba, Tailandia tienen en sus programas de salud el uso de la medicina tradicional herbolaria reconocidos oficialmente. Las drogas secas y sus extractos han tenido una mayor presencia en la Medicina Occidental en los últimos años, y es gracias a esto que se ha llegado a descubrir los efectos adversos en fármacos sintéticos lo que ha forzado requerir un conocimiento farmacológico, casi completo, de drogas vegetales, así como el desarrollo de metodologías que facilitan el control de calidad y sobre todo los avances en maneras de preparar y administrar los medicamentos naturales. (Riofrio, K, 2014, p. 16)

#### Fitoterapia

Es una de las terapias más utilizadas, pese a su antigüedad, donde el uso de plantas medicinales es predominante; que posterior al progreso de la industria farmacéutica, ha visto un nuevo florecimiento, al constituirse como una fuente invaluable de donde se obtiene una gran cantidad de principios activos debido a que en la actualidad varios fármacos son manufacturados a partir de principios activos provenientes de extractos de diferentes plantas, denominados fitofármacos, pero que generan confusión ya que por ser naturales se cree que no producen toxicidad, lo que no es así, debido a la presencia de principios activos que incitan a la aparición de efectos secundarios sin la utilización correcta de los mencionados compuestos, que pueden ser utilizados naturalmente o semisintéticamente fomentándose como una alternativa en salud pública dentro del tratamiento de las enfermedades. (Ruiz, A, 2005)(Idrobo, T., 2016, p. 34)

### 1.2.5. Género *pasiflora*

Dentro de la familia *Passifloraceae*, el género *Passiflora*, de los 12 géneros existentes, es considerado como el principal, siendo aproximadamente unas 500 especies. Sus especies se encuentran distribuidas en regiones templadas y tropicales de América ya que pueden desarrollarse con normalidad en las regiones tropicales con altitudes mayores a 3000 m.s.n.m., la mayoría se localizan en zonas templadas, siendo en 90% nativas de América, pero también se las encuentra con en menor proporción en África, Asia y Australia. Algunas de estas especies se las cultiva porque sus frutos son comestibles, siendo la más cultivada la *Passiflora edulis*. (Hickey & King, 1988) (Bonilla, A., 2016, p. 11)

#### 1.2.5.1. *Passiflora manicata* (taxo de monte)



Figura 4-1 *Passiflora manicata* (taxo de monte)

Fuente: <http://www.passionflow.co.uk/images/man2.jpg>

## División Taxonómica

Reino:	Plantae
División:	Eudicotas
Clase:	Rósidas
Orden:	Malpighiales
Familia:	Passifloraceae
Género:	Passiflora
Especie:	<i>P. manicata</i>

## Distribución y hábitat

Esta variedad de *Passiflora* se encuentra adaptada en climas calurosos y con cierta cercanía al mar, su crecimiento se da con abundante presencia de luz, localizándose a lo largo de los Andes teniendo una altura promedio de 1200 a 2600 msnm para su desarrollo en suelos fértiles pero no necesariamente abonados. (Sánchez, L., 2016, p. 23)

## Usos

Puesto que no se considera como comestible el fruto de la *P. manicata*, su consumo en estado inmaduro desencadena algunos efectos tóxicos y sicótrpos, su coloración impide diferenciar entre los estados maduro e inmaduro. Las hojas de esta especie son utilizadas como relajante, en infusión en las zonas donde que abunda su crecimiento. (Torres, 2007)(Bonilla, A., 2016, p. 14)

## Características botánicas

Puede ser considerada como un arbusto trepador con un rápido crecimiento que logra alcanzar los 6 m de largo, con hojas trilobuladas, obtusas en su base y coriáceas de aproximadamente 8 cm de largo por 9 cm de ancho, con borde aserrado. Las flores son grandes con coloración roja o rosa carmín y pétalos de 3 a 5 cm de diámetro. (Sánchez, L., 2016, p. 23)

1.2.5.2. *Passiflora tripartita*



Figura 5-1 *Passiflora tripartita*

Fuente: [http://ketenewplymouth.peoplesnetworknz.info/image\\_files/0000/0007/6729/Passiflora\\_tripartita\\_var.\\_azuayensis.JPG](http://ketenewplymouth.peoplesnetworknz.info/image_files/0000/0007/6729/Passiflora_tripartita_var._azuayensis.JPG)

División Taxonómica

Reino:           Plantae  
División:       Magnoliophyta  
Clase:           Magnoliopsida  
Orden:          Violales  
Familia:        Passifloraceae  
Género:         Passiflora  
Especie:        *P. tripartita*

## Distribución y Hábitat

Especie característica de la cordillera Andina, su desarrollo puede darse a nivel costa así como también en la montaña. Está localizada en países como: Ecuador, Colombia y Brasil, que poseen anualmente precipitaciones que van entre 800 y 1500 mm y en altitudes de 200 a 3200 msnm. (Sánchez, L., 2016, p. 21)

## Usos

Su uso es exclusivamente alimenticio y en algunos casos, más que todo en la ciudad, es utilizada como ornamento de fachadas en viviendas. (Sánchez, L., 2016, p. 21)

## Características Botánicas

Considerada también como una planta enredadera, característica que comparte con las otras especies de *Passiflora*, posee un tallo redondo y veloso con hasta 6 metros de longitud, sus hojas son trilobuladas, aserradas y de coloración verde oscura, posee flores rosadas con un tubo de 4 a 8 cm de largo, sus frutos son ovalados y amarillos de 8 cm de largo y 4 cm de diámetro aproximadamente. (Sánchez, L., 2016, p. 21)

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

La metodología más efectiva para el estudio es por administración por vía oral a ratones, que también presentan los mismos efectos conductuales y psicológicos que los seres humanos, y posteriormente son sometidos a pruebas psicolepticas para poder determinar los niveles de estrés, temor y principalmente ansiedad. La utilización de animales de experimentación tiene como ventaja principal la utilización de sustancias obtenidas por análisis fitoquímico en pequeñas porciones. (Renojo, J, 2011) (Idrobo, T., 2016, p. 35)

Se supone que el miedo generado por los animales equivale al estado ansiedad en seres humanos, y en las investigaciones realizadas se trata de simular a los trastornos de ansiedad en humanos intersecándolos con un reactivo biológico. Tras la investigación por varios años a la ansiedad con la utilización de modelos animales, se llegó a la conclusión de la existencia de dos tipos de respuestas que son: modelos con respuestas condicionadas y otras denominadas no condicionadas. (Polanco & Vargas -Irwin , 2011, p. 142)

#### *1.2.6.1. Modelos de respuesta condicionada*

Estos modelos se caracterizan por la valoración a la capacidad de respuesta de un estímulo que obtiene respuesta específica a otro estímulo. Por lo general se realiza un estímulo de tipo aversivo, como por ejemplo una pequeña descarga eléctrica sobre el animal, el que manifiesta una cierta respuesta. El experimentador tiene un control muy preciso en niveles de conducta inicial en esta clase de modelos. (Romero, M., 2016, p. 43)

Una de las principales desventajas que se presentan en este tipo de modelos proviene del enternamiento permanente que los individuos necesitan para la experimentación, además de la utilización de varios grupos control en el diseño experimental, para de esta manera desechar efectos no especificados en el tratamiento. (Romero, M., 2016, p. 43)

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

Los modelos de respuesta no condicionada tienen como objetivo encontrar una respuesta fisiológica producto de un estímulo, teniendo una superior eficacia neurobiológica. En este tipo de pruebas no es necesario el entrenamiento, privación de algún elemento de la alimentación, son rápidas, fáciles y con bajo costo, debido a ello presentan menos sensibilidad en procesos de motivación y sus respuestas espontáneas son basadas en la conducta del ratón. No obstante el estudio de la conducta en los animales de experimentación es más compleja en relación a la de los modelos condicionados. Las pruebas pertenecientes a estos modelos son: laberinto elevado en cruz, campo abierto, caja con cuarto claro y oscuro, interacción social, tabla de agujeros, contraste negativo, las cuales son por lo general las más utilizadas. (Renojo, J, 2011) (Idrobo, T., 2016, p. 35)

- Laberinto elevado en cruz (EPM)

Es un modelo clásico bastante utilizado, pocas veces considerado como el principal, que consta de cuatro brazos, dos de ellos están abiertos y los otros restantes se encuentran cerrados. Los animales de experimentación por lo general acuden a los brazos cerrados por más tiempo que en a los brazos abiertos, debido a la inseguridad que estos sienten. Cuando se administra fármacos ansiolíticos el tiempo de permanencia de los animales de experimentación en los brazos abiertos y también el número de entradas en cualquiera de los brazos abiertos se ve incrementado, pero sin aumento relativo de la actividad motora (Rang & Dale, 2012, pp. 531-539).

- Campo abierto (OFT)

Esta prueba exhibe una amplia gama de conductas en el roedor. Se expone al animal de experimentación a una situación ansiogénica, en este caso es un espacio abierto donde no tiene la capacidad de escapar, y se realiza la valoración del grado de “emocionalidad” (ansiedad), la actividad locomotora. Las variaciones en el tamaño campo, en la textura del piso, sonidos ambientales adicionales y la iluminación producen también cambios en los resultados como: distancia recorrida, deambulación, ubicación del animal, movimientos corporales como el acicalamiento, olfateo, estiramiento, entre otras. (Idrobo, T., 2016, p. 35) (Polanco & Vargas -Irwin, 2011, p. 142)

- Caja luz/oscuridad

Basada en la relación que existe entre el ratón y la oscuridad, se realiza la medición con tiempo de permanencia en el cuarto claro y su número de transiciones, debido a que el roedor siempre huye de áreas claras. (Rejón-Orantes, 2011, p. 83)

- Chimenea

Principalmente nos da un factor respuesta que esa la miorrelajación que se distingue cuando el ratón da marcha atrás para salir del tubo.

*“El uso de animales como fuente de información tiene años de uso. Se trata de animales con calidad genética, factores ambientales controlados; que nos puedan dar respuestas fiables y reproducibles.”* (Guamán, M., 2016, p. 43)

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

Esta es una investigación exploratoria, correlacional, con diseño experimental. Basada en la determinación de dosis efectiva de la *Passiflora manicata* y *Passiflora tripartita*. Inicia con la preparación de extractos etanólicos a diferentes concentraciones, para investigar *In vivo*. El experimento emplea ratones *Mus musculus*, evaluando la actividad ansiolítica mediante cuatro test; los resultados obtenidos se comparan frente a un fármaco tradicional.

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

#### 2.1. Recolección de la materia vegetal

En la Figura 1-2 puede observarse el punto de recolección de la *Passiflora manicata*, ubicado en la Provincia de Chimborazo, cantón Pallatanga, parroquia Juan de Velasco en el Km 187 a una altura aproximada de 2670msnm. Las coordenadas en las que fue recolectada:

Latitud: -1°59'24.22" S

Longitud: -78°57'54.50" O

Altitud: 1615 msnm



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

Fuente: Google Earth, 2016

En la Figura 2-2 se observa el punto de recolección de la *Passiflora tripartita*, ubicada en la provincia de Chimborazo, cantón Riobamba, parroquia Velasco, en el Barrio a una altura aproximada de 2753msnm. La muestra de pasiflora fue recolectada en las coordenadas:

Latitud: -1° 40'37,00" S

Longitud: -78° 38'30,71" O

Altitud: 2750 msnm



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

Fuente: Google Earth, 2016

## 2.2. Materiales equipos y reactivos

Tabla 1-2 Lista de materiales, equipos, reactivos

Obtención de extracto liofilizado		
Materiales	Equipos	Reactivos
Balones esmerilados 250 mL Espátula Trípode Embudo simple Algodón higroscópico Varilla de agitación	Balanza analítica.- Balanza electrónica Marca: RADWAG Estufa.- Marca: Mermet Molino de cuchillas.- Marca: Arthur H. Thomas C.O avapor.- R 110 Sonicador .- Marca: Branson 2510 Congelador Liofilizador.- Marca: Thermo MicroModulyo Freeze Dryer	Agua clorada Alcohol etílico 85% Nitrógeno líquido
Cuantificación de flavonoides		
Materiales	Equipos	Reactivos
Balón aforado de 25 mL Tubos de vidrio 10 mL	Espectrofotómetro.- S-2150 Spectrophotometer Agitador magnético	Nitrito de Sodio 5% Tricloruro de aluminio 10% Hidróxido de sodio 1M Agua bidestilada
Cromatografía en capa fina (CCF)		
Materiales	Equipos	Reactivos
Cuba cromatográfica Capilares Aspersor Placa cromatográfica Micropipeta automática de 250 uL Puntas amarillas de 100 uL	Cámara UV.- Chromato Vue modelo cc20  Vórtex	Solución de 200 ppm de extracto liofilizado Ácido acético glacial Ácido fórmico Cloroformo ACS Metanol Acetato de etilo
<b>Continuará</b>		

Continúa		
Evaluación de la actividad ansiolítica		
Materiales	Equipos	Reactivos
Tubos de vidrio 10 mL Pera Pipeta aforada 2 mL Bandejas de plástico	Balanza analítica.- Balanza electrónica Marca: RADWAG Balanza digital	Reactivo biológico: Ratones ( <i>mus musculus</i> ) hembras procedentes del Bioterio de la Universidad de Guayaquil Peso promedio: 25-35 g Sexo: hembras Edad: adultas Propilenglicol 15% Clonazepam 2,5mg/mL

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

### 2.3. Preparación de extractos

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

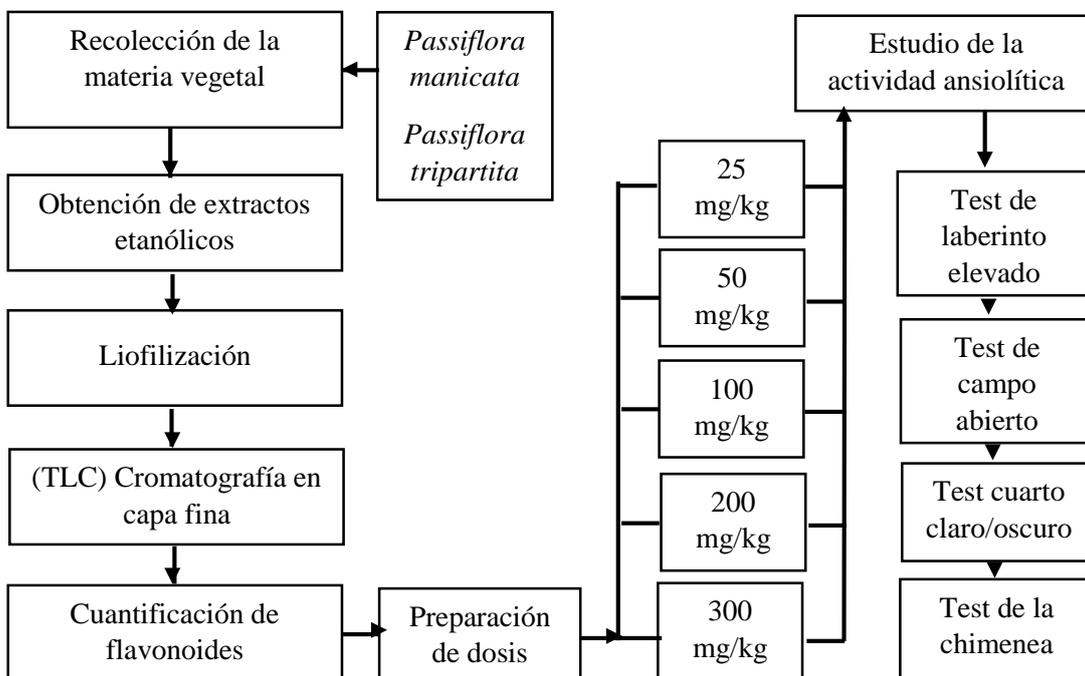


Gráfico 1.2 Esquema para la determinación de dosis efectiva para actividad ansiolítica

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

### 2.3.1. *Recolección, lavado, deshidratado de la materia vegetal*

El material vegetal se recolectó y se realizó una clasificación de hojas aparentemente sanas en cantidad suficiente. Se las lavó con solución de hipoclorito diluido, eliminando el exceso de agua y fueron colocadas en la estufa de aire caliente a 40°C.

Luego de horas en la estufa se procedió a sacarlas y enfriarlas, luego fueron trituradas, tamizadas, y almacenadas en papel rígido para evitar que el material vegetal adquiera humedad nuevamente, garantizando su estado hasta su utilización.

### 2.3.2. *Obtención de extractos liofilizados*

La obtención de extractos según Carrión & García, 2010 pp 39-41, se preparó una solución etanólica al 85%, se tomó 50g de materia vegetal de cada una de las especies de pasiflora se realizó una mezcla 1:5 etanólica, se dejó reposar 30 minutos, y se sonicó por un periodo de 30 minutos, se filtró la mezcla en algodón higroscópico con la ayuda del embudo simple y un trípode. Luego de filtrado se concentró en el rotavapor extrayendo el alcohol presente en la solución, reduciéndolo a 1/3 para luego filtrarlo por segunda vez. El filtrado se congeló durante 48 H. Se mantuvo la congelación con nitrógeno líquido reduciendo la temperatura de congelación formando así un cristal eutéctico. Se siguió el método del Gráfico 2-2.

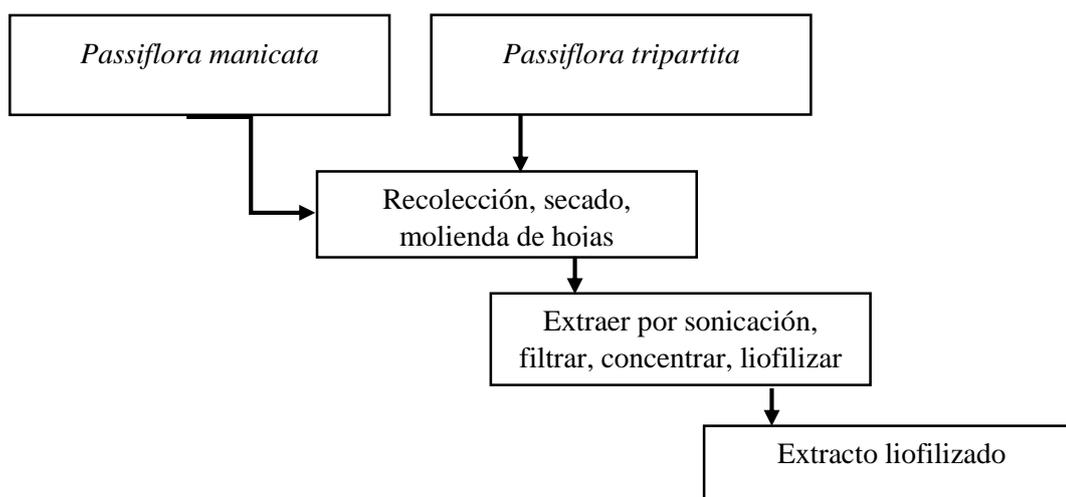


Gráfico 2-2 Flujograma para la obtención de extractos

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

## 2.4. Métodos y técnicas

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

Para la realización de la cromatografía se siguió la metodología para determinar glicósidos flavónicos (Gráfico 3-2). Se preparó soluciones alcohólicas de 2000 ppm, luego se procedió a sembrar 10  $\mu$ L con pipeta automática en una placa cromatográfica. Se introdujo la placa en la cuba, hasta que el solvente recorra las  $\frac{3}{4}$  partes de la placa; se utilizó la fase móvil ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26). Se retiró la placa y se dejó secar. Se reveló con cloruro de aluminio y observó en la cámara UV. Se midieron los Rf. (Wagner & Blade, 1996, p. 196)

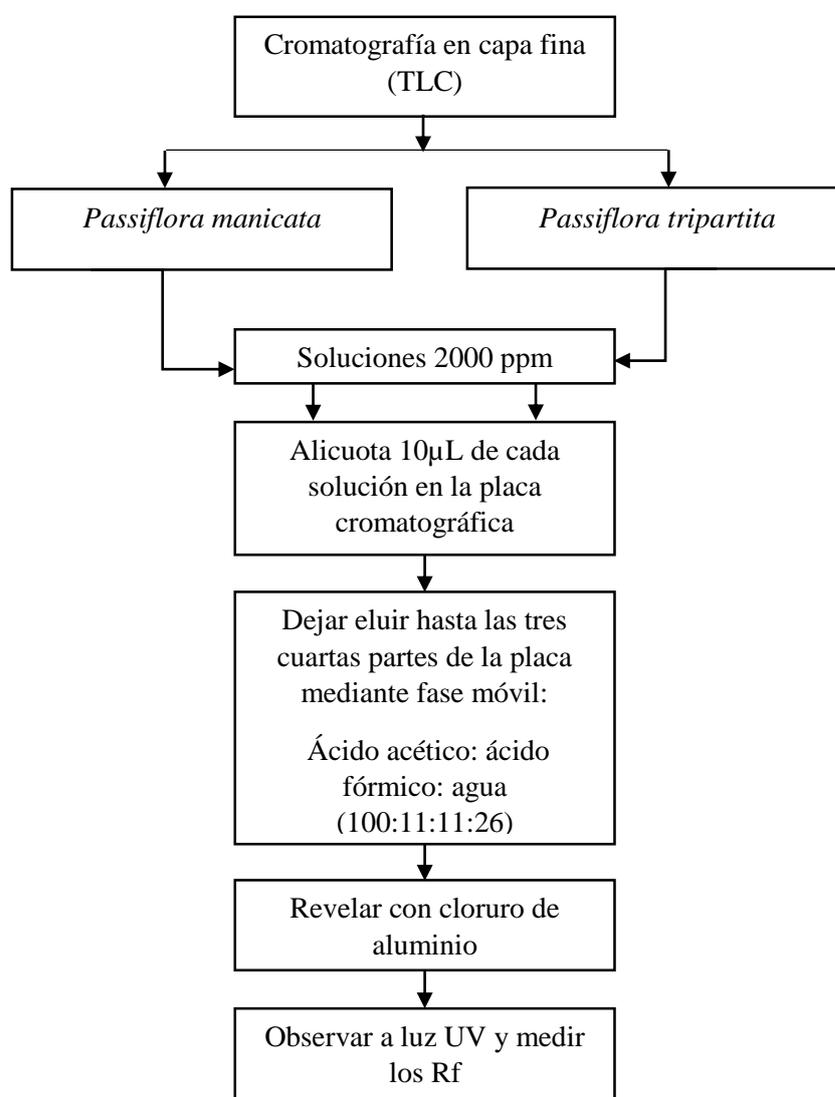


Gráfico 3-2 Flujograma de cromatografía en capa fina (TLC)

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

#### 2.4.2. Cuantificación de flavonoides

El contenido de flavonoides de los extractos liofilizados de cada especie de *Passiflora* fue medido por espectrofotometría en tres repeticiones y está basada en el estudio de Hua & Teik, 2012. Se realizó una solución de 200 ppm de la cual se tomó una alícuota de 200  $\mu\text{L}$ , luego se añadió 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  al 5% p/v, se homogenizó, se dejó en reposo durante 5 min, luego se añadieron 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10% p/v, se agitó y se dejó en reposo durante 6min, para finalizar se agregó 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  1M. La absorbancia de la reacción fue medida después de 6 minutos de la última adición, a 510 nm. La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración de rutina de 20 a 100 mg/L. Los flavonoides totales se expresan como miligramos de quercetina por gramos de extracto liofilizado. (Boukhris et al, 2013, pp. 1206-1213)

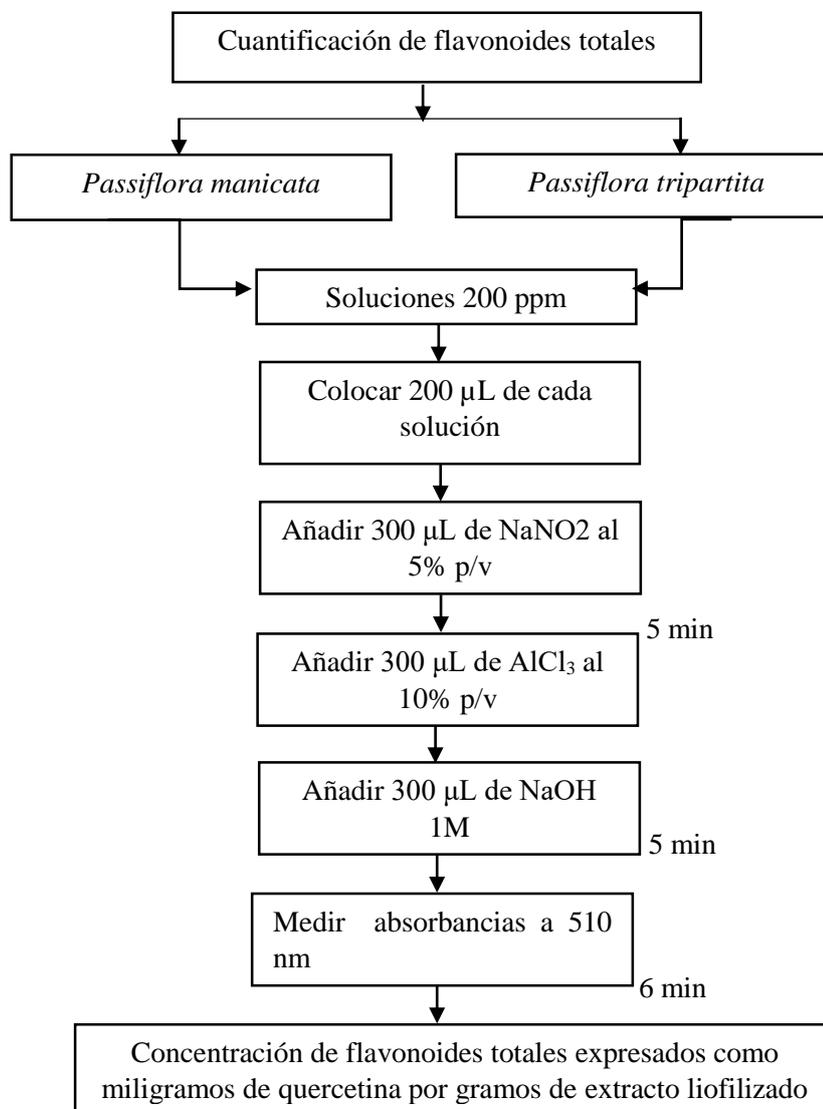


Gráfico 4-2 Flujo para la cuantificación de flavonoides totales

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

### 2.4.3. Determinación de la actividad ansiolítica

La especie de animal experimental usado fueron ratones *Mus musculus* obtenidos del Bioterio de la Universidad de Guayaquil y su adaptación se dio por el tiempo de un mes. Su mantención fue de acuerdo a los principios básicos de las Buenas Prácticas de Laboratorio en el Bioterio. Se mantuvo control de parámetros como temperatura, humedad relativa, ciclo de luz-oscuridad.

La actividad ansiolítica se determinó en 60 ratones, con alimentación y agua *ad libitum* antes de los ensayos. Fueron trasladados 30 minutos antes del experimento para favorecer su ambientación. El estudio siguió el mismo modelo en las dos tipos de pasifloras.

Tabla 2-2 División y codificación de grupos *Passiflora manicata* y *Passiflora tripartita*

	CONTROL Clonazepam	BLANCO Propilenglicol	25 mg/ kg	50 mg/ kg	100 mg/ kg	200 mg/ kg	300 mg/ kg
<i>Passiflora manicata</i> (PMn)	0,5mg/kg	15%	PMn1	PMn2	PMn3	PMn4	PMn5
<i>Passiflora tripartita</i> (PT)	0,5mg/kg	15%	PT1	PT2	PT3	PT4	PT5

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Los extractos liofilizados se los reconstituyó con propilenglicol al 15% y se administró en dosis de acuerdo a la Tabla 2.2, El control positivo fue Clonazepam 0.5 mg/kg disuelto en el vehículo, al grupo blanco se administró propilenglicol 15%. Los tratamientos se administraron a cada ratón por única vez con volumen aproximado de 0,2 mL de disolución; se aguardó 30 minutos para la evaluación de los test de repuesta no condicionada, cada grupo tenía un número de 5 ratones.

La evaluación de actividad ansiolítica constó de 4 test realizándose de manera consecutiva en orden similar, en aparatos previamente desinfectados con solución de etanol al 10%; cada prueba fue grabada por un período de cinco minutos para la posterior observación del comportamiento del ratón. Los ensayos se efectuaron conforme al Gráfico 5-2

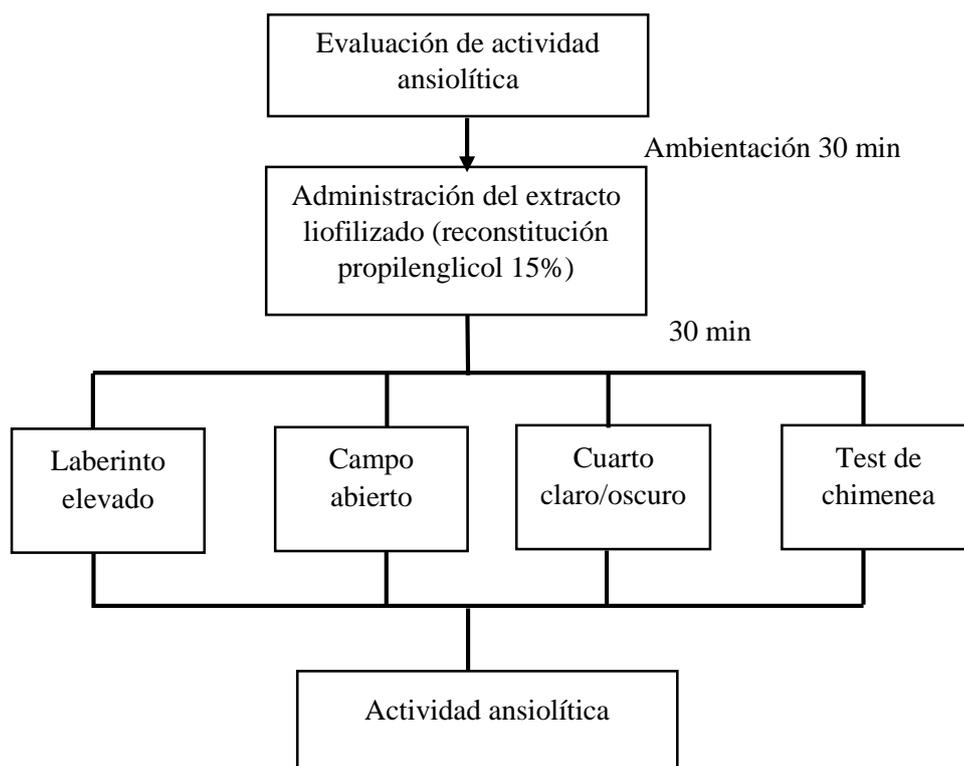


Gráfico 5-2 Flujograma para evaluación de la actividad ansiolítica

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Se realizaron 4 test para la determinación de dosis efectiva de las dos pasifloras.

#### 2.4.3.1. Laberinto en Cruz Elevado (EPM)

El banco de prueba de laberinto en cruz elevado se compone por dos brazos abiertos perpendiculares (30cm x 5cm) y dos brazos cerrados perpendiculares (30cm x 5cm x 25cm). Los brazos abiertos y cerrados se conectan por una plataforma central (5cm x 5cm). El laberinto se encuentra a una elevación de 50 cm del suelo. Treinta minutos después de la administración oral, el animal se coloca en el centro del laberinto con su nariz en la dirección de uno de los brazos cerrados. El ratón fue filmado durante 5 min, y los siguientes parámetros fueron medidos:

- **Porcentaje de tiempo de permanencia en brazos abiertos (%PTBA):** 100(tiempo en brazos abiertos/total del tiempo de prueba). Se consideró el tiempo desde que las cuatro patas del roedor están en el brazo abierto.

- **Número de entradas en los brazos (EBA):** Se consideró como una entrada cuando el roedor tiene sus cuatro patas en el siguiente brazo, sea este abierto o cerrado.

Las mediciones son válidas cuando el animal tiene sus cuatro patas en el brazo siguiente. El aparato debe ser limpiado cuidadosamente con solución de etanol al 10% después de cada prueba. (Expósito, 1994, p. 131-132)

#### 2.4.3.2. *Cuarto claro/oscur*

El aparato de esta prueba es una caja de (45×27×27cm), construida de madera. Con un orificio rectangular de (7.5×7.5cm) que la divide en dos compartimentos; uno pequeño (18×27cm) pintado de negro y otro de (27×27cm) pintado de blanco. La prueba inició colocando el ratón en la parte clara de la caja. Se registró los movimientos del roedor por tiempo de 5 minutos.

El parámetro analizado fue:

- **Tiempo en el cuarto claro (TCC):** tiempo total en minutos que permanece en el cuarto claro. Se consideró a partir de que el roedor tiene sus cuatro patas en el cuarto claro. El aparato debe ser limpiado con una solución etanólica al 10%. (Cardozo et al, 2009, p. 326)

#### 2.4.3.3. *Campo abierto*

El aparato de campo abierto es de madera contrachapada, con una de las paredes de policarbonato para facilitar la visualización. Tiene las dimensiones de 60cm x 60cm de color blanco, en su superficie está dividido en 16 cuadrados de 15cm x 15 cm con contorno negro y el del centro con contorno rojo. El test fue registrado en video durante 5 minutos.

Se midieron los siguientes parámetros:

- Cuadros recorridos (CRE): se tomó referencia los cuadrados recorridos en toda la superficie del campo abierto. Se consideró como cuadro recorrido cuando el ratón sale con sus cuatro patas.
- Tiempo en el centro (TCR): tiempo total en minutos de permanencia en el cuadrado central señalado con contorno rojo. (Polanco & Vargas -Irwin, 2011, p. 145)

#### 2.4.3.4. Chimenea

Se requirió de un tubo de vidrio transparente de 28 mm y marcado a 20cm de un extremo del tubo. Se toma al ratón por la cola y se lo hace ingresar al tubo, hasta la marca. Inmediatamente se coloca el tubo sobre una superficie de tal forma que el ratón este vertical y con la cola hacia arriba. Un ratón en condiciones normales consigue subir en menos de 30 segundos.

- Tiempo que tarda en salir: es el tiempo en minutos que sale completamente del tubo. (Expósito, 2007, pp. 127-128)

La correlación de los test y sus variables medidas son determinantes para establecer la mejor dosis en las dos pasifloras. Se midieron las siguientes variables que determina un parámetro definido:

Tabla 3-2 Parámetros observados en el modelo de ansiedad

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

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

**Realizado por:** SILVA, Fabián, 2016

Se utilizó el software IBM SPSS iniciando con pruebas de normalidad donde se estableció la distribución normal de la muestra. El análisis de dosis se realizó con el test Anova y post hoc HSD Tukey y Duncan según corresponda. Para el análisis comparativo de especies de passifloras se utilizó el test T- student para muestras independientes. Posterior al estudio los animales de experimentación fueron sacrificados con éter.



## CAPÍTULO III

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

Se realizó el estudio obteniendo los siguientes resultados:

#### 3.1. Porcentaje de rendimiento

Los extractos etanólicos al 85% liofilizado de hojas de *P. manicata* y *P. tripartita*; se obtuvo los siguientes rendimientos:

Tabla 1-3 Porcentaje de rendimiento de hojas de *P. manicata* y *P. tripartita*

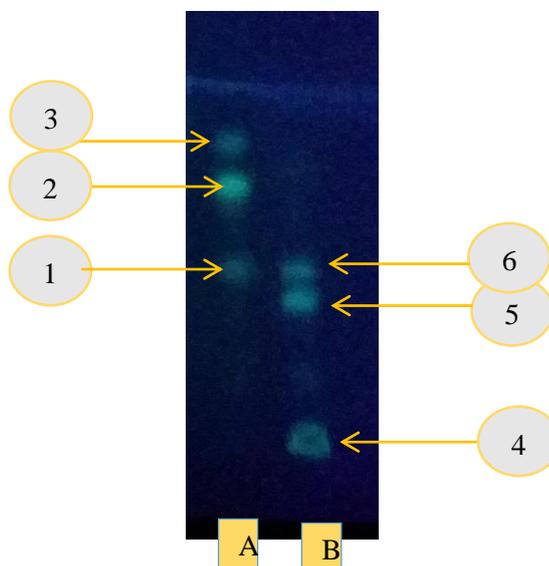
MATERIA VEGETAL	Cantidad obtenida (mg de extracto liofilizado/g de hojas secas)	Rendimiento (%)
<i>Passiflora manicata</i>	42,2 mg /g de hojas	4,22 %
<i>Passiflora tripartita</i>	50,1 mg /g de hojas	5,01 %

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

En estudios similares el porcentaje de extracción obtenido en hojas de *Passiflora ligularis*; ve entre 5,55% y 4.96, y el valor obtenido de porcentaje de rendimiento de *Passiflora manicata* es de 4,22% y de *Passiflora tripartita* es de 5,01%, valores que se relacionan pese a tratarse de especies diferentes. (Guaman, M., 2016, p. 56)

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

La cromatografía en capa fina nos dio los resultados aquí descritos:



**Figura 1-3** Cromatografía en capa fina (CCF) para flavonas glicosiladas

Cromatografía del extracto etanólico liofilizado de hojas para flavonoides de *Passiflora manicata* (A) y *Passiflora tripartita* (B) observada mediante lámpara UV cercano. Fs. Sílica Gel con fluorescencia a 254 nm, Fm: acetato de etilo: ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26). **Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

Se obtuvo los siguientes Rf en el extracto liofilizado de hojas de *Passiflora manicata* (A) y *Passiflora tripartita* (B):

**Tabla 2-3** Rf obtenidos mediante cromatografía en capa fina

Extracto etanólico al 85% de hojas para flavonoides	Compuesto	Rf
<i>Passiflora manicata</i> (A)	1	0,71
	2	0,80
	3	0,90
<i>Passiflora tripartita</i> (B)	4	0,54
	5	0,48
	6	0,15

**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

Mediante TLC del extracto de hojas de *Passiflora manicata* (A) se separaron tres compuestos con Rf de 0,71; 0,83 y 0,91 y de *Passiflora tripartita* (B) 0,48; 0,46 y 0,21 que comparándolos con la bibliografía reportada por Wagner & Bladt, 1996; estos Rf de estándares puros de vitexina, orientina y demás compuestos relacionados son los siguientes:

Tabla 3-3 Rf de posibles compuestos estándares

Compuesto	Rf
Vitexina	0,6-0,65
Isovitexina	0,54
Isovitexina-2''-O-ramnósido	0,41
Vitexina-2''-O-ramnósido	0,41
Vitexina-2''-O-glucósido	0,28
Isoorientina	0,46
Orientina	0,57
Schaftoside	0,80
Apigenina	0,90

Fuente: (Wagner & Bladt, 1996)

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Haciendo relación los datos obtenidos con bibliografía de Wagner & Blade (1996) se presume que el compuesto número 2 correspondería a Schaftoside, el compuesto número 3 a Apigenina, el compuesto número 4 a Isovitexina y el compuesto 5 a Isoorientina. Según un estudio de Rafaelli (1997) en *Passiflora incarnata* existe presencia de Schaftoside y comparándolo con el Rf de referencia en Wagner & Bladt (1996) el compuesto número 2 correspondería a schaftoside, concordando esto con la metodología utilizada para flavonas glicosiladas. (Rafaelli et al, 1997, p. 225) (Wagner & Blade, 1996, p. 230)

### 3.3. Cuantificación de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales se realizó con tres repeticiones, mediante espectrofotometría e interpolación de las absorbancias en una curva de calibración de estándar de quercetina cuya ecuación de la recta fue  $y = 0.001x + 0.0015$  y coeficiente de relación  $R^2 = 0.999$ , con estándar de quercetina.

Tabla 4-3 Resultados de cuantificación de flavonoides totales

Extracto	Flavonoides totales expresados como mg equivalentes de quercetina/g extracto liofilizado
Extracto etanólico al 85% de hojas de <i>Passiflora manicata</i>	661,667 ± 3,803
Extracto etanólico al 85% de hojas de <i>Passiflora tripartita</i>	157,529 ± 2,897

Media ± desviación estándar de 3 determinaciones.

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

La concentración de flavonoides en el extracto liofilizado de hojas de *P. manicata* fue de 661,667 ± 3,803 FTEQ/g; según estudios anteriores el extracto con etanol al 70% donde se cuantificó 1493,333 mg de Quercetina/g de materia vegetal de hojas desecadas de *P. manicata*. El extracto liofilizado de *P. tripartita* mostró 157,529 ± 2,897 FTEQ/g. En anteriores estudios la cantidad fue de 55.17 mg ± 2,204 FTEQ/g en materia vegetal de hojas desecadas; diferencia que se podría responsabilizar a la liofilización de los extractos. (Bonilla, A., 2016, p. 42) (Lema, M., 2016, p. 42)

### 3.4. Evaluación de la actividad ansiolítica

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

Tabla 5-3 Número de entradas a brazos

Control	Blanco	<i>Passiflora manicata</i> (Mn)					<i>Passiflora tripartita</i> (T)				
		Mn1	Mn2	Mn3	Mn4	Mn5	T1	T2	T3	T4	T5
2,80	11,6	9,40	11,8	9,60	8,6	11,2	6,2	7,8	4,8	2,8	9,2
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
4,02	7,78	6,09	4,58	5,68	10,42	10,55	8,41	2,29	3,73	2,99	9,29

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones. p < 0.05

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 6-3 Porcentaje de tiempo en brazos abiertos, %

Control	Blanco	<i>Passiflora manicata</i> (Mn)					<i>Passiflora tripartita</i> (T)				
		Mn1	Mn2	Mn3	Mn4	Mn5	T1	T2	T3	T4	T5
97,5200	4,332	6,333	8,46	8,66	5,46	1,13	2,73	4,60	4,00	9,46	9,40
±	0±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
4,80125	3,928 18	10,00	5,88	8,00	7,69	9,43	11,02	13,65	12,59	8,56	6,81

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

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 7-3 Test Anova para número de entrada a brazos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	482,983	11	43,908	5,460	,000
Dentro de grupos	386,000	48	8,042		
Total	868,983	59			

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 8-3 Test Anova de porcentaje de tiempo en brazos abiertos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	46070,464	11	4188,224	228,908	,000
Dentro de grupos	878,234	48	18,297		
Total	46948,699	59			

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 9-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de número de entradas.

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
CONTROL	5	,6000	
<i>P. tripartita</i> D3	5	,8000	
<i>P. manicata</i> D5	5	1,0000	
<i>P. tripartita</i> D1	5	1,0000	
<i>P. manicata</i> D4	5	1,6000	
<i>P. tripartita</i> D2	5	1,8000	
<i>P. manicata</i> D3	5	2,0000	
<i>P. tripartita</i> D4	5	2,2000	
<i>P. manicata</i> D2	5	3,0000	
<i>P. manicata</i> D1	5	3,2000	
<i>P. tripartita</i> D5	5	3,4000	
BLANCO	5		11,6000
Sig.		,914	1,000

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 10-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
<i>P. manicata</i> D5	5	,0567		
<i>P. manicata</i> D4	5	,1967		
<i>P. manicata</i> D1	5	,2733		
<i>P. manicata</i> D3	5	,3667		
<i>P. manicata</i> D2	5	,3767		
BLANCO	5	4,3320		
<i>P. tripartita</i> D1	5		31,4000	
<i>P. tripartita</i> D3	5		32,6667	
<i>P. tripartita</i> D2	5		33,2667	
<i>P. tripartita</i> D5	5		38,0667	
<i>P. tripartita</i> D4	5		38,1333	
CONTROL	5			97,5200
Sig.		,908	,371	1,000

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

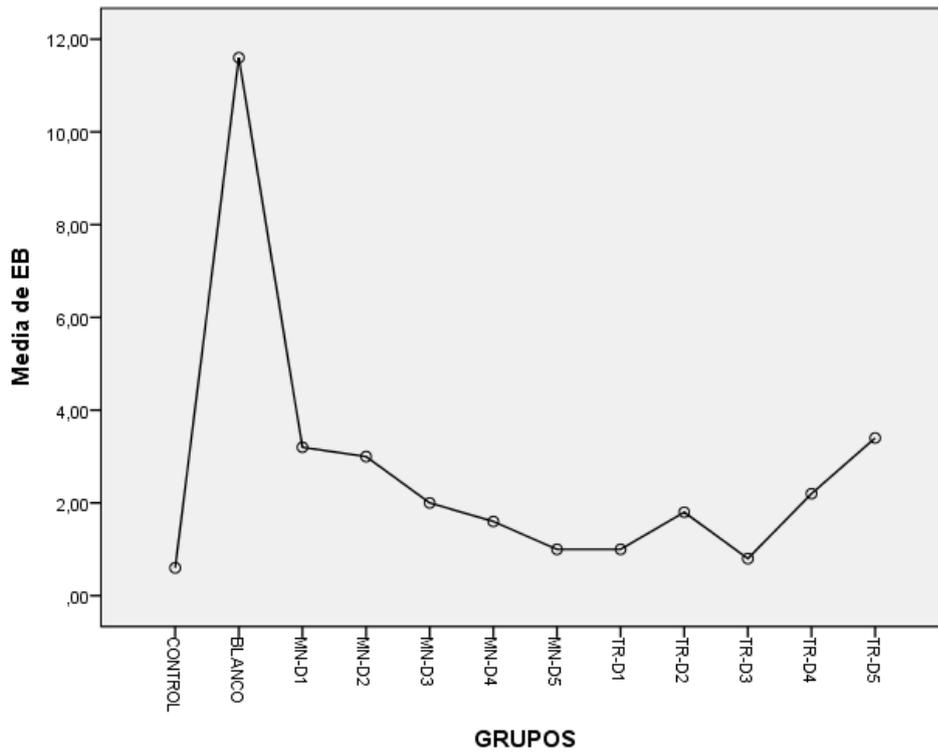


Gráfico 1-3 Medias de número de entrada a brazos

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

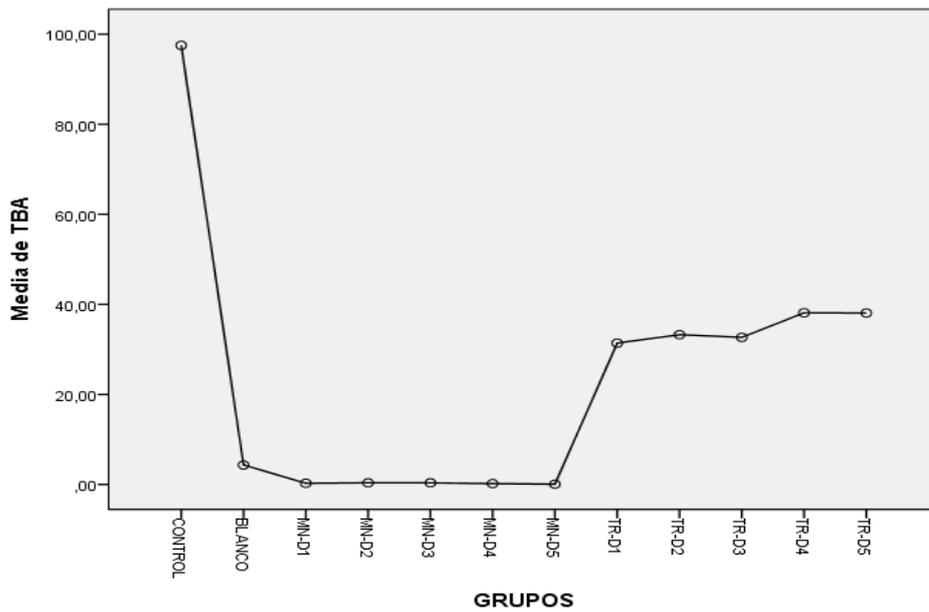


Gráfico 2-3 Medias de porcentaje de tiempo en brazos abiertos

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 11-3 Test t de Student de número de entradas a brazos para comparación de especies de Passiflora

EBA	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-1,236	48	0,225

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 12-3: Test t de Student de porcentaje de tiempo en brazos abiertos para comparación de especies de Passiflora

PTBA	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-0,323	48	,000

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

El test Anova (Tabla 7-3, Tabla 8-3) muestra diferencia significativa en las dos variables medidas. En el número de entradas a brazos el análisis post-hoc HSD Tukey (Tabla 9-3); se forman 2 grupos homogéneos. Las dosis T D3, Mn D5, T D1, Mn D4, T D2, Mn D3, T D4, Mn D2, Mn D1 y T D5 forman grupo homogéneo con el grupo control, lo que quiere decir que estas dosis inducen depresión en la actividad motora.

Los tratamientos restantes se encuentran en el grupo homogéneo con el blanco con medias que la superan, estas son: PMD1, PMD2, PLD5, lo cual indica que en este test son dosis ansiogénicas elevando la movilidad del animal. El test t-Student Tabla (11-3) demuestra que no hay diferencia significativa entre el extracto liofilizado de *P. manicata* y *P. tripartita*.

El porcentaje de tiempo en brazos abiertos análisis post-hoc HSD Tukey (Tabla 10-3); se forman 3 grupos donde se observa que ninguna dosis forma grupo homogéneo con el control. Sin embargo, T D4, T D5, T D2, T D3 Y T D1 forman parte del grupo más cercano al control lo cual indica actividad insolítica considerable.

El test t-Student (Tabla 12-3) indica que existe diferencia significativa entre el extracto liofilizado de *P. manicata* y *P. tripartita*; y tomando en cuenta la cercanía al grupo control en el Gráfico 1-3 y los análisis Post-Hoc se determina que en este test las dosis de extracto liofilizado de *P. tripartita* tienen un efecto ansiolítico mayor que el indicado extracto liofilizado de *P. manicata*.

Se observa que la actividad ansiolítica es directamente proporcional a la concentración de cada una de las concentraciones de los extractos liofilizados, a excepción de la T D3.

En cuanto al efecto que genera los extractos liofilizados de *P. manicata* y *P. tripartita* en el número de entradas a brazos, se podría considerar como sedativas, debido a que actúan directamente sobre la actividad motora, y aunque no forman un grupo homogéneo con el control también distan de hacerlo también con el blanco.

El porcentaje de tiempo en brazos abiertos las dosis que corresponden al extracto liofilizado de *P. tripartita* son los que forman un grupo homogéneo que es más próxima al control. Se observa en el Gráfico 1-3, que la media de todas las dosis no forman un grupo homogéneo con el grupo blanco por lo que a ninguna se le atribuye ningún efecto ansiolítico.

En cuanto al extracto liofilizado de *P. tripartita*, la T D3 forma grupo homogéneo con el control y la dosis de *P. manicata* Mn D1 y Mn D2, el de *P. tripartita* T D5 presentan números de entradas que no llegan al 50% de las que posee el grupo blanco y se les podría atribuir carácter ansiolítico. Los extractos liofilizados de *P. manicata* y *P. tripartita*, en sus cinco dosis forman grupo homogéneo con el grupo más cercano al control. El Gráfico 1-3 se observa la diferencia del blanco y las dosis administradas.

Los estudios realizados acerca de los efectos sedativos de *Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* y de *Passiflora alata* muestran que a dosis intermedias y dosis muy altas del extracto en mg/kg de peso del roedor inducen características sedativas, como es el caso de las dosis de *P. manicata* Mn D5 y *P. tripartita* T D1, T D3. (Nadine et al, 2013, pp.1-8)

### 3.4.2. Cuarto claro/oscuro

Tabla 13-3 Tiempo de permanencia en el cuarto claro, minutos

Control	Blanco	<i>Passiflora manicata</i> (Mn)					<i>Passiflora tripartita</i> (T)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
4,82	0,9307	1,71	1,22	1,02	2,26	2,85	1,99	1,56	1,65	1,61	2,12
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
0,35	0,59592	0,77	2,05	0,72	0,86	0,70	1,01	1,25	0,48	0,45	0,82

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

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 14-3 Test Anova para el tiempo en cuarto claro

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	60,068	11	5,461	2,673	,009
Dentro de grupos	98,046	48	2,043		
Total	158,114	59			

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 15-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en cuarto claro

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
BLANCO	5	,9300	
MN-D3	5	1,0200	
MN-D2	5	1,2200	
TR-D2	5	1,5600	
TR-D5	5	1,6133	
TR-D4	5	1,6567	
MN-D1	5	1,7100	
TR-D1	5	1,9967	1,9967
TR-D3	5	2,1233	2,1233
MN-D4	5	2,2633	2,2633
MN-D5	5	2,8500	2,8500
CONTROL	5		4,8200
Sig.		,609	,106

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

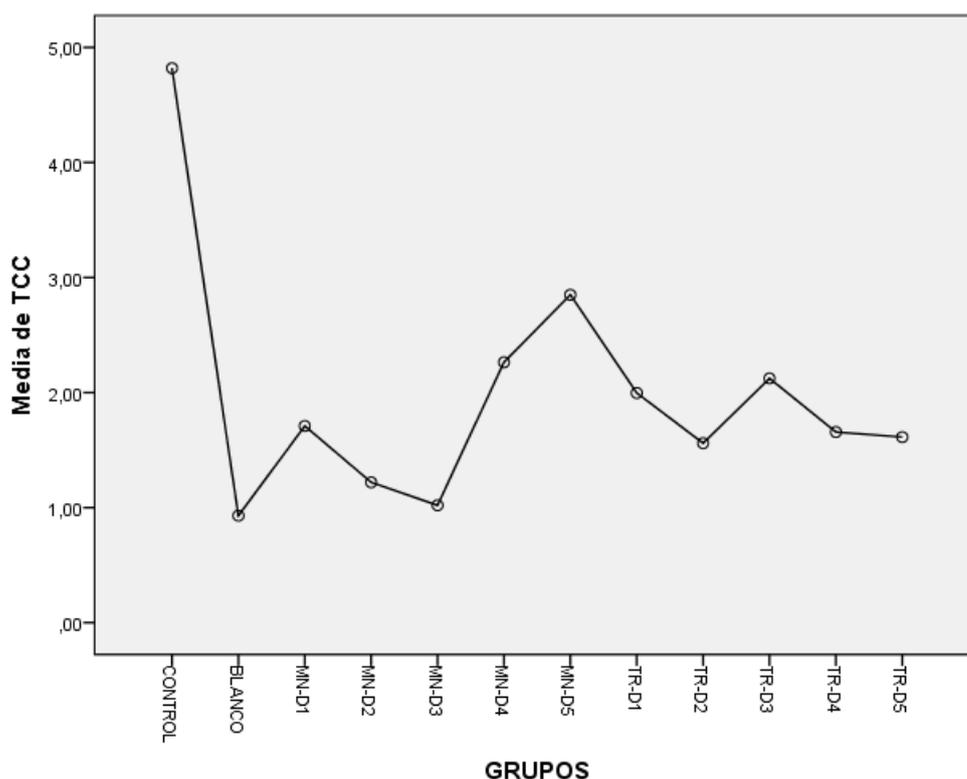


Gráfico 3-3 Medias de tiempo en cuarto claro

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 16-3 Test t de Student de tiempo en cuarto claro para comparación de especies de Passiflora

TCC	T	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-1,677	48	,000

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Según la Tabla 14-3 muestra que existe diferencia significativa. El estadístico Post-Hoc Tukey, especificado en la Tabla 15-3 forma dos grupos homogéneos, formando grupo homogéneo con el grupo control las dosis de extracto de *P. manicata* Mn D5, Mn D4 y de *P. tripartita* T D3, T D1. No se determina ningún tipo de actividad ansiolítica en Mn D3, Mn D2, T D2, T D5, T D4 y Mn D1. Se observa en el Gráfico 3-3, que la media de Mn D5 y T D3 tienen mayor tiempo en el cuarto claro. El test t-Student (Tabla 16-3) indica que hay diferencia significativa entre el extracto liofilizado de *P. manicata* y *P. tripartita*

El extracto liofilizado de *P. manicata* exhibe actividad ansiolítica solamente Mn D2 y Mn D3, estando en mayor proporción en Mn D3, datos que concuerdan con los obtenidos en el test de laberinto elevado expresado como porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

El extracto liofilizado de *P. tripartita*, la dosis T D2, T D4 y T D5 demuestran actividad ansiolítica difiriendo en dos de las dosis pero con repetición en una de ellas comparado con el test de laberinto elevado expresado como porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

### 3.4.3. Campo abierto

Tabla 17-3 Número de cuadros recorridos en campo abierto

Control	Blanco	<i>Passiflora manicata</i> (Mn)					<i>Passiflora tripartita</i> (T)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
14,20	85,80	56,6	61,20	48,00	57,6	48,60	42,8	60,40	55,4	82,80	80,00
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
12,68	49,98	8,12	4,14	8,51	6,48	8,60	5,97	8,17	7,11	3,37	2,87

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

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 18-3 Tiempo en centro de campo abierto, minutos

Control	Blanco	<i>Passiflora manicata</i> (PMn)					<i>Passiflora tripartita</i> (PT)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
0,00	0,24	,036	0,010	0,027	0,066	0,103	0,04	0,01	0,028	0,06	0,10
±	±	±	±	±	±	±	4 ±	±	±	±	±
0,00	0,23	0,14	0,14	0,11	0,115	0,056	0,12	0,14	0,111	0,12	0,56

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

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 19-3 Test de Anova para cuadros recorridos en campo abierto

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	21170,183	11	1924,562	1,414	,198
Dentro de grupos	65334,000	48	1361,125		
Total	86504,183	59			

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 20-3 Test Anova de tiempo en centro de campo abierto

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,396	11	,036	6,696	,000
Dentro de grupos	,258	48	,005		
Total	,654	59			

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 21-3 Test post-hoc Duncan de grupos homogéneos de cuadros recorridos

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
CONTROL	5	14,2000	
TR-D1	5	42,8000	42,8000
MN-D3	5	48,0000	48,0000
MN-D5	5	48,6000	48,6000
TR-D3	5	55,4000	55,4000
MN-D1	5	56,6000	56,6000
MN-D4	5	57,6000	57,6000
TR-D2	5	60,4000	60,4000
MN-D2	5	61,2000	61,2000
TR-D5	5		80,0000
TR-D4	5		82,8000
BLANCO	5		85,8000
Sig.		,093	,129

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 22-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en el centro

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
CONTROL	5	,0000	
MN-D2	5	,0100	
TR-D2	5	,0100	
MN-D3	5	,0267	
TR-D3	5	,0280	
MN-D1	5	,0367	
TR-D1	5	,0440	
TR-D4	5	,0660	
MN-D4	5	,0667	
TR-D5	5	,1020	
MN-D5	5	,1033	
BLANCO	5		,3140
Sig.		,538	1,000

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

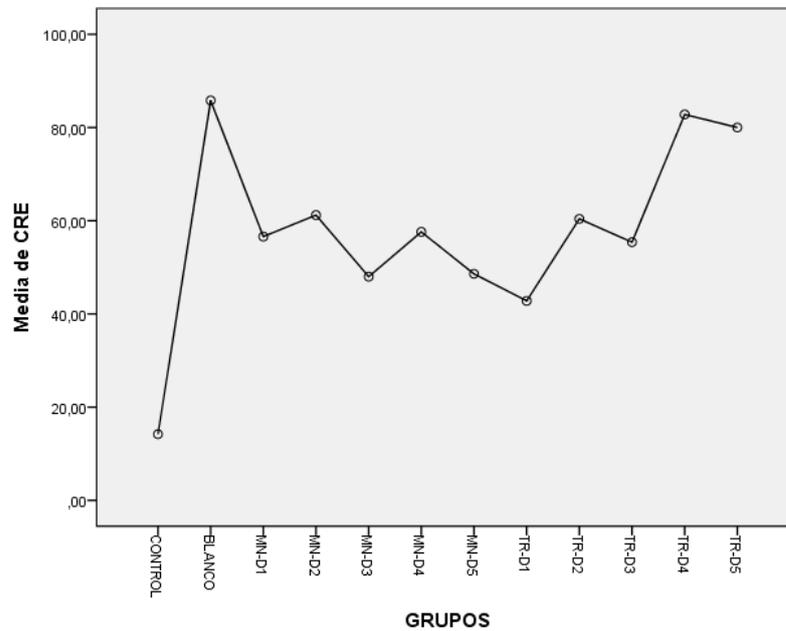


Gráfico 4-3 Medias de cuadros recorridos en campo abierto

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

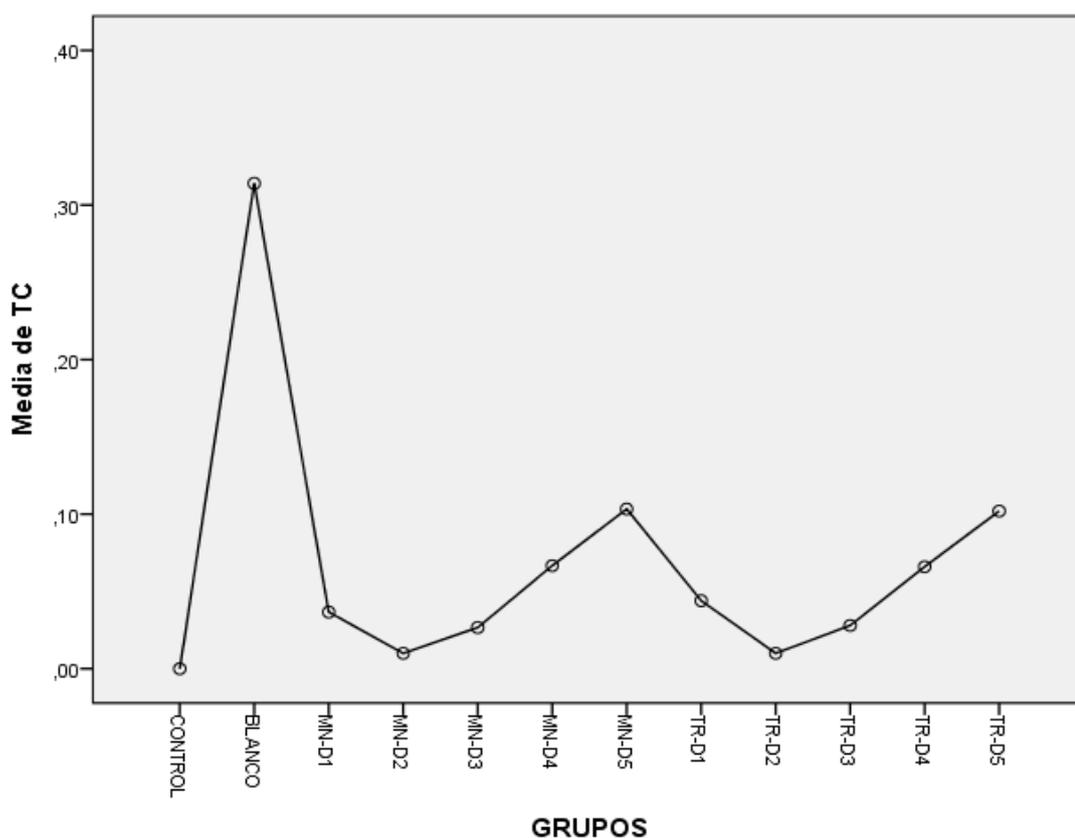


Gráfico 5-3 Medias de tiempo en el centro

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 23-3 Test t de Student de cuadros recorridos para comparación de especies.

CRE	t	Gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-3,34	48	,001

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 24-3 Test t de Student de tiempo en centro comparación de especies.

TCR	t	Gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-2,011	48	,000

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

El test Anova (Tabla 20-3, Tabla 21-3) indica la existencia de diferencia significativa entre las dosis administradas de cada una de las variables medidas. En lo referente a cuadros recorridos (Tabla 22-3); se forma 2 grupos homogéneos. Todas las dosis forman parte del grupo homogéneo con el control. Ningún tratamiento muestra mayor número de cuadros recorridos que el grupo blanco. El test t- Student (Tabla 23-3) muestra que existe diferencia significativa entre los extractos de las dos especies de *Pasiflora*.

En el extracto liofilizado de *P. manicata* las dosis Mn D3, Mn D5 y *P. tripartita* T D1 y TD3 son las que muestran mayor depresión en la actividad locomotora en cuadros recorridos basado en el test Tukey (Tabla 21-3), con mayor número de dosis formando grupo homogéneo con el grupo control; resultados que concuerdan con el número de entradas a brazos del laberinto elevado.

En el número de cuadros recorridos los tratamientos del extracto de *P. manicata*, según el test post hoc Duncan (Tabla 21-3), las dosis Mn D3, Mn D 5, Mn D1 y Mn D4 forman grupo homogéneo con el grupo control; las cuales se perfilan como tratamientos que actúan sobre la actividad locomotora. El tratamiento Mn D2 tiene mayor número de cuadros recorridos confirmando que no deprime la locomoción al igual que en la variable número de entradas del test de laberinto elevado. La Mn D2 demuestra una actividad destacable sobre la actividad locomotora en cuadros recorridos y número de entradas en brazos.

En número de cuadros recorridos los tratamientos del extracto de *P. tripartita* que forman grupo homogéneo con el control son T D1, T D3 y T D2. La elevada actividad motora de T D5 y T D4 en cuadros recorridos es semejante al número de entrada a brazos del laberinto elevado.

El tiempo en el centro en el análisis pos-hoc Tukey (Tabla 22-3); forma 2 grupos homogéneos. El grupo control forma grupo homogéneo con Mn D2, T D2, Mn D3, T D3, Mn D1, T D1, T D4, Mn D4, T D5 y Mn D5 las cuales demuestran efectos ansiolíticos. El test t- Student (Tabla 25-3) muestra que existe diferencia significativa entre los extractos de las dos especies de *Pasiflora*. Los tratamientos de extracto liofilizado de *P. manicata* que muestran efecto ansiolítico en mayor proporción Mn D2, Mn D3. El tratamiento Mn D2 exhibe actividad ansiolítica en tiempo en el centro, tiempo en cuarto claro y porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

Los tratamientos de extracto liofilizado de *P. tripartita* que muestran efecto ansiolítico son T D4, T D5. El tratamiento T D5 exhibe actividad ansiolítica en tiempo en el centro, tiempo en cuarto claro y porcentaje de tiempo en brazos abiertos.

El estudio de extracto etanólico de *P.actinia* muestra que a 100 mg/kg el número de cuadros recorridos es de  $62.7 \pm 5.0$ , a 300 mg/kg recorre  $53.8 \pm 7.4$  cuadros y a 600 mg/kg  $39.1 \pm 4.9$ . Estudio en el cual se determinó que el extracto liofilizado a 600 mg/ kg tiene efecto sedante. Encontramos en todas las dosis un número superior al obtenido en el estudio de la *P. actinia*, la dosis q mas se asemeja es la T D1 con  $42.8 \pm 5,97$  siendo inferior los miligramos utilizados, 25 mg/kg vs. 600 mg /kg, y superando los cuadros recorridos. (Dos Santos et al, 2005 pp. 565-573)

#### 3.4.4. Test chimenea

Tabla 25-3 Tiempo que tarda en salir, minutos

Control	Blanco	<i>Passiflora manicata</i> (PMn)					<i>Passiflora tripartita</i> (PT)				
		D1	D2	D3	D4	D5	D1	D2	D3	D4	D5
1,00± 00	0,24± 0,13	0,94 ± 0,08	1,02 ± 0,04	0,8 ± 0,08	0,96 ± 0,06	0,81 ± 0,08	0,21 ± 0,05	0,21 ± 0,02	0,74 ± 0,05	0,54 ± 0,08	0,72 ± 0,05

Media ± desviación estándar de 5 determinaciones. P >0,05

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 26-3 Test Anova de tiempo que tarda en salir

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5,315	11	,2483	2,186	,031
Dentro de grupos	10,607	48	,221		
Total	15,922	59			

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 27-3 Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo que tarda en salir

GRUPOS		N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	
Duncan <sup>a</sup>	T-D1	5	,2067		
	T-D2	5	,2067		
	BLANCO	5	,2400		
	T-D4	5	,5433	,5433	
	T-D5	5	,7200	,7200	
	T-D3	5	,7433	,7433	
	Mn-D3	5	,8000	,8000	
	Mn-D5	5	,8100	,8100	
	Mn-D1	5		,9433	
	Mn-D4	5		,9600	
	CONTROL	5		1,0000	
	Mn-D2	5		1,0200	
	Sig.			,088	,181

Realizado por: SILVA, Fabián, 2016

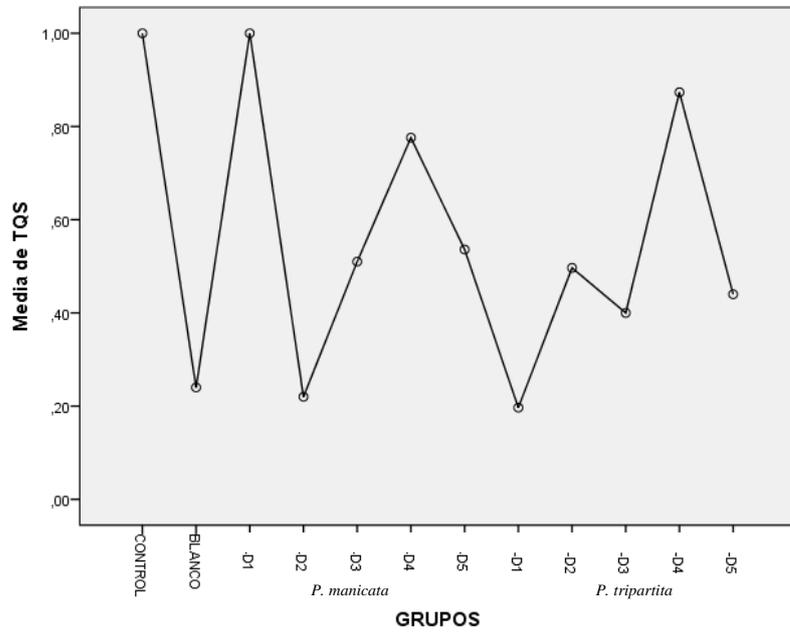


Gráfico 6-3 Medias de tiempo que tarda en salir

Fuente: SILVA, Fabián, 2016

Tabla 28-3 Test t de Student de tiempo que tarda en salir para comparación de especies de Passiflora

TQS	T	Gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	-2,293	48	,004

**Realizado por:** SILVA, Fabián, 2016

Según el test Anova (Tabla 26-3) muestra que las variables medidas tienen diferencia significativa. El análisis pos-hoc Duncan (Tabla 27-3); forma dos grupos homogéneos. El grupo control forma grupo homogéneo con Mn D4, Mn D1, Mn D5, Mn D3, T D3, T D5 y T D4. No obstante, se determina que Mn D1, Mn D2, Mn D3, Mn D4, Mn D5, T D3, T D4 y T D5 tienen un efecto miorrelajante por presentar una media mayor de 0,5 minutos según Vogel, 2002; donde manifiesta que el animal debe salir del tubo en máximo de 0,5 minutos en condiciones normales.

El test t- Student (Tabla 28-3) muestra que existe diferencia significativa entre los extractos de las dos especies de Pasiflora. En el Gráfico 6-3, se observa que los tratamientos de extracto liofilizado de *P. manicata* tienen mayor efecto miorrelajante que el extracto liofilizado de *P. tripartita*.

Los dos tratamientos de extracto liofilizado de *P. manicata* que muestran efectos miorrelajantes y en mayor intensidad Mn D1, Mn D5 y de *P. tripartita* el T D4.

Después de la administración se observó el comportamiento de los animales en cada uno de los tratamientos en dosis y de los diferentes extractos liofilizados, tanto de *P. manicata* y *P. tripartita* de donde se realiza el siguiente análisis:

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

El comportamiento de los roedores en esta dosis en cuanto a número de entradas a brazos y cuadros recorridos afecta a la actividad locomotora respecto al blanco, y es similar al grupo control en el test de chimenea. La actividad ansiolítica no es la que se destaca, ya que en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos está en el grupo homogéneo donde consta grupo blanco. Por lo que no constituye una dosis con claro efecto ansiolítico.

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

El comportamiento de los roedores con esta dosis se caracteriza por una leve depresión de la actividad locomotora demostrado por el número de entrada a brazos, cuadros recorridos, tiempo que tarda en salir de la chimenea. En cuanto a su actividad ansiolítica forma grupo homogéneo con el grupo blanco en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos, tiempo en el cuarto claro. En consecuencia es una dosis que afecta la actividad locomotora sin efecto ansiolítico notable.

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

Los roedores luego de administrada la dosis, la actividad locomotora aumenta un poco el número de entradas a brazos, pero no en el número de cuadros recorridos; aunque muestra ligero acercamiento al grupo control, con actividad ansiolítica no destacable. El test de chimenea determina que su media se parece un poco al control. No indica actividad ansiolítica porque no está cercana al grupo control en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos ni tiempo en cuarto claro donde se asemeja al grupo blanco. No representa una clara actividad ansiolítica.

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

En esta dosis los animales de experimentación muestran depresión en la actividad locomotora determinado en que forma grupo homogéneo con el control en número de entradas a brazos distando del control y también forma parte del grupo homogéneo en el test de campo abierto con el número de cuadros recorridos. Su porcentaje de tiempo en brazos abiertos ocupa el cuarto lugar con respecto al grupo control.

La actividad ansiolítica se destaca en el tiempo en cuarto claro, donde forma grupo homogéneo con el grupo control, el porcentaje de tiempo en brazos abiertos forma un grupo homogéneo que dista notablemente del control. Se observa que la dosis posee un mayor efecto que la dosis anterior que influye en la actividad locomotora, con efecto ansiolítico representativo.

Según Dhawan, Kumar, & Sharma, 2001 demostraron efecto máximo ansiolítico a una dosis de 125 mg/kg via oral en extracto metanolico de las partes aereas *P. incarnata*. (Dhawan et al, 2001, p 131).

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

La conducta de los animales luego de la administración cambia drásticamente ya que en entradas a brazos supera al grupo blanco, al igual que en cuadros recorridos. Su actividad ansiolítica sobresale porque el porcentaje de tiempo en brazos abiertos incrementa al igual que tiempo en el cuarto claro pero no en tiempo en el centro.

Estudios previos en *P. incarnata*, la perfilan como sustancia ansiogénica al usar dosis superiores a 300 mg/ kg, y se indica que este efecto aún no se ha aclarado pese a la objetividad de investigaciones que debido al estado de los animales, biodisponibilidad y origen de la materia vegetal no son reproducibles. Esta dosis se la podría determinar cómo ansiolítico.

Los variables respuesta de todas las dosis del extracto de *P. manicata* después de la administración, indica que existe efecto en la actividad ansiolítica y en la locomoción los cuales son representativos, y la más destacable sobre la actividad locomotora es a 300 mg/kg, induciendo a los animales una depresión apreciable con una actividad ansiolítica que destacable con el clonazepam que fue el fármaco control utilizado en el experimentación.

La administración de dosis bajas no modifica la actividad locomotora, teniendo un efecto ansiogénico notable, lo que en las dosis altas generan lo contrario alterando significativamente a la actividad locomotora. Por lo cual se determina que, la administración de 300 mg/kg en ratones *Mus musculus* disminuye la ansiedad sin tener efecto sobre su locomoción.

El comportamiento de los animales luego de la administración de los tratamientos de extracto liofilizado de *P. tripartita* se realiza el siguiente análisis:

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

Los ratones no presentan depresión sobre la actividad locomotora haciendo comparación entre el número de entrada a brazos con el número de cuadros recorridos, incluso se observa que la actividad locomotora aumenta. Es una dosis en la que se destaca buena actividad ansiolítica porque en el tiempo en el cuarto claro a forma grupo homogéneo con el grupo control y está cercano al mismo. En consecuencia es una dosis que actúa de manera significativa en el comportamiento conductual sin afectar la actividad locomotora ya que supera al blanco al no generar miorelajación y al encontrarse en un punto intermedio con respecto al control.

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

Los roedores muestran una rebaja en el número de entradas a brazos, pese a ello, la actividad ansiolítica no sobresale en el tiempo del cuarto claro forma grupo homogéneo con el grupo blanco al encontrarse cerca a él. Difiere bastante en relación a la primera dosis (25 mg/ kg) lo que nos indica que hay tendencia al descenso a medida que la dosis aumenta.

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

Los roedores no se ven afectados en su actividad locomotora en ninguno de los test a los que se le sometió para la medición de variables para este estudio. Se destaca la actividad ansiolítica; por los buenos tiempos que presentan, se acerca al grupo control formando grupo con él, y en otros casos mediando en la tabla de resultados estadísticos, lo que nos indica que puede ser utilizada como una dosis que muestra las características que estamos buscando.

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

La conducta de los animales no se ve afectada, su actividad locomotora en número de entrada a brazos y cuadros recorridos se podría despreciar porque pese a formar grupo con el control y con el blanco dista de los dos, posicionándose a mitad de tabla, sin tener efecto ni en la actividad locomotora ni como ansiolítico.

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

La locomoción no se ve afectada, forma grupo homogéneo con el grupo blanco, tanto en cuadros recorridos, en el campo abierto, tiempo que tarda en salir en la chimenea y en número de entradas a brazos en el EPM se aleja de la condicionante de ser ansiolítico porque en el porcentaje de tiempo en brazos abiertos se acerca al blanco con una nula actividad. La dosis tampoco se caracteriza por deprimir la actividad locomotora.

Estudios previos de *Passifloras* originarias de Brasil, la utilización de extractos acuosos de hojas y pericarpios de *P. edulis*, *P. flavicarpa* and *P. alata* muestran efectos en la actividad locomotora induciendo a la sedación dependientes de la dosis ya sean estas bajas o intermedias, concordando con los datos obtenidos en el análisis estadístico del extracto liofilizado de *P. tripartita* de este estudio. (Klein et al, 2013 pp. 706-713).

Los ratones después de la administración de las cinco dosis de extracto etanólico de *P. tripartita*, independientemente de la dosis, existe efecto ansiolítico y en disminución de la locomoción, por lo menos en unos de las pruebas empleadas. La administración de la dosis bajas, 25 mg/kg – 100mg/kg presentan cambios en la actividad ansiolítica y actividad locomotora, exceptuando la segunda dosis que no posee las mismas características. La dosis superiores como la de 300 mg/kg no tienen una clara actividad en ningún de los dos sistemas, lo que nos indica que su absorción máxima es a bajas dosis, después de estas se saturan los receptores y se obtiene respuestas diferentes a las esperadas, porque no tienen relación en ninguna de las variables respuestas obtenidas.

## CONCLUSIONES

- Las hojas de *Passiflora manicata* tuvo el 4.22% de rendimiento y el de *Passiflora tripartita* el 5.01%. La cuantificación de flavonoides de *P. manicata* fue de  $661,667 \pm 3,803$  FTEQ/g de extracto liofilizado en *P. tripartita* es de  $157,529 \pm 2,897$  FTEQ/g de extracto liofilizado.
- Cualitativamente mediante la CCF en el extracto liofilizado de *Passiflora manicata* se evidenció la posible presencia de shaftoside y apigenina y en *Passiflora tripartita* la posible presencia de isovitexina e isoorientina.
- La dosis efectiva de la actividad ansiolítica del extracto liofilizado de *P. manicata* es de 300 mg/ kg y en *P. tripartita* es de 25 mg/ kg, determinado por los porcentajes de tiempo en brazos abiertos y tiempo en el cuarto claro. Donde se determina actividad miorelajante, en el test de chimenea, no muestra depresión en la actividad locomotora lo que constata con el número cuadros recorridos y número de entradas a brazos. Por lo que se pueden considerar como dosis con efecto ansiolítico y que no tienen efecto alguno sobre la actividad motora de los animales de experimentación.
- Existe diferencia significativa para la actividad ansiolítica entre los extractos liofilizados y entre las dosis de *P. manicata*, *P. tripartita*, basada en el test t-Student.

## **RECOMENDACIONES**

- Se recomienda una capacitación previa a los ensayos que se realizan con los animales de experimentación.
- Sería de gran interés que se tome en cuenta los compuestos encontrados cuyos Rf no se citan en bibliografía.
- Se sugiere un estudio toxicológico en animales de experimentación más grandes para de esta manera poder continuar con estudios clínicos en seres humanos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **AKHONDZADEH, S; et al.** “Passionflower in the treatment of generalized anxiety”. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. vol. 26, nº 1. 2001, Theran. pp. 363-367.
  
2. **ASHTON, Heather.** *Captítulo II. Las Benzodiazepinas: Como actuan en el organismo*. [En línea]. Inglaterra, 2010.  
  
[Consulta: Agosto 30, 2016.]  
  
<http://www.benzo.org.uk/espman/bzcha01.htm#6>.
  
3. **BARRETO, Mara.** *Farmacología de benzodiazepinas, hipnóticos y ansiolíticos no benzodiazepínicos, estimulantes, etanol y neuroactivadores cognitivos*.pp. 1-14 [pdf] 2003.  
  
[Consulta: Agosto 30, 2016.]  
  
[https://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/04/farmacologia\\_delas-benzodiazepinas\\_ansioliticos-hipnoticos-no-benzodiazepinicos-psicoestimulantes-y-neuroactivadores-cognitivos.pdf](https://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/04/farmacologia_delas-benzodiazepinas_ansioliticos-hipnoticos-no-benzodiazepinicos-psicoestimulantes-y-neuroactivadores-cognitivos.pdf)
  
4. **BONILLA, Anahí;** “Estudio fitoquímico y actividad antioxidante in vitro de hojas y flores de *Passiflora manicata*” (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016. pp. 36-48
  
5. **BROWN, Eric; et al.** “Evaluation of the anxiolytic effects of chrysin, a *Passiflora incarnata*, in the laboratory rat”. *AANA Journal* [en línea]. Estados Unidos de América, 75 (5), 2007. pp. 333-337.  
  
[Consulta: Septiembre 1, 2016.]  
  
[http://www.aana.com/newsandjournal/Documents/passiflora1007\\_p333-337.pdf](http://www.aana.com/newsandjournal/Documents/passiflora1007_p333-337.pdf)

6. **CARDOZO, Carmen, et al.** El Animal como Sujeto Experimental Aspectos Técnicos y Éticos. Centro Interdisciplinario de Estudios en Bioética (CEIB), Chile 2007. p 326
  
7. **CARRIÓN, Ana & GARCÍA Cándida** . “Preparación de Extractos Vegetales:Determinación de Eficiencia de Metódica”. (TESIS) (Pregrado). [En línea]. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Cuenca -Ecuador. 2010. pp. 39-41. [Consulta: Octubre 2016, 22.]  
  
<http://cdjbv.ucuenca.edu.ec/ebooks/tq1005.pdf>.
  
8. **CARVAJAL-DE PABÓN, Luz; et al.** “Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis Juss*) y su composicion Fitoquimica”. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. [En línea], 2014, Brasil 12 (2). pp. 185-196.  
  
[Consulta: Septiembre 30, 2016.]  
  
<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v12n2/v12n2a21.pdf>.
  
9. **CHÁVEZ-LEÓN, Enrique; et al.** “Los antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS, ISR-5HT)”. *Salud Mental*. [En línea], 2008, México . 31 (4), pp. 307-319.  
  
[Consulta: Agosto 30, 2016.]  
  
<http://www.medigraphic.com/pdfs/salmen/sam-2008/sam084h.pdf>.
  
10. **DÍAZ, Gabriela; et al.** “Uso de Modelos Animales en el Estudio de Plantas *con Propiedades.. Medicinales*” *Sociedad de Farmacología de Chile*, 2012, Chile 5(2), p. 21. ISSN. 0718-882X.  
  
[Consulta: Agosto 30, 2016]  
  
[http://www.sofarchi.cl/medios/revistas/fitofarmacologia/Diaz\\_Veliz\\_G\\_y\\_Mora\\_S\\_Revista\\_de\\_Farmacologia\\_de\\_Chile\\_2012\\_V\\_5\\_%20N2.pdf](http://www.sofarchi.cl/medios/revistas/fitofarmacologia/Diaz_Veliz_G_y_Mora_S_Revista_de_Farmacologia_de_Chile_2012_V_5_%20N2.pdf)

- 11. DOS SANTOS, Keli; et al.** “Sedative and Anxiolytic Effects of Methanolic Extract from the leaves of *Passiflora actinia*”. *Brazilian Archives Of Biology And Technology*: vol. 49, n° 4 (2005), pp. 565-573.
- 12. ECUADOR MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA.** *Prioridades de Investigación en Salud 2013-2017*. [pdf] 2016. pp. 3-24  
[Consulta: Septiembre 30, 2016.]  
[https://www.ucuenca.edu.ec/images/facu\\_medicina/Investigacion/prioridades\\_investigacion\\_salud2013-2017%20\(1\).pdf](https://www.ucuenca.edu.ec/images/facu_medicina/Investigacion/prioridades_investigacion_salud2013-2017%20(1).pdf).
- 13. ELSAS, S; et al.** “*Passiflora incarnata L.* (Passionflower) extracts elicit GABA currents in hippocampal neurons in vitro, and show anxiogenic and anticonvulsant effects in vivo, varying with extraction method”. *Elsevier Phytomedicine*. vol. 17, n° 1 (2010), Portland. pp. 940-949.
- 14. ESQUERRE-IBÁÑEZ, Boris; et al.** *El Género Passifloraceae en el Departamento de Lambayeque, Perú*. [pdf]. Perú: 2014. p. 123  
[Consulta: Septiembre 30, 2016.]  
[http://www.biolveg.uma.es/abm/Volumenes/vol39/39\\_Esquerre-Ibanez\\_et\\_al.pdf](http://www.biolveg.uma.es/abm/Volumenes/vol39/39_Esquerre-Ibanez_et_al.pdf).
- 15. ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA. AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION.** *Apoyo para el tratamiento de la Ansiedad*. [pdf]., 2010. pp. 18-28  
[Consulta: Agosto 29, 2016.]  
<http://www.apa.org/centrodeapoyo/tratamiento.aspx>.
- 16. ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD MENTAL.** *Trastornos de Ansiedad* [pdf] 2009. pp. 5-27  
[Consulta: Agosto 29, 2016.]  
[http://ipsi.uprrp.edu/opp/pdf/materiales/ansiedad\\_esp.pdf](http://ipsi.uprrp.edu/opp/pdf/materiales/ansiedad_esp.pdf).

- 17. EXPÓSITO, María.** “Estudio farmacológico de una nueva serie de análogos tiofénicos de la tianeptina”. (TESIS) (Doctoral) [pdf]. Universidad de La Laguna, Tenerife, España, 1995. pp 127-132
- 18. GARCÍA, Bobes; et al.** *Trastornos de Ansiedad*. [En línea] Madrid 2011 . pp 12 - 13 [Consulta:Agosto 30, 2016.]  
[http://www.unioviado.net/psiquiatria/publicaciones/documentos/1999/1999\\_Bobes\\_Trastorno.pdf](http://www.unioviado.net/psiquiatria/publicaciones/documentos/1999/1999_Bobes_Trastorno.pdf).
- 19. GUAMÁN, Martha;** “Determinación de la dosis efectiva para actividad ansiolítica del extracto etanólico de hojas de *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* en ratones *Mus musculus* mediante administración oral”.(TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016. pp. 44-55
- 20. HEINZE MARTIN, Gerhard; & CAMACHO SEGURA, Pedro.** “*Guía clínica para el manejo de la ansiedad*” [pdf]. Mexico: Shoshana Berenzon, 2010. pp. 7-8  
[Consulta: Agosto 30, 2016.]  
[http://www.inprf.gob.mx/opencms/export/sites/INPRFM/psicosociales/archivos/guias/manejo\\_ansiedad.pdf](http://www.inprf.gob.mx/opencms/export/sites/INPRFM/psicosociales/archivos/guias/manejo_ansiedad.pdf)
- 21. IDROBO, Tatiana,** “Evaluación ansiolítica comparativa por solventes de los extractos de hojas flores de *Pasiflora manicata* y *Pasiflora tripartita* mediante administración vía oral en ratones *Mus musculus*”. (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016. pp. 18-44
- 22. KHON , Robert; et al.** *La brecha terapéutica en la atención de salud mental*.. [En línea] 2010.  
[Consulta: Agosto 30, 2016].  
<http://www.who.int/bulletin/volumes/82/11/khon1104abstract/es/>.

**23. KHON, Roberth.** *La Brecha de Tratamiento en la Región de Las Américas*. [pdf] 2014. pp.7-8 [Consulta: Agosto 30, 2016.].

[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=9408:la-brecha-de-tratamiento-en-la-region-de-las-americas&Itemid=40615&lang=fr](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=9408:la-brecha-de-tratamiento-en-la-region-de-las-americas&Itemid=40615&lang=fr).

**24. KLEIN, Nadine; et al.** “Assessment of Sedative Effects of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* and *Passiflora alata* Extracts in Mice, Measured by Telemetry”. *Phytotherapy Research* [en línea], 2013, Estados Unidos de América 28(5) pp. 706-713.

[Consulta: Septiembre 10, 2016.].DOI: 10.1002/ptr.5043.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.5043/abstract>

**25. LANGEN, Barbara; et al.** “Characterization in Rats of the Anxiolytic Potential of ELB139 [1-(4-Chlorophenyl)-4-piperidin-1-yl-1,5-dihydro-imidazol-2-on], a New Agonist at the Benzodiazepine Binding Site of the GABAA Receptor”. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics* [En línea], 2005, Alemania, 314 (1), pp. 718-724

[Consulta: Agosto 12, 2016.], ISBN: 84681/3041215.

[https://www.researchgate.net/publication/7876839\\_Characterization\\_in\\_Rats\\_of\\_the\\_Anxiolytic\\_Potential\\_of\\_ELB139\\_1-4-Chlorophenyl-4-piperidin-1-yl-15-dihydro-imidazol-2-on\\_a\\_New\\_Agonist\\_at\\_the\\_Benzodiazepine\\_Binding\\_Site\\_of\\_the\\_GABAA\\_Receptor](https://www.researchgate.net/publication/7876839_Characterization_in_Rats_of_the_Anxiolytic_Potential_of_ELB139_1-4-Chlorophenyl-4-piperidin-1-yl-15-dihydro-imidazol-2-on_a_New_Agonist_at_the_Benzodiazepine_Binding_Site_of_the_GABAA_Receptor)

**26. LEMA, Monserrath.** “Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante in vitro de hojas y flores de *Passiflora tripartita*”. (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016. pp. 39-47

**27. LITVIN, Yoav; et al.** Unconditioned models of fear and anxiety. *Elsevier*, 17, 2.5 (2008). pp. 124-324

- 28. MADRID MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO.** *Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Trastornos de Ansiedad en Atención Primaria.* [En línea] 2010. pp. 22-33
- [Consulta: Septiembre 30, 2016.]
- <https://www.madrid.org/laincentralgo>.
- 29. MONTI, Jaime; et al .** GABA and Sleep Molecular, Functional and Clinical Aspects GABA and Sleep Molecular, Functional and Clinical Aspects. Estados Unidos de América: Springer , 2010. p. 42
- 30. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** *Tratamiento farmacológico de los trastornos mentales en la atención primaria de salud.* [pdf ]. Estados Unidos de América: 2010. pp. 10-15.
- [Consulta: Septiembre 24, 2016.]
- [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44095/1/9789241547697\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44095/1/9789241547697_eng.pdf)
- 31. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** *Centro de Prensa.* [pdf ] Ginebra: 2016 [En línea]
- [Consulta: Septiembre 28, 2016.]
- <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/es/>.
- 32. PAMPLONA, Jorge.** Preparación de Plantas. *Salud por las Plantas Medicinales.* 1, 2006, Madrid : Safeliz, p.78 ISBN-10: 84- 7208-106-0.
- 33. POLANCO, Andrea & VARGAS-IRWIN, Crisina.** “Modelos Animales: Una Revisión desde Tres Pruebas Utilizadas en Ansiedad”. *Revista scielo.org*, vol. 18, nº2 2011, Colombia pp. 142-145

- 34. RAFAELLI, Andrea, et al. 1997.** “Journal Of Chromatography”. *Elsevier*. vol. 777 1997.Italia pp. 223-231.
- 35. REA, Elizabeth** “Evaluación del Efecto Ansiolítico del Extracto Hidroalcohólico de Flor de Badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*)”. (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2014.pp. 108-109
- 36. REJÓN-ORANTES, Jose; et al.** “*Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas*”. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal redalyc.org. 2011 Colombia 52, pp. 80-83 [Consulta: Septiembre 30, 2016.] ISSN 0041-9095.  
<http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/vnimedica/article/view/16039>
- 37. REYES-TICAS, Americo; et al.** *Trastornos de Ansiedad Guia Practica Para Diagnostico y Tratamiento*. [pdf] Madrid , 2016. pp. 9-32  
[Consulta: Septiembre 29, 2016.]  
<http://www.bvs.hn/Honduras/pdf/TrastornoAnsiedad.pdf>
- 38. RODGERS, R. & DALVI, A.** “*Anxiety, Defence and the Elevated Plus-maze*”. Elsevier Science Ltd. vol. 21, n°6. 2002, Madrid, pp. 806
- 39. ROMERO, Maricruz.** “Evaluación comparativa de la actividad ansiolítica de los extractos de hojas y flores de *Passiflora quadrangularis* y *Passiflora edulis* en ratones *Mus musculus* por administracion oral.” (TESIS) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016.pp. 15-48

**40. RUBIO, Gabriel.** *El tratamiento de los trastornos de ansiedad a lo largo de la historia. Congreso Virtual de Psiquiatría.* [pdf]. España: 2010.

[Consulta: Septiembre 30, 2016.]

[http://www.psiquiatria.com/congreso\\_old/mesas/mesa34/conferencias/34\\_ci\\_e.htm](http://www.psiquiatria.com/congreso_old/mesas/mesa34/conferencias/34_ci_e.htm)

**41. RUIZ, Ana; et al.** “Consumo de fitofármacos y apifármacos en el Hospital Docente Clínicoquirúrgico “Gral. Calixto García Íñiguez” *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol. 10, n°2 (2005), Cuba. p. 8

**42. SALAZAR, Michel; et al.** *Tratado de Psicofarmacología.* [en línea]. Buenos Aires-Argentina: Ergufluz I Uruchurtu, 2010, pp.128-130.

[Consulta: Agosto 02, 2016.]

[https://books.google.com.ec/books/about/Tratado\\_de\\_Psicofarmacolog%C3%ADa.html?id=ugBvQChj4JAC](https://books.google.com.ec/books/about/Tratado_de_Psicofarmacolog%C3%ADa.html?id=ugBvQChj4JAC)

**43. SANABRIA, Walter.** *Utilización de Plantas Medicinales en la Práctica Psiquiátrica.* [En línea] España: 2012. pp 33-35

[Consulta: Agosto 02, 2016.]

<http://www.binasss.sa.cr/bibliotecas/bhp/cupula/v23n1-2/art3.pdf>.

**44. SÁNCHEZ, Luis.** “Estudio Etnobotánico, Macro y Micro-Morfológico de Plantas del Género Passiflora Utilizadas como Sedantes En La Provincia De Chimborazo”. (TESIS) (Pregrado), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia . Riobamba, Chimborazo, Ecuador. 2016. pp. 21-24

**45. SARUDIANSKY, Mercedes.** “Ansiedad, angustia y neurosis. Antecedentes conceptuales e históricos”. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal redalyc.org*, [en línea], 2013, (México DF- México) 21(1), pp. 1405-0943.

[Consulta: Agosto 02, 2016.]

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=133930525003>

- 46. TABORDA, Natalia.** “Fruto de la pasión, Maracuyá” [En línea] (**TESIS**) (pregrado) [pdf] Instituto Superior Particular Incorporado, Gestión Gastronómica, Santa Fe, Argentina 2013. [Consulta: Agosto 02, 2016.] p. 27
- <http://www.repotur.gov.ar/bitstream/handle/123456789/4461/EI%20maracuy%C3%A1%20Tesis.pdf?sequence=2>.
- 47. THOMPSON, Donald; et al.** “Imidazenil, a new anxiolytic and anticonvulsant drug, attenuates a benzodiazepine-induced cognition deficit in monkeys” *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. [En línea], 1995, Estados Unidos de América 273 (3), pp. 1037-1312.
- [Consulta: Agosto 10, 2016.] ISBN: 273:1312.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7791102>
- 48. TONINA, Adriana.** Descripción de un caso de Trastorno de Pánico con Agorafobia, desde el modelo de tratamiento de base cognitivo-conductual. [En línea] (**TESIS**) (pregrado) Universidad de Palermo. Buenos Aires, Argentina. 2010. pp. 48-50
- [Consulta: Agosto 01, 2016.]
- <http://dspace.palermo.edu/dspace/bitstream/handle/10226/793/Tonina%20Sen%C3%A9s,%20Adriana.pdf?sequence=1>.
- 49. VOGEL, Gerhard.** Drug Discovery and evaluation. Alemania. 2ª ed: Springer, 2002 pp. 396
- 50. WAGNER, Hilbebert & BLADE, Sabine.** *Plant Drug Analysis*. 2ª ed. Munich. Springer.1996. pp 330-331
- 51. WOHLMUTH, Hans; et al.** Pharmacognosy and Chemotypes of Passiflower (*Passiflora incarnata*). *Biological & Pharmaceutical*, vol. 33, nº6 (2010) (Australia) pp. 1015-1018

## ANEXOS

### Anexo A. *Passiflora manicata* silvestre



Fuente: SILVA, Fabián, 2016

### Anexo B. Bioterio ESPOCH



Fuente: SILVA, Fabián, 2016

### Anexo C. Lecho de animales de experimentación



Fuente: SILVA, Fabián, 2016

#### **Anexo D.** Hojas desecadas de *Passiflora*



**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

#### **Anexo E.** Molienda de hojas desecadas



**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

#### **Anexo F.** Filtración



**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

### **Anexo G. Eliminación de solvente**



**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

### **Anexo H. Formación de cristal eutéctico**



**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

### **Anexo I. Liofilización de extractos**



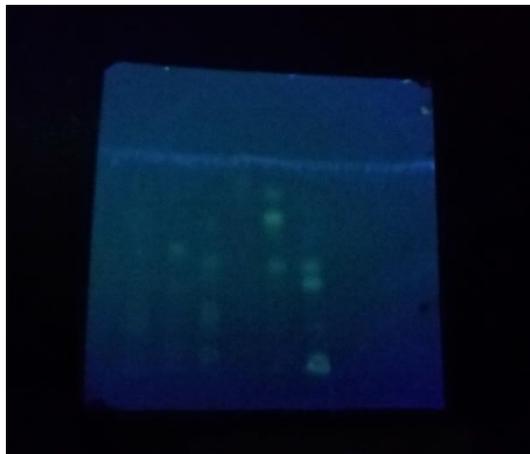
**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

**Anexo J.** Extractos liofilizados



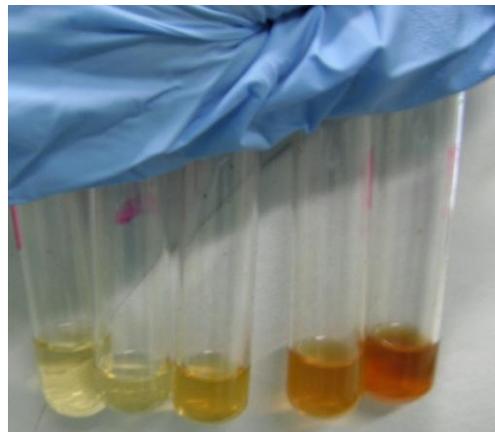
**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

**Anexo K.** Cromatografía de especies *Passiflora*, observado UV



**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

**Anexo L.** Extracto liofilizado reconstituido en propilenglicol 15%



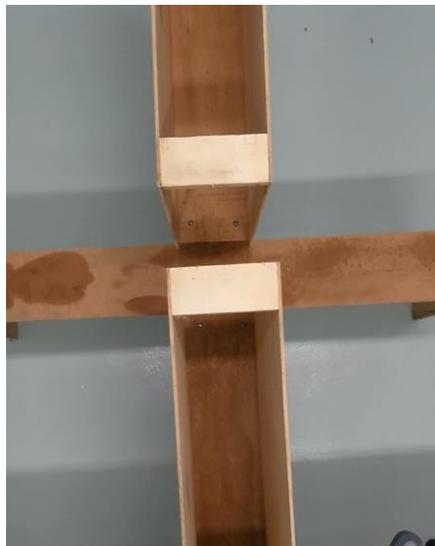
**Fuente:** SILVA Fabián, 2016

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



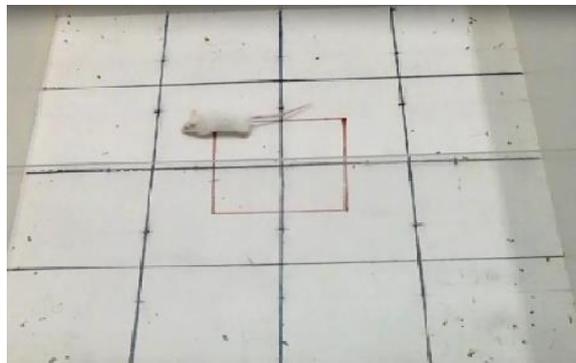
**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

### **Anexo N. Laberinto Elevado**



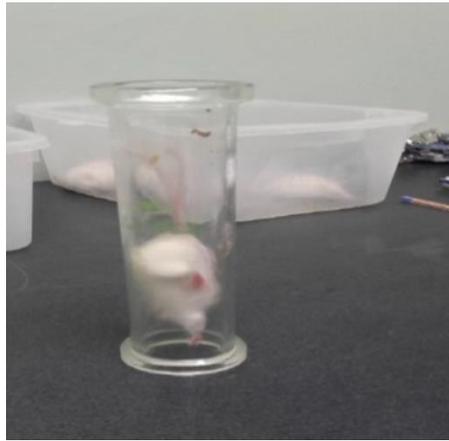
**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

### **Anexo O. Campo Abierto**



**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016

## **Anexo P. Chimenea**



**Fuente:** SILVA, Fabián, 2016