



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DE
PATACONYUYO (*Peperomia peltigera* C. DC.) *in vivo* EN RATONES
(*Mus musculus*).”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL

Presentado para optar por el grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: GABRIELA FERNANDA YANCHA VÁSCONEZ

TUTORA: BQF. GISELA PILCO BONILLA, M.Sc.

Riobamba-Ecuador

2018

©2018, Gabriela Fernanda Yancha Vásquez

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 del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: Tipo Trabajo experimental **“COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA DE PATACONYUYO (*Peperomia peltigera* C. DC.) *in vivo* EN RATONES (*Mus musculus*)”**, de responsabilidad de la señorita Gabriela Fernanda Yancha Vásquez, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

BQF. Gisela Pilco Bonilla, M.Sc.

**DIRECTOR DE TRABAJO
DE TITULACIÓN**

BQF. Diego Vinuesa Tapia, M.Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Yo, Gabriela Fernanda Yancha Vásquez, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenecen a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Gabriela Fernanda Yancha Vásquez
180441690-5

DEDICATORIA

A Dios haberme brindado salud y vida, permitiéndome estar el camino y lugar correcto para cumplir este sueño.

A mi mamá Carmela por estar conmigo siempre brindándome su apoyo y confianza en todo momento, ser mi guía, mi soporte, mi ejemplo a seguir y por quien me esfuerzo cada día.

A mi papá Fernando por apoyarme en todo este camino, por estar pendiente de cada paso que doy y ser un ejemplo de lucha y perseverancia.

A mi hermano Fernando por escucharme, brindarme su cariño y ser un apoyo incondicional en todo momento.

A familia por cada palabra de aliento en los buenos y malos momentos.

A mis amigos, a todos los que formaron parte de mi vida, convirtiéndose en mi segunda familia, con quienes compartí los mejores momentos durante mi vida estudiantil, de los que me llevo los mejores recuerdos.

Gaby.

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por permitir formarme como persona y como profesional.

A la Bqf. Gisela Pilco, por confiar en mí para llevar a cabo esta investigación, por compartir su conocimiento y brindarme su apoyo en cada momento.

Al Bqf. Diego Vinuesa, que ha sido un gran aporte y ayuda durante todo el proceso de la investigación.

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

A las personas que me apoyaron y ayudaron durante esta etapa: Gabriel, Joha, y Jessy.

Gaby.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

SNC: Sistema Nervioso Central

BZD: Benzodiazepina

PEG: Propilenglicol

UV: Ultravioleta

ITOP: Software para el equipo electrónico “Cuarto Claro Oscuro y Laberinto Elevado en Cruz”.

EMIS: Software para el equipo electrónico “Campo Abierto”

BLA: Blanco

LCE: Equipo electrónico para “Laberinto en Cruz Elevado”

CCO: Equipo electrónico para “Cuarto Claro Oscuro”

CA: Equipo electrónico para “Campo Abierto”

FTEQ: Flavonoides totales expresados como miligramos equivalentes de quercetina

Sig: Significancia

P: Probabilidad

min: minutos

No: Número

TAG: Trastorno de Ansiedad Generalizada

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xvii
SUMMARY.....	xviii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	5
1.1.	Antecedentes de la investigación.....	5
1.2.	Bases teóricas.....	6
1.2.1.	Ansiedad.....	6
1.2.1.1.	<i>Definición</i>	6
1.2.1.2.	<i>Tipos de ansiedad</i>	6
1.2.2.	Fisiopatología.....	7
1.2.2.1.	<i>Sistema Nervioso Autónomo</i>	7
1.2.2.2.	<i>Sistema límbico</i>	8
1.2.2.3.	<i>Ácido Gamma Amino Butírico (GABA)</i>	8
1.2.3.	Signos y síntomas.....	10
1.2.4.	Trastornos de la ansiedad.....	10
1.2.4.1.	<i>Fobias simples</i>	10
1.2.4.2.	<i>Fobia social</i>	11
1.2.4.3.	<i>Trastorno de angustia / trastorno de pánico</i>	11
1.2.4.4.	<i>Trastorno obsesivo compulsivo (TOC)</i>	11
1.2.4.5.	<i>Trastorno de ansiedad generalizada (TAG)</i>	12
1.2.5.	Tratamiento	12
1.2.5.1.	<i>Psicoterapia</i>	12
1.2.5.2.	<i>Medicación y efectos adversos</i>	13
1.2.6.	Fitoterapia.....	14
1.2.7.	<i>Peperomia peltigera C. DC. (Pataconyuyo)</i>	15
1.2.7.1.	<i>Taxonomía</i>	15
1.2.7.2.	<i>Hábitat y Distribución</i>	16
1.2.7.3.	<i>Aplicaciones</i>	16

1.2.7.4.	<i>Composición química</i>	16
1.2.8.	Modelos animales	16
2.5.8.1.	<i>Modelos de respuestas condicionadas</i>	18
2.5.8.2.	<i>Modelos de respuestas no condicionadas</i>	18

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	19
2.2.	Identificación de material vegetal	19
2.3.	Recolección de material vegetal	19
2.4.	Materiales, equipos y reactivos	20
2.4.1.	Material vegetal	20
2.4.2.	Material biológico	20
2.4.3.	Lista de materiales, equipos y reactivos utilizados	20
2.5.	Métodos y Técnicas	22
2.5.1.	Recolección, lavado y secado del material vegetal	22
2.5.2.	Parámetros de control de calidad aplicados a la droga cruda	23
2.5.2.1.	<i>Determinación del contenido de humedad</i>	23
2.5.2.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i>	24
2.5.2.3.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	24
2.5.2.4.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i>	25
2.5.3.	Tamizaje fitoquímico	26
2.5.3.2.	<i>Ensayo de Sudan</i>	28
2.5.3.3.	<i>Ensayo de Dragendorff, Mayer, Wagner</i>	29
2.5.3.4.	<i>Ensayo de Baljet</i>	30
2.5.3.5.	<i>Ensayo de Borntrager</i>	30
2.5.3.6.	<i>Ensayo de Liebermann-Burchard</i>	31
2.5.3.7.	<i>Ensayo de catequinas</i>	31
2.5.3.8.	<i>Ensayo de resinas</i>	32
2.5.3.9.	<i>Ensayo de Fehling</i>	32
2.5.3.10.	<i>Ensayo de la espuma</i>	32
2.5.3.11.	<i>Ensayo del cloruro férrico</i>	33
2.5.3.12.	<i>Ensayo de Shinoda</i>	33

2.5.3.13.	<i>Ensayo de antocianidinas</i>	34
2.5.3.14.	<i>Ensayo de mucílagos</i>	34
2.5.3.15.	<i>Ensayo de principios amargos y astringentes</i>	35
2.5.4.	Control de calidad del extracto alcohólico	35
2.5.4.1.	<i>Requisitos organolépticos</i>	35
2.5.4.2.	<i>Determinación de densidad relativa</i>	35
2.5.4.3.	<i>Índice de refracción</i>	36
2.5.4.4.	<i>Medición de pH</i>	36
2.5.4.5.	<i>Determinación de sólidos totales</i>	36
2.5.5.	Preparación del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Peperomia peltigera</i>.	37
2.5.6.	Determinación de Flavonoides Totales	37
2.5.7.	Determinación de Fenoles Totales	37
2.5.8.	Actividad ansiolítica	37
2.5.8.1.	<i>Equipo electrónico de medición “Cuarto Claro-Oscuro”</i>	39
2.5.8.2.	<i>Equipo electrónico de medición “laberinto elevado en cruz”</i>	40
2.5.8.3.	<i>Equipo electrónico de medición “Campo Abierto”</i>	42
2.5.8.4.	<i>Procedimiento de utilización de equipos:</i>	44
2.5.9.	Análisis estadístico	45

CAPÍTULO I

3.	MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	47
3.1.	Ensayos de Control de calidad de la Droga Cruda	47
3.2.	Tamizaje Fitoquímico	48
3.3.	Control de calidad de extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Peperomia peltigera</i>	50
3.4.	Cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu	51
3.5.	Cuantificación de Flavonoides Totales	52
3.6.	Actividad ansiolítica <i>in vivo</i>	53
3.6.1.	Equipo electrónico de medición “Campo Claro-Oscuro”	53
3.6.1.1.	Tiempo en el Cuarto Claro, Mitad y Cuarto Oscuro	53

3.6.1.2.	<i>Número de cruces Cuarto Claro-Oscuro, Distancia recorrida y Velocidad media</i>	56
3.6.2.	Equipo electrónico de medición “Laberinto elevado en cruz”	60
3.6.2.1.	<i>Tiempo en brazos abiertos y cerrados</i>	60
3.6.2.2.	<i>Entradas en brazos abiertos y cerrados</i>	63
3.6.2.3.	<i>Distancia recorrida y velocidad media</i>	66
3.6.3.	Equipo electrónico de medición “Campo Abierto”	69
3.6.3.1.	<i>Tiempo en el Centro, Interior, Laterales y Esquinas</i>	69
3.6.3.2.	<i>Número de defecaciones y elevaciones</i>	73
3.6.3.3.	<i>Distancia recorrida y Velocidad media</i>	76
4.6.4.	Discusión general de los resultados	79
CONCLUSIONES		82
RECOMENDACIONES		83
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1. Diferencias de ansiedad fisiológica y patológica.....	7
Tabla 1-2. Lista de materiales, equipos y reactivos utilizados.....	20
Tabla 2-2: División y codificación de grupos y dosis para la evolución de la actividad ansiolítica de <i>Peperomia peltigera</i>	38
Tabla 1-3: Resultados obtenidos del Control de Calidad de droga cruda de <i>Peperomia peltigera</i>	47
Tabla 2-3: Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hexánico, alcohólico y acuoso....	48
Tabla 3-2: Resultados obtenidos del Control de Calidad de extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Peperomia peltigera</i>	50
Tabla 4-3: Resultados de la cuantificación de Fenoles Totales	51
Tabla 5-3: Resultados de la Cuantificación de Flavonoides	52
Tabla 6-3: Resultados obtenidos del tiempo en cuarto claro y oscuro.....	53
Tabla 7-3: Test ANOVA para tiempos en cuarto claro y oscuro.	54
Tabla 8-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en Cuarto Claro y Cuarto oscuro	55
Tabla 9-3: Resultados obtenidos del Número de cruces cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y Velocidad media	56
Tabla 10-3: Test ANOVA para cruces para cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y velocidad media.....	58
Tabla 11-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de cruces cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y velocidad media.....	59
Tabla 12-3: Resultados obtenidos del tiempo en brazos abiertos y cerrados.....	60
Tabla 13-3: Tiempo en brazos abiertos, medio y brazos cerrados	61
Tabla 14-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en brazos abiertos, medio y brazos cerrados	62
Tabla 15-3: Resultados obtenidos de entradas en brazos abiertos y cerrados.....	63
Tabla 16-3: Test ANOVA para brazos abiertos y brazos cerrados	65
Tabla 17-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de brazos abiertos y brazos cerrados.....	66
Tabla 18-3: Resultados obtenidos de la distancia recorrida y velocidad media.....	66
Tabla 19-3: Test ANOVA para la distancia recorrida y velocidad media	68

Tabla 20-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de distancia recorrida y velocidad media.....	69
Tabla 21-3: Resultados obtenidos del Tiempo en el centro, interior, laterales y esquinas	70
Tabla 22-3: Test ANOVA para tiempo de permanecía en el centro, interior, laterales y esquinas	71
Tabla 23-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en el centro, interior, laterales y esquinas	72
Tabla 24-3: Resultados obtenidos de número de elevaciones y defecaciones	73
Tabla 25-3: Test de ANOVA para número de elevaciones y defecaciones	74
Tabla 26-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos para número de elevaciones ...	75
Tabla 27-3: Resultados obtenidos de la distancia recorrida y la velocidad media.....	76
Tabla 28-3: Test ANOVA para distancia recorrida y velocidad media	77
Tabla 29-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de distancia recorrida y velocidad media.....	78
Tabla 30-3: Resumen estadístico de los grupos formados por el control y las dosis en los distintos parámetros para la evaluación de la actividad ansiolítica y sedante	79
Tabla 31-3: Resumen estadístico de los grupos formados por el control y las dosis en los distintos parámetros para la evaluación de la actividad locomotora	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 1: Modelo Neuroanatómico de la ansiedad y miedo	9
Figura 2-1: Clasificación de los síntomas de la ansiedad	10
Figura 3-1: <i>Peperomia peltigera</i> (PATACONYUYO).....	15
Figura 4-1: Modelos animales utilizados para la Ansiedad.	17
Figura 1-2: Punto de recolección de <i>P. peltigera</i>	20
Figura 2-2: Esquema para el Tamizaje Fitoquímico.....	27
Figura 3-2: Esquema de ensayos del extracto etéreo	27
Figura 4-2: Esquema de ensayos del extracto alcohólico.	28
Figura 5-2: Esquema de ensayos del extracto acuoso.....	28
Figura 6-2: Flujograma para evaluar la actividad ansiolítica.....	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2: Aplicación ITOPI	40
Gráfico 2-2: Aplicación ITOPI	41
Gráfico 3-2: Aplicación EMIS	43
Gráfico 1-3: Tiempos de permanencia en Cuarto Claro y Oscuro obtenidos por efecto de las diferentes dosis administradas	53
Gráfica 2-3: Número de cruces claro-oscuro obtenidos por efecto de los diferentes tratamientos.	56
Gráfico 3-3: Distancia recorrida obtenida por efecto de los diferentes tratamientos	57
Gráfico 4-3: Velocidad media obtenida por efecto de los diferentes tratamientos	57
Gráfico 5-3: Tiempos de permanencia en brazos abiertos y cerrados obtenidos por efecto de los diferentes tratamientos.	61
Gráfico 6-3: Número de entradas en brazos abiertos y cerrados obtenidas por efecto de los diferentes tratamientos.	64
Gráfica 7-3: Distancia recorrida obtenida por efecto de los distintos tratamientos.	67
Gráfico 8-3: Velocidad media obtenida por efecto de los distintos tratamientos	67
Gráfico 9-3: Tiempo de permanencia en el centro, interior, laterales, esquinas obtenidos por efecto de los distintos tratamientos.	70
Gráfico 10-3: Número de elevaciones y defecaciones obtenidos por efecto de los distintos tratamientos.....	74
Gráfica 11-3: Distancia recorrida obtenida por efecto de los diferentes tratamientos	76
Gráfica 12-3: Velocidad media obtenida por efecto de los diferentes tratamientos.	77

LISTADO DE ANEXOS

ANEXO A. Preparación de la droga cruda

ANEXO B. Control de calidad de la droga cruda

ANEXO C. Control de calidad del extracto hidroalcohólico

ANEXO D. Tamizaje fitoquímico

ANEXO E. Extracto liofilizado

ANEXO F. Cuantificación de Flavonoides y Fenoles totales

ANEXO G. Instalaciones del Bioterio ESPOCH

ANEXO H. Animales de experimentación ratones (*Mus musculus*)

ANEXO I. Extracto liofilizado de *Peperomia peltigera* reconstituido en propilenglicol al 15%

ANEXO J. Administración a ratones

ANEXO K. Equipo electrónico para “Cuarto Claro Oscuro”

ANEXO L. Equipo electrónico para “Laberinto Elevado en Cruz”

ANEXO M. Equipo electrónico para “Campo Abierto”

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue comprobar la actividad ansiolítica de *Peperomia peltigera* C. DC. *in vivo* en ratones *Mus musculus*. El material vegetal se recolectó, secó y maceró con etanol al 70% y posteriormente se liofilizó. Se identificó cualitativamente metabolitos secundarios como alcaloides, azúcares, triterpenos, esteroides, saponinas, flavonoides, compuestos amargos y compuestos fenólicos mediante tamizaje fitoquímico. Se cuantificó los fenoles totales y flavonoides dando 16,33 mg Equivalentes de Quercetina/g de extracto liofilizado y 14,53 mg Equivalentes de ácido Gálico/g de extracto liofilizado respectivamente. Para evaluar la actividad ansiolítica se utilizó 42 ratones con pesos de 28-32g, los cuales fueron agrupados según los diferentes tratamientos a administrarse (extractos a 25, 50, 100, 200, 300 mg/kg), propilenglicol al 15% como blanco y Clonacepam como control positivo. Se usó 3 equipos electrónicos “Laberinto cruz elevado, cuarto claro-oscuro y campo abierto”. Los cuales cuentan con cámara de video y aplicaciones con el nombre de Itopi para los equipos de laberinto en cruz elevado y cuarto claro-oscuro y Emis para el equipo de campo abierto. De los resultados analizados estadísticamente se puede concluir que todas las dosis del extracto presentan actividad ansiolítica y sedante, con buena locomoción en su mayoría; la dosis con resultados destacados fue de 25 mg/kg. Se recomienda realizar posteriores análisis para comprobar este efecto ansiolítico.

Palabras clave: <BIOQUÍMICA, <FARMACOLOGÍA >, <ACTIVIDAD ANSIOLÍTICA>, <FLAVONOIDES>, <FENOLES>, <EQUIPOS ELECTRÓNICOS>, <PATACONYUYO (*Peperomia peltigera* C.DC.)>, <RATONES (*Mus musculus*)>.

SUMMARY

The objective of the following investigation was to verify the anxiolytic activity of *Peperomia peltigera* C.DC., in vivo in *Mus musculus* mice. The plant material was collected, dried and macerated with 70% ethanol and subsequently lyophilized. Secondary metabolites such as alkaloids, sugars, triterpenes, steroids, saponins, flavonoids, bitter compounds and phenolic compounds were identified qualitatively by phytochemical screening. The total phenol and flavonoids were quantified giving 16,33mg Quercetin Equivalents/g lyophilized extract and 14,53mg Galic acid Equivalents/g lyophilized extract. To evaluate the anxiolytic activity it was used 42 mice with 28-32g of weight, which were grouped according to the different treatments to be administered (extracts at 25, 50, 100, 200, 300mg/kg), 15% propylene glycol as target and Clonazepam as a positive control. It was used 3 electronic equipment "Labyrinth elevated cross, light-dark room and open field". Which it has a video camera and applications with the name of Itopi for the teams of Labyrinth elevated cross and light-dark room also Emis for the open field team. The results analyzed statistically, it can be concluded that all the doses with outstanding results was 25mg/kg. Further analysis is recommended to check this anxiolytic effect.

KEY WORDS: <BIOCHEMISTRY, <PHARMACOLOGY >, <ANSIOLYTIC ACTIVITY>, <FLAVONOIDS>, <PHENOLS>, <ELECTRONIC EQUIPMENT>, <PATACONYUYO (*Peperomia peltigera* C.DC.)>, <MICE (*Mus musculus*)>.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la ansiedad y depresión son las principales causas de suicidio en el mundo. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) la ansiedad como desorden se ha incrementado en un 14,9 por ciento, desde el 2005 y se estima que el 3,6 por ciento de la población en el 2015 la padecía. Dándose con más frecuencia en las mujeres y jóvenes, siendo las mujeres la población más vulnerable a padecerlo sea por causas como: cambios hormonales, perfeccionismo, estrés, responsabilidades, violencia de género, desventaja socioeconómica, desigualdad de ingresos y bajo nivel social (OMS, 2014).

El bienestar de una persona incluye la salud tanto física como mental, un equilibrio psicológico permite al individuo ser consciente de sus propias capacidades, afrontar tensiones normales de la vida, trabajar de forma productiva y fructífera contribuyendo con su comunidad. Sin embargo, someter a un individuo constantemente a la exposición a adversidades puede producir trastornos mentales, de esta manera el primera en aparecer puede ser la ansiedad (OMS, 2004).

Ecuador se ubica entre los países con más casos de ansiedad en Latinoamérica con 4,7 por ciento. Las cifras son realmente preocupantes considerando la población y el territorio relativamente pequeños en comparación con otros países de la zona, además el problema se acompaña al desconocimiento de la población de esta enfermedad, sus síntomas, causas y su tratamiento (OMS, 2014).

No obstante, la ansiedad se presenta como una emoción normal que experimenta una persona frente a una situación de peligro externo o interno, y se relaciona estrechamente con el miedo. El problema se da cuando se presenta como una respuesta exagerada ante un acontecimiento cotidiano. Por lo que dependiendo de la intensidad y duración puede ser normal o patológica. La ansiedad patológica hace que la persona experimente episodios de angustia y miedo causado por fobias, obsesiones, estrés, ritmo de vida o por causa de otras enfermedades (Perez Ortega and Gonzalez Trujano, 2015).

Este desorden es tratado con psicoterapia y medicación, que pueden ser conjunta o no, dependiendo del trastorno del paciente. Los fármacos ansiolíticos comúnmente usados son

barbitúricos, meprobamato, benzodiazepinas y sus análogos, etc. Los fármacos más prescritos son Diazepam y Alprazolam, los cuales constan en el Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos del Ecuador, con administración vía oral y usados generalmente para tratar manifestaciones somáticas y psicológicas. Estos fármacos son capaces de disminuir los niveles de ansiedad, pero presentan problemas considerables de efectos adversos como: alto riesgo de abuso, adicción y falta de efectividad por el consumo habitual. El uso crónico de los medicamentos convencionales ha causado desde enfermedades adyacentes hasta la muerte (Perez Ortega and Gonzalez Trujano, 2015) (Voces García, Díaz Gómez Calcerrada and Puente García, 2002).

El estudio de ansiolíticos y antidepresivos en los últimos años se ha centrado en explicar la relación del sistema noradrenérgico en la neurobiología de la ansiedad y la búsqueda de fármacos que realicen el efecto terapéutico sobre todo en los dos tipos de receptores GABA, pero desprovistos de efectos adversos (Reyes-Ticas, 2005).

Sin embargo, los avances en fármacos sintéticos son lenta, por lo que han surgido alternativas terapéuticas en la fitoterapia, permitiendo tratamientos naturales de menor costo y con menos efectos adversos.

Las especies vegetales del Ecuador poseen propiedades únicas gracias a la ubicación geográfica y la variedad climática del país, la mayoría de estas plantas son utilizadas desde hace miles de años para realizar remedios caseros, sin embargo, existen pocas investigaciones que comprueben las actividades biológicas para lo que son empleadas, por lo que es importante investigar plantas sobre todo aquellas con usos ancestrales, con el fin de que puedan ser estudiadas y pueden formar parte del desarrollo de nuevos medicamentos para el tratamiento de todo tipo de enfermedades.

El uso de plantas medicinales trata de beneficiar a toda la población, sobre todo aquella que se ha visto afectada por la medicina convencional, por ejemplo, la dependencia física que presentan los pacientes con prescripción continua de ansiolíticos. Por otra parte, Ecuador cuenta con recursos propios que deben ser aprovechados, pero también es importante que la población se concientice sobre el uso de plantas medicinales, para así evitar la extinción de especies medicinales beneficiosas.

Dentro de estas especies se encuentra *Peperomia peltigera* C. DC. (Pataconyuyo), es una planta conocida ancestralmente como ansiolítico, antidepresivo y el uso más popular “para el corazón”, se ubica en la región andina.

Por lo que se consideró necesario comprobar el efecto biológico de la planta medicinal para asegurar su actividad y seguridad. Por lo general, los ensayos para medir los niveles ansiolíticos de una planta deben ser verificados en especies vivas, ya que los ensayos *in vitro* resultan muy tediosos y costosos. Para los ensayos *in vivo* se usan modelos animales que arrojan resultados que pueden ser extrapolados hacia humanos.

Los modelos animales son una alternativa viable para la investigación de diferentes tipos de compuestos sintéticos o naturales, los resultados obtenidos podrían mejorar la calidad y esperanza de vida del hombre. Los extractos de plantas son probados directamente sobre el animal para así comprobar su eficiencia y seguridad (Saña, Colom and Castelló, 2011).

Esta investigación tiene como principal objetivo comprobar la actividad ansiolítica de PATACONYUYO (*Peperomia peltigera* C. DC.) *in vivo* en ratones (*Mus musculus*), mediante la utilización de equipos electrónicos de medición “Laberinto cruz elevado, cuarto claro-oscuro y campo abierto”. los cuales cuentan con aplicaciones “Itopi y Emis” las cuales se basan en el procesamiento de imágenes.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

- Comprobar la actividad ansiolítica de Pataconyuyo (*Peperomia peltigera* C. DC.) *in vivo* en ratones (*Mus musculus*).

Objetivos Específicos

- Identificar los grupos fitoquímicos representativos de *Peperomia peltigera* C. DC (Pataconyuyo) mediante tamizaje fitoquímico.
- Determinar la cantidad de fenoles totales y flavonoides presentes del extracto hidroalcohólico de *Peperomia peltigera* C. DC (Pataconyuyo) mediante el método de Folin - Ciocalteu y el método colorimétrico de complejación con $AlCl_3$ respectivamente.
- Comprobar la actividad ansiolítica que presenta el extracto hidroalcohólico de *Peperomia peltigera* C. DC. (Pataconyuyo) mediante la utilización del equipo electrónico de medición para “laberinto en cruz elevado, cuarto oscuro claro y campo abierto”.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de la investigación

El concepto de ansiedad en la antigüedad no estaba bien definido, por lo que no era considerada como una enfermedad, hasta que el fisiólogo Escocés William Collen discriminó el término de neurosis ansiosa al que hoy conocemos como ansiedad. Por su parte médicos alienistas le habían otorgado la terminología de enfermedad mental, considerándola como un desorden del estado mental causado por una sensación determinada (Aldo and Stagnaro, 2007, p. 167)

El Dr. Reyes-Ticas en el estudio titulado “Trastornos De Ansiedad, Guía Práctica Para Diagnóstico Y Tratamiento” enfatiza que el tipo de vida de la sociedad actual tecnológica, urbanizada y competitiva genera mucha ansiedad. Sin embargo, la ansiedad ha existido desde siempre en cualquier condición social, laboral o psicológica, es indispensable en la vida como complemento a situaciones de peligro. Por lo que, cierto grado de ansiedad es normal en nuestras vidas cotidianas. Además, hace referencia a la frase del Filósofo Vaas en el siglo XX la cual dice “La ansiedad no es necesariamente mala, porque también puede llevar a la persona al conocimiento de su propio ser” (Reyes-Ticas, 2005, pp. 5–8).

En 2010, la secretaría de salud de México en la “Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento de los Trastornos de Ansiedad en el Adulto” menciona que la mayor parte de los trastornos de Ansiedad son usuales, suelen iniciar en la etapa de la adolescencia y tienen su máxima prevalencia en la etapa laboral, social y afectiva. Las personas que desconocen estos trastornos tardan mucho en buscar ayuda y atención adecuada, lo que hace que haya una cronificación de esta enfermedad (Secretaria de salud Mexico, 2010, p. 7).

Varios son los estudios realizados por científicos en la actualidad para encontrar nuevas moléculas que permitan reducir la experiencia traumática de miedo y pánico que experimentan las personas con ansiedad, es así que un grupo de investigadores han comprobado que la 7,8-dihidroxi flavona

inyectada en ratones (sometidos previamente a un suceso traumático) hace que el miedo condicionado se extinga más rápidamente, este compuesto es un derivado flavonoide que potencia nuevos aprendizajes emocionales. Así lo demuestra un trabajo publicado en *American Journal of Psychiatry*, realizado por investigadores de la Universidad de Emory (Estados Unidos) y de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), que consideran que el fármaco podría ser eficaz para tratar trastornos de estrés post-traumático, de pánico y fobias en personas (Univerdidad Autonoma Barcelona, 2011, p. 1)

En la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas de origen natural se han realizado varios estudios sobre los efectos neurológicos en ratones de laboratorio usando modelos animales y aplicando extractos hidro-alcohólicos de varias plantas, como es el caso del estudio sobre el “Extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica en ratones”(Oviedo *et al.*, 2009, pp. 3–4).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Ansiedad

1.2.1.1. Definición

La ansiedad es una combinación de distintas manifestaciones físicas y mentales, que pueden aparecer en forma de crisis o en un estado persistente y difuso. Surge ante situaciones de angustia, preocupación, desosiego frente acontecimientos futuros o situaciones de incertidumbre. El término ansiedad proviene del latín *anxietas*, que está referido a un estado de agitación, inquietud o zozobra del ánimo (Reyes-Ticas, 2005, p. 5)(Aldo and Stagnaro, 2007, p. 168)

1.2.1.2. Tipos de ansiedad

- **Normal:** Se presenta como respuesta a sucesos de la vida cotidiana, tan simples como presentar un examen escolar, un posible despido laboral, una operación quirúrgica o etc. En estos casos la ansiedad se maneja como una señal para buscar la adaptación, puede ser transitoria y se muestra normalmente con nerviosismo y preocupación en la persona (Hernández G, Vidal M, Gómez A, Ibáñez C, 2009, p. 1).

- **Patológica:** No existen señales claras de amenaza, pero el cerebro interpreta algunas situaciones como peligrosas activando todo el sistema de defensa natural, la ansiedad se hace intensa, persistente y autónoma. Se relaciona con los estados de ánimos extremos en una persona que pueden llegar a vincularse con psicosis por lo que, la persona manifiesta ideas delirantes y desordenadas (Hernández G, Vidal M, Gómez A, Ibáñez C, 2009, p. 1)(Goodman & Gilman, 2006, p. 461).

Tabla 1-1. Diferencias de ansiedad fisiológica y patológica.

Ansiedad Fisiológica	Ansiedad Patológica
Mecanismo de defensa ante amenazas de la vida diaria.	Puede bloquear una respuesta adecuada ante la vida diaria.
Se reactiva frente a una circunstancia ambiental.	Desproporcionada al desencadenante.
Función adaptativa.	Función desadaptativa.
Mejora el rendimiento	Empeora el rendimiento.
Es leve.	Es grave.
Menor componente somático.	Mayor componente somático.
No produce mayor demanda de atención psiquiátrica.	Produce mayor demanda de atención psiquiátrica.

Fuente: Revista médica de costa rica y Centroamérica (Trastornos de ansiedad: Revisión dirigida para atención primaria), 2012, p.2.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

1.2.2. Fisiopatología

Al percibir un estímulo que creemos amenazante, nuestro organismo reacciona activando el umbral emocional, el cual provoca cambios importantes en nuestro cuerpo, con la finalidad de prepararnos ante la amenaza. La información de las situaciones peligrosas y amenazantes es procesada en el cerebro (donde se encuentra el Sistema Nervioso Central) y la envía al Sistema Nervioso Autónomo que hará su trabajo (Serra, 2012, pp. 92–92).

1.2.2.1. Sistema Nervioso Autónomo

La ansiedad implica al menos 2 sistemas menores de respuesta:

- El Sistema Nervioso Autónomo Simpático
- El Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático.

El principal efecto del sistema nervioso simpático es liberar sustancias químicas (adrenalina y noradrenalina) durante el episodio amenazante. Es importante considerar que la acción del sistema nervioso simpático se detiene de dos maneras muy específicas. En primer lugar, los mensajeros químicos adrenalina y noradrenalina son destruidos por distintos productos químicos

en el organismo. En segundo lugar, se activa un mecanismo opuesto, el sistema nervioso parasimpático (Raske and Barlow, 1993, p. 27).

El Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático: Se encarga de restaurar y retornar al organismo a su estado natural (se dedica a “parar” la acción del Sistema Simpático). Este sistema nervioso se comporta como un protector interno, en cual impide que el sistema nervioso simpático se extralimite y pueda llegar a causar efectos dañinos en la persona (Serra, 2012)(Raske and Barlow, 1993, p. 27).

1.2.2.2. *Sistema límbico*

La ansiedad tiene su base en ciertas zonas del tallo cerebral, núcleos del Rafé, locus ceruleus que están involucradas en el desarrollo y transmisión de la angustia, emociones de furia, miedo, sensaciones ligadas al placer, estrategias de sobrevivencia y etc. Por lo general en esta zona es donde actúan los fármacos ansiolíticos (Navas W. and Benades M., 2012)(Contreras, 1998, p. 182).

Estudios como lesión de la amígdala basolateral, aplicación de benzodiazepinas y del barbitúrico fenobarbital *in situ* sobre la amígdala producen acciones ansiolíticas, demostrando así que ciertas estructuras pertenecientes al sistema límbico reducen considerablemente la ansiedad (Contreras, 1998, p. 183)-

1.2.2.3. *Ácido Gamma Amino Butírico (GABA)*

El GABA es el neurotransmisor de acción inhibitoria más importante del Sistema Nervioso Central. A veces funciona como ansiolítico y otras como generador de angustia. El GABA presenta dos tipos de receptores GABA_A asociado con los receptores de benzodiazepinas y de canales de membrana para el ion cloro y GABA_B relacionado con el adenilato ciclasa que no está modulados por las benzodiazepinas. (Navas W. and Benades M., 2012)(Contreras, 1998, p. 184).

La disminución de GABA en el líquido cefalorraquídeo puede ser causado por estrés crónico, estado ansioso y depresivo. Los agentes agonistas GABAérgicos promueven el incremento de las funciones del GABA y por lo tanto una reducción de la ansiedad (Contreras, 1998, p. 184).

Las investigaciones farmacológicas y químicas se centran en el estudio de los receptores GABA_A los cuales están constituidos por complejos de proteínas oligoméricas que están formando subunidades, estas a su vez tienen diversos sitios para el reconocimiento de múltiples agentes ansiolíticos, sedantes e incluso para anticonvulsivos. Varios estudios han demostrado que específicamente el déficit del receptor GABA_A producen trastornos neuropsiquiátricos. (Contreras, 1998, p. 185)(Ramos *et al.*, 2017, p. 3).

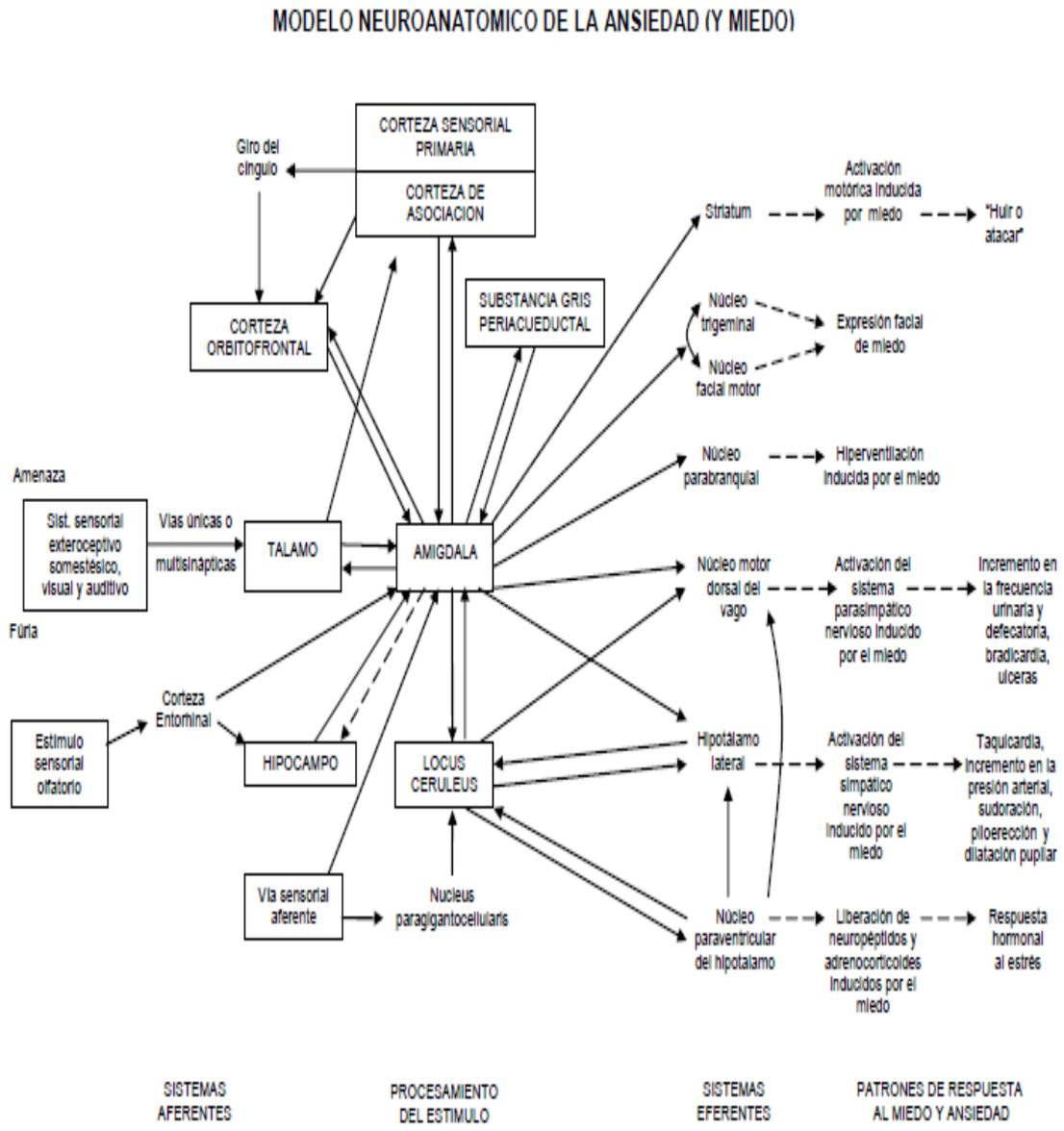


Figura 1 1: Modelo Neuroanatómico de la ansiedad y miedo

Fuente: Reyes-Ticas Américo, 2005

1.2.3. Signos y síntomas

La ansiedad causa diversos síntomas, las manifestaciones no son generales para todas las personas debido a que, se presentan con diferente intensidad en cada caso. Dependiendo de la susceptibilidad biológica y/o psicopatológica de la persona se manifiesta la sintomatología. En la figura 3 se indica la clasificación de los síntomas de la ansiedad en 5 grupos (Clinic, 2012)(Rea, 2014, p. 29).

FÍSICOS	PSICOLÓGICOS	DE CONDUCTA	INTELECTUALES O COGNITIVOS	SOCIALES
- Temblores o sacudidas	- Inquietud	- Estado de alerta e hipervigilancia	- Dificultades de atención, concentración y memoria	- Irritabilidad
- Sudoración excesiva	- Agobio	- Inhibición	- Aumento de los despistes y descuidos	- Hostilidad
- Dificultad para respirar	- Inseguridad	- Bloqueos	- Preocupación excesiva	- Ensimismamiento
- Mareos	- Sensación de amenaza o peligro	- Torpeza o dificultad de hablar	- Expectativas negativas	- Dificultades para iniciar o seguir una conversación
- Dolor en el pecho o malestar	- Ganas de huir o atacar.	- Impulsividad	- Pensamientos distorsionados e inoportunos	- Bloquearse o quedarse en blanco a la hora de preguntar o responder
- Enrojecimiento de la piel	- Temor a perder algo	- Inquietud motora	- Incremento de las dudas y la sensación de confusión	- Dificultad para expresar opiniones o hacer valer los propios derechos
- Náuseas, vómitos, diarrea	- Dificultad para tomar decisiones	- Dificultad para estar quieto y en reposo	- Tendencia a recordar cosas desagradables	- Temor excesivo a posibles conflictos
- Tensión muscular	- Sensación de vacío	- Cambios en la expresividad y lenguaje corporal como rigidez,	- Abuso de la prevención y de la sospecha	
- Problemas de sueño	- Sospechas	- Inquietud motora	- Interpretaciones inadecuadas	
- Impulsividad	- Incertidumbre	- Dificultad para estar quieto y en reposo	- Susceptibilidad	
	- Temor a la muerte, locura o suicidio	- Cambios en la expresividad y lenguaje corporal como rigidez, cambios en la voz, movimientos torpes, posturas cerradas		

FUENTE: Rea. V. RECOPIACIÓN BIBLIOGRÁFICA

Figura 2-1: Clasificación de los síntomas de la ansiedad

Fuente: Rea V., 2014

1.2.4. Trastornos de la ansiedad

1.2.4.1. Fobias simples

Este trastorno se caracteriza por el miedo intenso y progresivo hacia un estímulo específico en una situación concreta que ofrece poco o ningún peligro. La situación amenazante obliga a realizar

esfuerzos para impedir la exposición a lo temido como: arañas, alturas, ascensores, túneles cerrados, aviones, etc. Si no se puede evitar aparecen síntomas físicos como temblor, falta de aire, sudoración y palpitations, inclusive llegando a crisis de angustia. No hay consulta médica específica para esta enfermedad, se puede evitar simplemente no exponiéndose al objeto temido y si el caso empeora puede tratarse con psicoterapia y farmacoterapia enviada por personal capacitado. (Pastrana J., 2007, p. 4) (Arenas and Puigcerver, 2009, p. 23).

1.2.4.2. Fobia social

Se refiere a cuando en situaciones cotidianas una persona experimenta ansiedad irracional al interactuar socialmente. Las personas con fobia social experimentan un miedo intenso, persistente e incluso llegan a niveles crónicos, al ser juzgadas por otras personas. También tiene incomodidad al hablar en público, comer, beber o escribir en presencia de otras personas. Adicionalmente, la persona también presenta síntomas físicos como falta de aire, palpitations, sudoración profusa, temblor, náuseas y dificultad de hablar. Esta enfermedad puede ser tratada mediante ciertos tipos de terapia psicológica y con fármacos (Arenas and Puigcerver, 2009, p. 23) (Pastrana J., 2007, p. 4).

1.2.4.3. Trastorno de angustia / trastorno de pánico

El pánico es la principal característica de los trastornos de angustia, se presenta con la aparición de un miedo intenso junto con síntomas físicos como palpitations, temblor, falta de aire, sudoración y raras veces pérdida de conocimiento. Las crisis de angustia pueden causar en la persona irrealidad del medio externo y un excesivo miedo de perder el control. Se presentan en episodios que duran 10 minutos o más, tiempo que se hace eterno para la persona que lo vive. Se cree que las crisis se deben a situaciones concretas, como soledad o multitudes, medios de transporte y/o lugares cerrados. (Pastrana J., 2007, p. 4)

1.2.4.4. Trastorno obsesivo compulsivo (TOC)

El TOC hace que la persona no pueda olvidar pensamientos constantes (obsesiones) y que en ocasiones realice actividades constantes (compulsiones) para así controlar la ansiedad que provoca estos pensamientos. Las obsesiones se transforman en conductas compulsivas, como obsesión por la limpieza, el orden, etc. Existen personas que ejecutan compulsiones sin pensarlo, como sumas de números, cuenta de autos de color blanco, gris, negro, etc. Inclusive hay gente

sana que puede desarrollar acciones, como comprobar si al salir de casa las ventanas están cerradas o las hornillas están apagadas (Pastrana J., 2007, p. 6) (Arenas and Puigcerver, 2009, p. 22)

1.2.4.5. Trastorno de ansiedad generalizada (TAG)

Las personas que padecen TAG por lo general pasan el día con preocupaciones exageradas y tensos, sin justificación alguna. Estas preocupaciones comprenden cualquier tema, dinero, salud, pareja, familia y trabajo siendo las más habituales. La vida cotidiana puede llegar a ser interferida por la intensidad de las preocupaciones. Inclusive presentan dificultades físicas como aparición de fatiga, contracturas, persistentes dolores de cabeza y tensión muscular acompañada de síntomas digestivos, respiratorios o cardíacos. El TAG es diagnosticado con una duración de 6 meses de los síntomas (Pastrana J., 2007, p. 5).

1.2.5. Tratamiento

Los trastornos de ansiedad no se curan con medicación, pero mantienen a los síntomas bajo control, ciertos tipos de trastornos específicos se tratan con psicoterapia o la combinación de ambos. El tratamiento de elección depende de la preferencia de la persona. El médico inicialmente debe realizar el diagnóstico para comprobar si la sintomatología de la persona se debe a trastornos de ansiedad o a un problema físico. También es necesario identificar si a parte del trastorno de ansiedad hay una enfermedad coexistente como el alcoholismo y abuso de sustancias (Instituto Nacional de la Salud Mental, 2009, p. 19).

Es importante la valoración de los síntomas realizando exámenes físicos y psicológicas detallados, pruebas médicas complementarias como electrocardiograma, alteraciones hormonales, principalmente tiroideas, alteraciones bioquímicas o hemograma (Pastrana J., 2007, p. 7)

1.2.5.1. Psicoterapia

La psicoterapia es una de las técnicas más útiles para tratar diversos trastornos de ansiedad, el personal debe ser experto y capacitado al realizar cada técnica, además debe ser multidisciplinario incluidos psiquiatras, psicólogos, personal de enfermería, terapeutas ocupacionales y otros. Lo

ideal es que los psicólogos se encarguen de este campo, pero cuando empeora el caso es posible que participen los psiquiatras (Pastrana J., 2007, p. 8).

1.2.5.2. Medicación y efectos adversos

El tratamiento de la ansiedad debe estar acompañado con fármacos que ayuden a controlar los síntomas de la enfermedad. Este tratamiento farmacológico debe ser prescrito por psiquiatras u otros médicos con los conocimientos adecuados en psicofarmacología.

En caso de que la ansiedad este acompañada de depresión los fármacos recomendados son antidepresivos, los más utilizados son los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (ISRS) como fluvoxamina, fluoxetina, paroxetina, sertralina, citalopram o escitalopram y otros antidepresivos modernos con acción serotoninérgica como venlafaxina, duloxetina o mirtazapina. La ventaja de estos fármacos es la buena tolerancia con escasos efectos secundarios (Instituto Nacional de la Salud Mental, 2009, p. 21).

Entre los antidepresivos más antiguos se encuentran los antidepresivos tricíclicos e inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO). Los tricíclicos tienen un funcionamiento serotoninérgico con acción lenta, los medicamentos más destacados son la imipramina, utilizada como primera elección para tratar el TAG, y la clomipramina, utilizada prioritariamente para el TOC. Los IMAOs son fármacos efectivos, pero su manejo es difícil debido a la dieta y a las numerosas contraindicaciones con otros fármacos, además de presentar efectos secundarios desagradables y peligrosos (Instituto Nacional de la Salud Mental, 2009, p. 21) (Pastrana J., 2007, p. 8) .

Entre los fármacos ansiolíticos más utilizados están las benzodiazepinas y la buspirona. Las benzodiazepinas (alprazolam, lorazepam, clorazepato, clonazepam, diazepam, ketazolam, bromazepam, halazepam) son sustancias eficaces contra la ansiedad, pero su principal riesgo es habituación y adicción, por lo que, es recomendable utilizar por períodos de tiempo limitados. La interrupción brusca de su administración puede ocasionar síndrome de abstinencia, que está caracterizado por presentar ansiedad descontrolada que se soluciona administrando nuevamente la sustancia. La buspirona posee efectos beneficiosos para las personas ansiosas sobre todo los que presentan TAG. La diferencia con los benzodiazepinas es que su acción no es beneficiosa en casos de ansiedad profunda y complicaciones severas como ataques de pánico. Es necesario la utilización por al menos 2 semanas para comenzar a mostrar su eficacia. (Instituto Nacional de la Salud Mental, 2009, p. 21)(Pastrana J., 2007, p. 8)(Goodman & Gilman, 2006, p. 453).

Otros fármacos, como los betabloqueantes, utilizados para tratar enfermedades cardíacas o neurológicas, también son usados para controlar los síntomas físicos de la ansiedad. sobre todo, cuando proviene de una situación estresante, como primera elección está el propranolol que controla síntomas como temblor, sudoración o palpitaciones (Pastrana J., 2007, p. 8).

1.2.6. Fitoterapia

Según la OMS, la fitoterapia es la “Ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal, con fines terapéuticos, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico”(Consejo de Farmacéuticos, 2016, p. 1). La fitoterapia se limita al uso de productos vegetales y su administración por vía oral o tópica, pero prohíbe la utilización de éstos por vía parenteral, son recomendados solamente en caso de afecciones leves a moderadas y en algunos casos en enfermedades crónicas. De la fitoterapia se deriva dos conceptos importantes:

- **Fitomedicina:** Disciplina que emplea fitomedicamentos en la terapéutica de un estado patológico, la droga vegetal es sometida a criterios investigativos, de preclínica, clínica, toxicología, cambios mutagénicos, con el fin de determinar el mecanismo de acción, receptores, indicaciones y contraindicaciones; forma de uso seguro y fundamentado científicamente por investigaciones validadas (Castro and Torres, 2014, p. 2185).
- **Fitoterapia clásica:** Emplea plantas medicinales para tratar enfermedades, basándose en el uso empírico de las culturas ancestrales, lo cual proporciona a una información poco eficaz en cuanto a efecto terapéutico de las plantas (Castro and Torres, 2014, p. 2185).

Que un producto vegetal funcione, depende de la forma de recolección y de conservación del material vegetal, por lo que, un procedimiento incorrecto en estas acciones provocará procesos de degradación en menor tiempo, desprendimiento de olor, cambios de color y desecación, provocando una disminución en la calidad de los efectos terapéuticos (Castro and Torres, 2014, p. 2185).

1.2.7. *Peperomia peltigera* C. DC. (Pataconyuyo)



Figura 3-1: *Peperomia peltigera* (PATACONYUYO)

Fuente: <https://public.fotki.com/Grootscholten/plant-collections/peperomia/peperomiaarifoliaca-1.html>

2.2.7.1 Descripción botánica

Hierba terrestre, carnosa y ramificada, cuenta aproximadamente con 10-25 cm de alto; su tallo es verde pálido, presenta cicatrices foliares. Hojas alternas, succulentas, de verde nítido en el haz, verde pálido en el envés, marrones y muy opacas cuando están secas, ampliamente ovadas o redondeadas, 5-10,5 cm de largo, 3-6 cm de ancho. Cuenta con inflorescencias compuestas, terminales o axilares, ramificadas, erectas o ascendentes en todos los estadios, su color es blanco y suelen estar agrupadas. Fruto globoso-ovoide, 0,5-0,9 mm de longitud, sécil, fijado basalmente en la superficie del raquis, con un pico triangular, oblicuo y corto, su cuerpo liso, marrón oscuro cuando está seco (Mutis, 1994).

1.2.7.1. Taxonomía

Reino: Plantae
Clase: Dicotiledónea Magnoliopsida
Orden: Piperales
Familia: Piperaceae
Género: Peperomia

Especie: *Peperomia peltigera* C. DC (Mutis, 1994; THE PLANT LIST, 2010).

1.2.7.2. Hábitat y Distribución

Ecuador, de donde es conocida solamente como planta cultivada en las provincias de Pichincha, Tungurahua, Chimborazo, Loja (Mutis, 1994).

1.2.7.3. Aplicaciones

Según saberes ancestrales de las etnias y personas comunes de Ecuador se usa la decocción de la planta para tratar los nervios, fatiga, reducir la ansiedad y regulador del sueño (Taco and Cañizares, 2013, p. 50).

1.2.7.4. Composición química

Según escasas investigaciones realizadas se estima que tiene: taninos, flavonoides, saponinas y alcaloides (Taco and Cañizares, 2013, p. 50). (Castillo *et al.*, 2014, p. 37)

1.2.8. Modelos animales

Los modelos animales permiten estudiar psicopatologías evaluando la historia conductual, además es posible investigar un proceso patológico inducido o espontáneo. Estos modelos son controlables experimentalmente sobre todo en el ambiente que se desarrolla el estudio (Vargas-Irwin and Góngora, 2011, p. 142)(Kamenetzky, 2006, p. 2)

Un proceso con animales de experimentación empieza con la preparación del animal para su uso y termina cuando se finalizan las observaciones sobre el mismo. Los animales como reactivos biológicos en la investigación científica han aportado numerosos beneficios. El uso de estos animales juega un papel importante para la humanidad y está resumida por el *National Research Council* (EEUU). De hecho, en los últimos tiempos estos estudios han contribuido de manera

directa a incrementar la esperanza de vida de las personas, ya sea en la producción y validación de vacunas, como en el estudio de nuevas enfermedades (Saña, Colom and Castelló, 2011, p. 4).

Para desarrollo de fármacos son importantes ya que los datos obtenidos en ellos pueden ser extrapolables a humanos. En la mayoría de fármacos nuevos, es necesario seguir estrategias con fundamento científico. Por tanto, se realizan muchos esfuerzos en la elección de los sistemas de verificación. (Eupati, 2015, p. 1).

La elección de una especie animal se fundamenta en las similitudes entre una especie animal y los humanos en aspectos como:

- Farmacodinámica
- Farmacocinética
- Patofisiología y fisiología (Eupati, 2015, p. 1).

Es necesario mantener el buen trato de las especies animales durante todo el proceso de investigación, de acuerdo a las legislaciones sobre el manejo y uso de animales de laboratorio. Es importante conocer todas las restricciones ambientales y de movimiento, privación de agua y alimento, administración de drogas, preparaciones crónicas y otras más, para así salvaguardar la integridad de las especies usadas (Vargas-Irwin and Góngora, 2011, p. 142).

Los modelos animales utilizados en el estudio de la ansiedad

<i>Respuestas condicionadas</i>	<i>Respuestas no condicionadas</i>
1. Pruebas de conflicto: Prueba de Geller-Seifter Prueba de Vogel	1. Pruebas exploratorias: Laberinto elevado en cruz Transiciones luz/oscuridad A campo abierto
2. Otras: Evitación activa/pasiva Supresión condicionada a la ingesta de líquidos Respuesta emocional condicionada Vocalizaciones ultrasónicas condicionadas	2. Pruebas sociales: Vocalizaciones ultrasónicas inducidas por separación Interacción social
	3. Otras: Hiponeofagia Conducta defensiva de enterramiento

Adaptado de Rodgers, 1997.

Figura 4-1: Modelos animales utilizados para la Ansiedad.

Fuente: Gómez Claudia, 2002. p.6.

2.5.8.1. *Modelos de respuestas condicionadas*

Se fundamentan en la capacidad de responder ante un estímulo. Estos modelos permiten controlar los niveles de conducta basal por parte del experimentador, pero una de las limitaciones en su uso, es que requiere que los sujetos sean entrenados previamente. Las conductas condicionadas incluyen procedimientos de castigo y modelos de conflicto. El principal objetivo de estos modelos es establecer variables que participan en la formación de reflejos condicionados que luego se especifican en un mecanismo de acción (Vargas-Irwin and Góngora, 2011, p. 143) (Contreras *et al.*, 2003).

2.5.8.2. *Modelos de respuestas no condicionadas*

Se basan en medir las respuestas conductuales y fisiológicas en presencia de estímulos estresantes o nuevos. En algunos se evalúa el miedo ante escenarios novedosos en donde el animal está expuesto a luces brillantes, altos o espacios abiertos. Durante todo el ensayo se otorga un trato ético hacia los animales. Las pruebas realizadas son rápidas, sencillas y económicas (Vargas-Irwin and Góngora, 2011, p. 144).

Laberinto elevado en cruz. - Esta prueba tiene gran aceptabilidad en investigaciones, ha sido propuesta para identificar de forma selectiva drogas ansiolíticas y angiogénicas. Normalmente al disminuir la ansiedad del animal, aumenta el tiempo de exploración en los brazos abiertos, por lo contrario, sucede si se aumenta la ansiedad, el animal manifiesta miedo y temor por lo que se queda en su zona de confort (brazos cerrados) evitando la exposición (Hock, 2016, p. 1127) (Contreras *et al.*, 2003, p. 4).

Cuarto Claro-Oscuro. – Es un modelo de comportamiento simple específico para detectar compuestos con efectos ansiolíticos. Los animales dentro de la prueba exploran ambientes nuevos e iluminados y rincones oscuros y obsoletos. Durante la prueba realizan cruces que permiten medir la locomoción del roedor (Hock, 2016, p. 1121).

Campo Abierto. – Este modelo refleja el comportamiento del roedor en general, el animal está expuesto en una caja sin posibilidad de escapar. Nuevos dispositivos permiten registrar la actividad motora y además la locomoción (Hock, 2016, p. 1044).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

El trabajo se basó en la investigación de la actividad ansiolítica del extracto de *Peperomia peltigera in vivo* en ratones (*Mus musculus*) a diferentes concentraciones, utilizando equipos electrónicos de medición como: Laberinto cruz elevado, cuarto claro-oscuro y campo abierto.

2.1. Lugar de investigación

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

2.2. Identificación de material vegetal

Para la identificación de la especie, se tomaron muestras del material vegetal en el lugar de recolección, las mismas fueron presentadas en el Herbario Misael Acosta Solís de la Universidad Técnica de Ambato (AMAS) a cargo del curador PhD. José Homero Vargas López.

2.3. Recolección de material vegetal

Las muestras vegetales fueron recolectadas en el catón Patate, Provincia de Tungurahua, aproximadamente a una altitud de 2314 msnm, en las coordenadas geográficas GPS:

Latitud de 1°19′

Longitud: 78°30′



Figura 1-2: Punto de recolección de *P. peltigera*

Fuente: GPS

2.4. Materiales, equipos y reactivos

2.4.1. *Material vegetal*

Hojas de *Peperomia peltigera*.

2.4.2. *Material biológico*

Ratones (*Mus musculos*) de 2 a 3 meses, machos y con peso entre 28 a 32 g.

2.4.3. *Lista de materiales, equipos y reactivos utilizados*

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

Control de Calidad de materia prima		
Materiales	Equipos	Reactivos
Embudo	Equipos	Ácido clorhídrico al 10%
Capsulas	Balanza analítica	Agua destilada
Pinzas para capsulas	Mufla IVYMEN N-8LITROS 1100°C	
Trípode	Molino Arthur H. thomas C. O	
Desecador	Estufa Memmert SNB400	
Crisoles de porcelana	Sonicador	continuará

Reverbero		
Papel filtro		
Vasos de Precipitación		
Tamizaje Fitoquímico		
Materiales	Equipos	Reactivos
Pipetas de 1mL, 5mL y 10mL	Sorbona	Agua destilada
Tubos de ensayo		Alcohol amílico
Pinzas para tubos de ensayo		Ácido clorhídrico al 1%
		Ácido clorhídrico concentrado
Frasco Ámbar 500mL		Ácido sulfúrico concentrado
Gradilla		Anhidrido sulfurico concentrado
Papel filtro		Cloruro de sodio
		Cloroformo
		Cinta de magnesio metálico
		Cloruro Férrico
		Carbonato de sodio
		Etanol
		Éter Etílico
		Reactivo de Sudan III
		Reactivo de Mayer
		Reactivo de Dragendorff
		Reactivo de Wagner
		Reactivo de Borntrager
		Reactivo de FeCl3
		Reactivo de Catequinas
		Reactivo de Fehling A y B
		Reactivo de Baliet
		Hidróxido de sodio al 5%
Control de Calidad del Extracto Hidroalcohólico		
Materiales	Equipos	Reactivos
Frasco ámbar 500mL	pH-metro	Etanol
Probeta 100mL	Refractómetro	Agua destilada
Picnómetro	Estufa Memmert SNB400	
Vasos de Precipitación		
Capsulas de porcelana		
Pinzas para cápsulas		
Piseta		
Elaboración del extracto liofilizado		
Materiales	Equipos	Reactivos
Balones esmerilados 250mL	Balanza analítica	Etanol
Espátula	Congelador	Agua destilada continuaré

Trípode	Bomba de presión al vacío	
Algodón higroscópico	Rotavapor BUCHI R110 & B-465 Water Bath	
Embudo simple	Sonicador Branson 2510	
Mangueras	Liofilizador Thermo MicroModulyo Dryer	
Papel filtro		
Frasco Ámbar 500mL		
Cuantificación de Flavonoides y Fenoles		
Materiales	Equipos	Reactivos
Balones de aforo de 25mL y 100		
MI	Balanza analítica	Agua destilada
Pipeta de 5mL y 10 MI	Vórtex mixer MRC S1-100	NaNO ₂ al 5%
	Espectrofotómetro Thermo Scientific	
Micropipeta de 100 µL y 1000 µl	Evolución 220	NaOH
Puntas amarillas y azules para		
Micropipeta		AlCl ₃ al 10%
Piseta		Metanol
Vasos de Precipitación		
Papel aluminio		
Tubos de ensayo		
Cronometro		
Evaluación de la Actividad Ansiolítica		
Materiales	Equipos	Reactivos
Cajas de Plástico	Balanza analítica RADWAG	Propilenglicol
	Cámara www, acoplada a una	
Rejillas	estructura www	Clonazepam 2.5 mg/mL
Bebederos		
Frascos ámbar 50mL		
Jeringuilla 1mL		
Cánula		

Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

2.5. Métodos y Técnicas

2.5.1. *Recolección, lavado y secado del material vegetal*

Se seleccionó hojas de *Peperomia peltigera* de especies maduras, se lavó y eliminó el exceso de agua. Las hojas fueron secadas en una estufa a 40°C durante un determinado tiempo, se pulverizó y luego se almacenó en un lugar seco protegido de la humedad.

2.5.2. *Parámetros de control de calidad aplicados a la droga cruda*

Cada ensayo se realizó por triplicado para garantizar la precisión, seguridad y eficacia de la droga utilizada (Normas Ramales. Drogas Crudas y Extractos y Tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP 1992).

2.5.2.1. *Determinación del contenido de humedad*

La realización de este ensayo permite medir el exceso de agua existente en la droga cruda, el cual puede elevar el riesgo de contaminación por patógenos y desencadenar hidrólisis de componentes presentes en la droga provocando su deterioro.

Procedimiento:

En una cápsula de porcelana previamente tarada se pesó $2 \text{ g} \pm 0.5 \text{ mg}$ de droga cruda seca y molida, seguidamente se ubicó la cápsula dentro de la estufa 105°C por 3 horas. Luego se secó de la estufa y se colocó en un desecador a temperatura ambiente por unos 15 min aproximadamente, se pesó y nuevamente se llevó a la estufa, esta vez por una hora más. Se continuó el mismo procedimiento hasta que se obtuvo un peso constante. El cálculo del resultado se basó en la siguiente ecuación:

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Donde:

H= porcentaje de pérdida en peso por desecación.

M= masa de cápsula vacía.

M₁= masa de cápsula con la muestra de la droga desecada.

M₂= masa de la cápsula con la muestra de la droga.

2.5.2.2. *Determinación de cenizas totales*

Este ensayo es importante para determinar el contenido de minerales en su totalidad dentro de la droga cruda. Al eliminar los compuestos orgánicos de la muestra quedan los residuos inorgánicos.

Procedimiento:

En un crisol de porcelana previamente tarado se pesó $2g \pm 0.5mg$ de droga seca y pulverizada, se carbonizó en un reverbero, posteriormente se colocó en una mufla a $700^{\circ}C$ por 2 horas hasta su incineración total. Luego se enfrió el crisol en un desecador a temperatura ambiente y se pesó. Se repitió este proceso hasta que se obtuvo peso constante. Para el cálculo respectivo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

C (%) = cenizas totales.

M (g) = masa de crisol vacío.

M₁ = masa del crisol con muestra del ensayo.

M₂ = masa de crisol con la ceniza.

2.5.2.3. *Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico*

Esta prueba permite determinar en la droga cruda la presencia de sustancias insolubles en ácido clorhídrico.

Procedimiento:

En un crisol de porcelana se colocó las cenizas obtenidas con anterioridad, se adicionó 3ml de ácido clorhídrico 10 %, se calentó tapado con un vidrio reloj durante 10 minutos a baño maría, posteriormente con 5ml de agua caliente se lavó el vidrio reloj junto con el sobrante del crisol. Luego se filtró y rápidamente se lavó el residuo con agua caliente, se colocó 2 gotas de nitrato de plata 0.1 M esto hasta que se observó que no hay presencia de cloruros en la solución. Después

se llevó la solución a una estufa a 105°C por un tiempo, se transfirió al crisol y se colocó en la mufla a 700°C por 2 horas. Luego se trasladó al desecador por 15 minutos hasta que llegó a temperatura ambiente y se pesó hasta que se obtuvo masa constante. Los resultados se realizaron con la siguiente fórmula:

$$\%B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

B= (%) cenizas insolubles en ácido clorhídrico.

M= masa del crisol vacío.

M₁= masa del crisol con la muestra de ensayo.

M₂= masa del crisol con la porción de cenizas de ácido clorhídrico.

2.5.2.4. *Determinación de cenizas solubles en agua*

Esta prueba permite determinar dentro de las cenizas totales el contenido de material inorgánico.

Procedimiento:

En el crisol de cenizas totales ya obtenidas, se colocó 15 mL de agua, se cubrió con un vidrio reloj y se dejó en baño maría por 5min. Luego se filtró la solución, el papel filtro se ubicó en el interior del crisol hasta que se carbonizó por completo, se llevó nuevamente a la mufla por 2 horas a 700°C. Posteriormente se colocó el crisol en la estufa a 105°C por 15 min. Luego se llevó al desecador y se pesó hasta que se obtuvo una masa constante. Los resultados se obtuvieron mediante la siguiente fórmula:

$$\%Ca = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

Ca= (%) cenizas solubles en agua.

M₁ = masa crisol con la muestra del ensayo (g).

M₂ = masa crisol con las cenizas totales (g).

M_a = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g).

M = masa crisol vacío (g).

2.5.3. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico se considera como una etapa inicial de la investigación fitoquímica, permite identificar de manera cualitativa los componentes principales de una planta, estos pueden ser metabolitos primarios y secundarios (Palacios, 2012) (Normas Ramales. Drogas Crudas y Extractos y Tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP 1992).

2.5.3.1. Elaboración de los extractos para el tamizaje fitoquímico.

De las hojas de *Peperomia peltigera* desecadas y pulverizadas se pesó 50 g y se colocó 250mL solvente, para así extraer componentes afines. Los solventes se fueron colocado sobre la droga cruda de acuerdo a la polaridad creciente: hexano, etanol y agua. El procedimiento se realizó en base al esquema de la Figura 2-2:

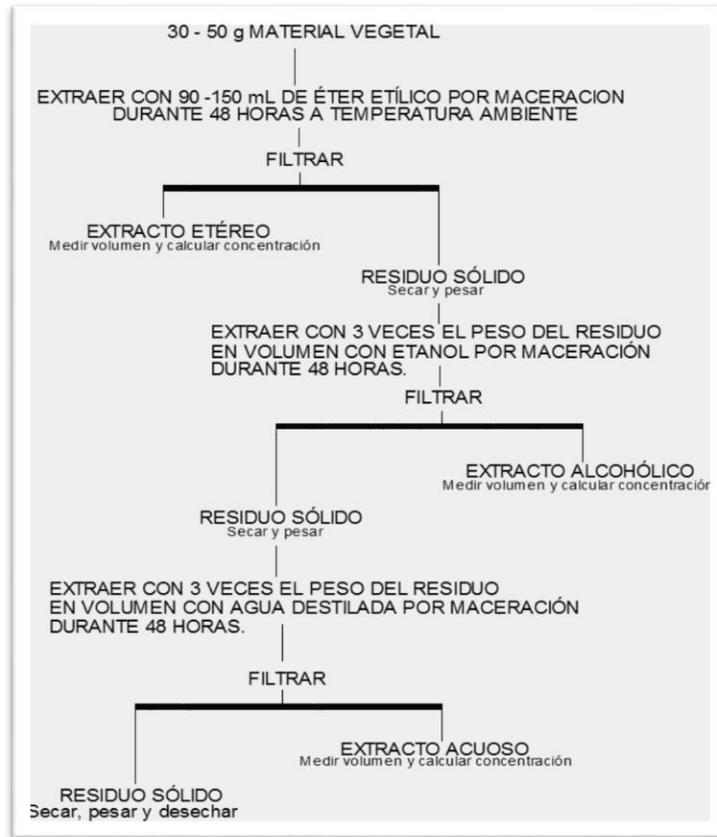


Figura 2-2: Esquema para el Tamizaje Fitoquímico.

Fuente: Miranda M., 2006

En base al esquema de las Normas Ramales de drogas crudas, extractos y tinturas se realizó los ensayos respectivos de los extractos hexanico (etéreo), alcohólico y acuoso. Se detalla a continuación en las figuras 3-2, 4-2 y 5-2:

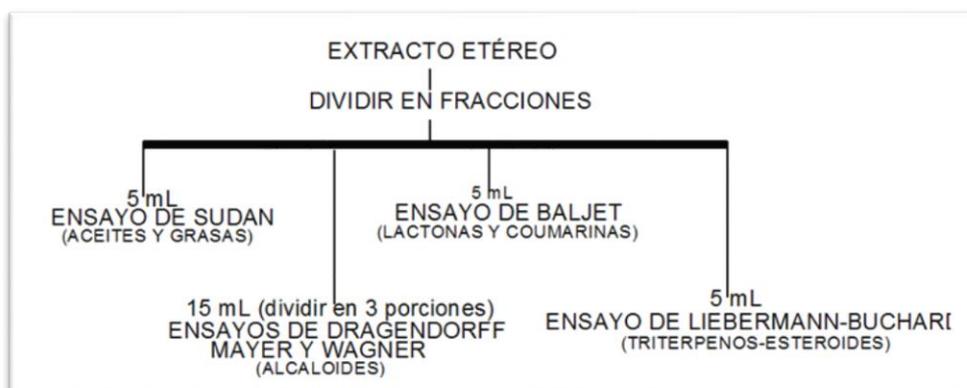


Figura 3-2: Esquema de ensayos del extracto etéreo

Fuente: Miranda M., 2006



Figura 4-2: Esquema de ensayos del extracto alcohólico.

Fuente: Miranda M., 2006

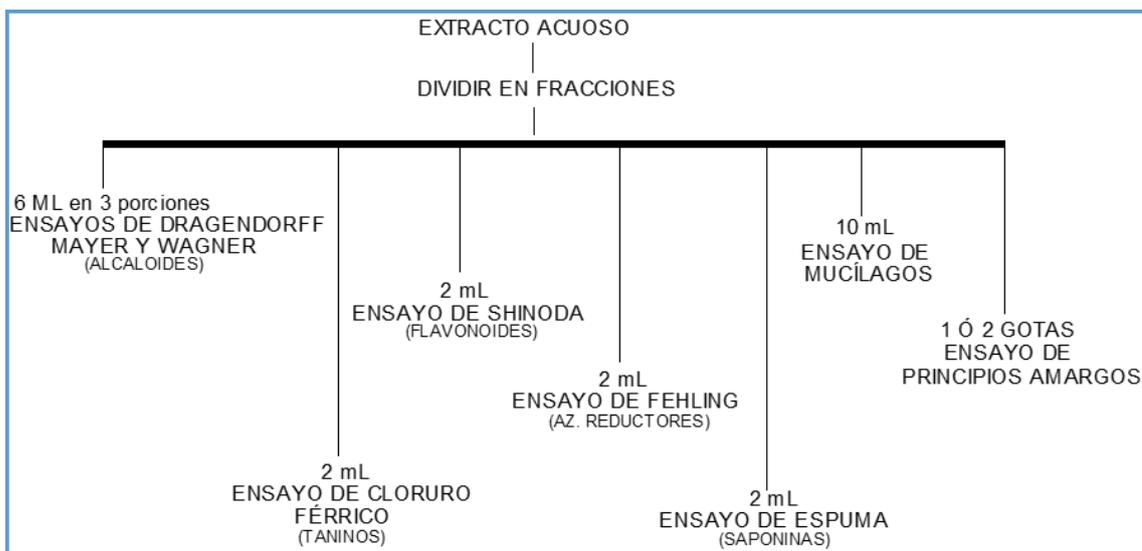


Figura 5-2: Esquema de ensayos del extracto acuoso

Fuente: Miranda M., 2006

2.5.3.2. *Ensayo de Sudan*

Este ensayo permite reconocer compuestos grasos presentes en el extracto etéreo.

Procedimiento:

Se añadió 1 mL de reactivo de sudan III a la muestra del extracto etéreo y se evaporó el solvente en baño de agua.

Resultados positivos:

Presencia de película o gotas de color rojo en el sobrante del líquido o en las paredes del tubo.

2.5.3.3. *Ensayo de Dragendorff, Mayer, Wagner*

Estos ensayos muestran la presencia cualitativa de alcaloides en un extracto.

Procedimiento:

- Extracto hexánico: Se evaporó una muestra de extracto en baño maría y se volvió a disolver el restante en 1 ml de HCl 1%.
- Extracto alcohólico y acuoso: se colocó 1 gota de HCl concentrado, se calentó con cuidado y luego se dejó enfriar hasta su acidificación.

Después de la acidificación de cada extracto:

- En Dragendorff: Se añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff.
- En Mayer: Se colocó una pizca de cloruro de sodio.
- En Wagner: Se añadió 2 o 3 gotas del reactivo de Wagner.

Resultados positivos:

- Opalescencia: (+)
- Turbidez: (++)
- Precipitado: (+++)

2.5.3.4. *Ensayo de Baljet*

Esta prueba permite evidenciar en el extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, particularmente cumarinas y otros compuestos pertenecientes a este grupo. (Normas Ramales. Drogas Crudas y Extractos y Tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP 1992).

Procedimiento:

- Extractos hexánico y acuoso: se evaporó en baño maría y se añadió 1 mL de reactivo
- Extracto alcohólico: se añadió un 1 mL del reactivo.

Resultado positivo:

- Precipitado rojo (++)
- Coloración roja (+++)

2.5.3.5. *Ensayo de Borntrager*

Este ensayo identifica la presencia de quinolonas en el extracto.

Procedimiento:

- Alícuota del Extracto sin cloroformo: se evaporó el solvente y al residuo se disolvió en 1mL de cloroformo.
- Se añadió 1 mL de NaOH 5%
- Se agitó rápidamente hasta llegar a una mezcla homogénea de las fases.
- Se dejó en reposo hasta su completa separación.

Resultado positivo:

Fase acuosa alcalina (superior)

- Color rosado o rojo: (positivo).
- Coloración rosada: (++)
- Coloración roja: (+++)

2.5.3.6. *Ensayo de Liebermann-Burchard*

Esta prueba permite reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides en un extracto.

Procedimiento:

- Muestra del extracto sin cloroformo: se eliminó el solvente en baño de agua.
- El restante se volvió a disolver en 1 mL de cloroformo.
- Seguidamente se añadió 1ml de anhídrido acético y se mezcló.
- Cuidadosamente por las paredes del tubo se dejó caer de 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Resultado positivo:

- Rosado azul (muy rápido): (+)
- Verde intenso (visible rápidamente): (++)
- Verde oscuro-negro (final de la reacción): (+++)

2.5.3.7. *Ensayo de catequinas*

Este ensayo permite observar la presencia de catequinas en el extracto.

Procedimiento:

- Con la ayuda de un capilar se tomó una gota de muestra de extracto y se aplicó sobre un papel filtro.
- Se aplicó sobre la mancha solución de carbonato de sodio.

Resultados positivos:

Visualización de una mancha color carmelita verde a la luz UV.

2.5.3.8. *Ensayo de resinas*

Este ensayo detecta la presencia de resinas. Rápidamente se añadió 2 ml de solución alcohólica y 10ml de agua destilada. Presencia de precipitado indica un resultado positivo.

2.5.3.9. *Ensayo de Fehling*

Con este ensayo se puede evidenciar la presencia de azúcares reductores en un extracto.

Procedimiento:

- Alícuota del extracto sin agua: se evaporó el solvente en baño de agua.
- Al residuo se le disolvió 1.2 mL de agua.
- Luego se adicionó 2 mL del reactivo de Fehling y se calentó en baño maría durante 5-10 minutos.

Resultados positivos:

- Color rojo
- *Precipitado rojo*

2.5.3.10. *Ensayo de la espuma*

Esta prueba permite reconocer saponinas en un extracto.

Procedimiento:

- Muestra en alcohol: se diluyó con 5 veces su volumen de agua.
- Se procedió a agitar fuertemente la mezcla durante 5-10 minutos seguidos.

Resultados positivos:

Presencia espuma en la parte superior del líquido de una altura de 2mm por un tiempo aproximado de 2 minutos.

2.5.3.11. *Ensayo del cloruro férrico*

Esta prueba permite visualizar la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto.

Procedimiento:

- Extracto alcohólico: se adicionó 3 gotas de tricloruro férrico 5% en solución salina.
- Extracto acuoso (fundamentalmente para taninos): se añadió acetato de sodio y 3 gotas de tricloruro férrico 5% en solución salina.

Resultados positivos:

- Coloración rojo-vino: compuestos fenólicos en general.
- Coloración verde intensa: taninos tipo pirocatecólicos.
- Coloración azul: taninos de tipo pirogalotánicos.

2.5.3.12. *Ensayo de Shinoda*

Este ensayo permite en un extracto determinar si existe presencia de flavonoides.

Procedimiento:

- La muestra del extracto se diluyó en 1mL de HCL concentrado.
- Luego se colocó un pedazo de cinta de magnesio metálico.
- Se esperó 5 minutos después de la reacción.
- Se adicionó a la mezcla 1 ml de alcohol amílico.
- Finalmente se mezclaron bien las dos fases y se dejó reposar hasta que las fases se vuelvan a separar por completo.

Resultado positivo: coloración amarilla, naranja, carmelita o rojo intensos en el alcohol amílico.

2.5.3.13. *Ensayo de antocianidinas*

En los extractos evidenciar la presencia de estructuras de secuencia del grupo de flavonoides.

Procedimiento:

Extracto etanólico

- Se calienta 2 ml del extracto durante 10 min con 10 mL ácido clorhídrico concentrado.
- Se dejó enfriar y añadió agua con 2 mL de alcohol amílico.
- Luego se agitó y se dejó reposar hasta que se separaron las fases.

Resultados positivos: coloración roja a marrón (fase amílica).

2.5.3.14. *Ensayo de mucílagos*

Esta prueba permite reconocer la presencia estructuras tipo polisacáridos en los extractos. Estos tienen la capacidad de formar un colide hidrófilo con alto índice de masa que particularmente aumenta la densidad del agua donde es extraído.

Procedimiento:

Se enfría una muestra del extracto a temperatura de 0-5°C.

Resultados positivos:

Muestra del extracto con consistencia gelatinosa.

2.5.3.15. *Ensayo de principios amargos y astringentes*

Para la realización de este ensayo se tomó 1 gota de extracto acuoso, se probó y reconoció el sabor de cada principio.

2.5.4. *Control de calidad del extracto alcohólico*

2.5.4.1. *Requisitos organolépticos*

Esta prueba se realizó degustando el extracto para determinar el olor, color, sabor y aspecto (Normas Ramales. Drogas Crudas y Extractos y Tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP 1992).

2.5.4.2. *Determinación de densidad relativa*

La densidad se realizó con la ayuda de un picnómetro, se procedió a obtener los pesos del picnómetro para el cálculo, primero se llenó con la muestra del extracto conservado a 25°C por 15 minutos y se pesó. Después se secó el Picnómetro y se pesó vacío. Finalmente se llenó con agua destilada a 25°C. El cálculo se realizó con la siguiente formula:

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

Donde:

M= Peso del picnómetro vacío.

M₁= Peso del picnómetro con muestra del extracto.

M₂= Peso del picnómetro con agua.

2.5.4.3. *Índice de refracción*

Este ensayo se realizó en un refractómetro, se colocó una gota de la muestra del extracto sobre el prisma y por medio del espejo del instrumento se enfocó la luz que incidió sobre sobre la entrada del prisma.

2.5.4.4. *Medición de pH*

Para este ensayo se procedió a medir el pH con la ayuda de un pHmetro digital.

2.5.4.5. *Determinación de sólidos totales*

Para la realización de este ensayo se colocó en una cápsula previamente tarada una alícuota de 5ml de extracto hidroalcohólico y se evaporó en baño maría. Posteriormente se ubicó la cápsula dentro de la estufa a 105°C por 3 horas. Luego se llevó al desecador hasta temperatura ambiente y se tomó el peso hasta que se mantuvo constante. Los resultados se obtuvieron en base a la siguiente fórmula:

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

Donde:

ST= sólidos totales de la muestra.

P= masa de la cápsula vacía (tarada).

Pr= masa de la cápsula con el residuo.

V= volumen de la alícuota del ensayo.

2.5.5. Preparación del extracto hidroalcohólico liofilizado de *Peperomia peltigera*.

Para preparar el extracto hidroalcohólico, se pesó 50 g de droga cruda de *Peperomia peltigera* y se colocó en un frasco ámbar con 500mL de solvente (etanol al 70%) y se dejó macerar por 72 horas con agitaciones por pequeños lapsos de tiempo. Transcurrido el tiempo de maceración, se llevó al extracto al sonicador durante 2 horas. Posteriormente se procedió a filtrar el extracto y se concentró en el rotavapor a 55°C. como resultado se obtuvo una solución sin alcohol, a la cual se filtró. Finalmente se congeló con nitrógeno líquido y se liofilizó hasta que el extracto quedo libre de agua.

2.5.6. Determinación de Flavonoides Totales

Para la determinación de flavonoides totales se procedió a tomar una alícuota de solución estándar, se añadió 4 ml de agua destilada y 0.3ml de Nitrito de Sodio al 5%. Se esperó por 5 minutos. Transcurrido el tiempo se añadió 0.3 ml de Cloruro de Aluminio al 10%, se vortizó se dejó durante 5 minutos en completa oscuridad. Luego se añadió 2ml de NaOH 1M y se homogenizó la solución. Finalmente, las lecturas se realizaron a 510 nm en un espectrofotómetro.

2.5.7. Determinación de Fenoles Totales

Para determinar la cuantificación de fenoles totales se procedió a tomar una alícuota de solución estándar, la cual se añadió a un balón de aforo de 25mL, seguidamente se adicionó 15 mL de agua destilada y 1,25mL de reactivo de Folin. Se esperó por 8 minutos y se adicionó 3,75 mL de Carbonato de Sodio al 7.5% y se aforó con agua destilada. Se vortizó por 1 minuto y se dejó por 2 horas en oscuridad completa. Se realizaron las lecturas a una medición de 765nm.

2.5.8. Actividad ansiolítica

La evaluación se realizó *in vivo* en ratones machos, de especie *Mus musculus*, de peso entre 28-32g y de 2 meses de edad, provenientes del bioterio del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública “INSPI” ubicado en la ciudad de Guayaquil.

Se usó las instalaciones del Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, donde se brindó a los animales de experimentación un macro ambiente en una habitación separada, desprovista de iluminación, silencio total, con rangos de temperatura y humedad adecuados. Dentro de esta habitación los ratones se encontraban ubicados aleatoriamente en cajas plásticas con rejillas que formaban un microambiente, en donde se les proporcionó condiciones apropiadas como el piso con tamo esterilizado, ventilación constante, alimentación e hidratación. La distribución de los grupos de ratones se muestra en la tabla 2-2.

El extracto liofilizado fue reconstituido con propilenglicol al 15% (vehículo), las dosis se administraron de acuerdo a la tabla 2-2. Los ratones se trasladaron 30 minutos antes para su adaptación. A cada ratón se administró un volumen aproximado de 0.5ml de solución y se esperó 30 minutos para realizar el test de actividad ansiolítica.

Tabla 2-2: División y codificación de grupos y dosis para la evaluación de la actividad ansiolítica de *Peperomia peltigera*.

	Concentración	Número de ratones	Código
Propilenglicol	15%	6	BLANCO
Clonazepam	0,5 mg/kg	6	CONTROL
<i>Peperomia peltigera</i>	25 mg/kg	6	D1-PP
	50 mg/kg	6	D2-PP
	100 mg/kg	6	D3-PP
	200 mg/kg	6	D4-PP
	300mg/kg	6	D5-PP

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

La evaluación de la actividad ansiolítica se realizó en base a los test de respuesta no condicionada: Para ello se utilizaron 3 equipos electrónicos de medición “Laberinto cruz elevado, cuarto claro-oscuro y campo abierto”. Estos equipos expresan los resultados mediante un software de procesamiento de imagen llamado Itopi para los equipos de medición laberinto en cruz elevado y cuarto claro-oscuro y otro software llamado Emis para el equipo de medición campo abierto.

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

El equipo utilizado está constituido de una caja elaborada en acrílico de dimensiones totales de 44 x 21 cm, con una altura de 21cm, dividido en dos compartimentos de 29 x 21 cm la sección transparente y de 15 x 21cm la oscura, las dos secciones se encuentran separadas por una pared con una ranura que permite las transiciones del roedor durante la prueba. Además, consta de un soporte metálico regulable y recubierto de una cortina que evita el paso de la luz, dentro de este se encuentra una cámara de video en la parte superior (Moreno *et al.*, 2018, p. 6). En la Fotografía 1-2 se muestra el equipo.

Adicionalmente el equipo tiene un software de procesamiento de imagen (ITOPI) donde se suben los videos grabados de cada ensayo. Gráfico 1-2.



Fotografía 1-1: Equipo electrónico de medición “Cuarto Claro-Oscuro”

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

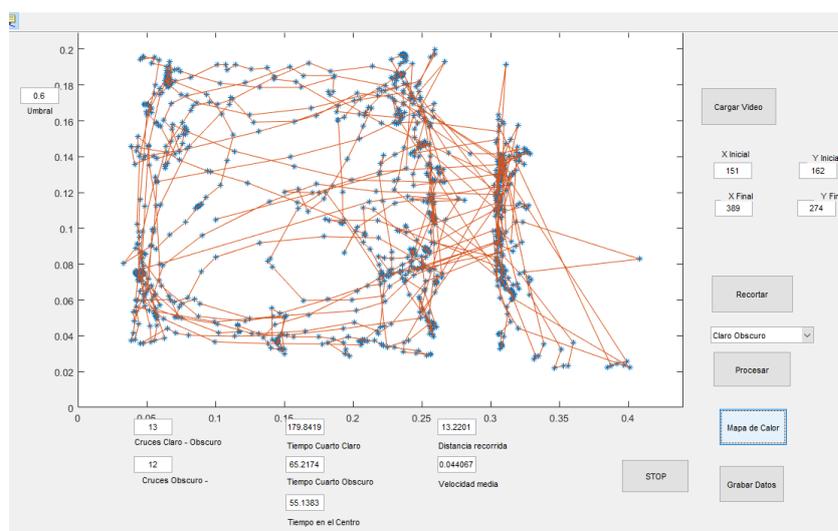


Gráfico 1-2: Aplicación ITOPI
Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

Parámetros a medir:

Tiempo de permanencia en el cuarto claro: El roedor se encuentra relajado y explora ambientes luminosos.

Tiempo de permanencia en el cuarto oscuro: El roedor ansioso tiende a quedarse en espacios oscuros y evitan exponerse.

Tiempo de permanencia en la zona cruce: El roedor trata de salir a explorar ambientes nuevos.

Número de entradas al cuarto claro: Mayor número de entradas mejor locomoción

Número de entradas al cuarto oscuro: Mayor número de entradas mejor locomoción

Distancia recorrida: Mayor distancia recorrida mejor locomoción.

Velocidad media: Mayor desplazamiento aumenta la locomoción.

2.5.8.2. *Equipo electrónico de medición “laberinto elevado en cruz”.*

Este equipo está formado por un laberinto en Cruz Elevado hecho en acrílico con 4 brazos perpendiculares con dimensiones de 30 x 10 cm y 2 de los brazos con paredes laterales de 20 cm de altura, además están elevados por un soporte de 38 cm en cada brazo. Cuenta también con un

soporte metálico rodeado de una cortina que impide el paso de la luz y dentro de este una cámara de video (Moreno *et al.*, 2018, p. 5). El equipo se muestra en la fotografía 2-2.

Además, este equipo también cuenta aplicación (ITOPi). Gráfico 2-2.



Fotografía 2-2: Equipo electrónico de medición “laberinto cruz elevado”

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

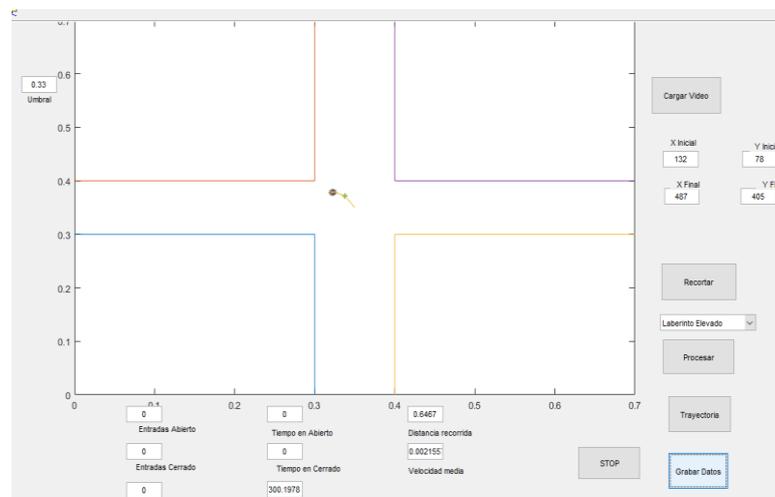


Gráfico 2-2: Aplicación ITOPI

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

Parámetros a medir:

Tiempo de permanencia en los brazos abiertos: Una mayor permanencia indica que el roedor no se encuentra ansioso.

Tiempo de permanencia en los brazos cerrados: El roedor está ansioso y se queda en su zona de confort.

Tiempo de permanencia en el centro: el roedor intenta salir a explorar nuevos ambientes.

Número de entradas a los brazos abiertos: Mayor número de entradas mejor locomoción del roedor

Número de entradas a los brazos cerrados: Mayor número de entradas mejor locomoción del roedor.

Número de entradas al centro: Mayor número de entradas mejor locomoción del roedor.

Distancia recorrida: el roedor tiende a recorrer más cuando esta relajado.

Velocidad media: Mayor desplazamiento mejor locomoción.

2.5.8.3. *Equipo electrónico de medición "Campo Abierto".*

Este equipo consta de una caja de polipropileno de dimensiones 68 x 68 cm y paredes de 45 cm de altura. Adicionalmente tiene una estructura metálica rodeada de una cortina y dentro de esta una cámara de video. Fotografía 3-2.

Este equipo cuenta con una aplicación de procesamiento de imagen denominada Emis. Gráfico 3-2.



Fotografía 3-2: Equipo electrónico de medición “Campo Abierto”
Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

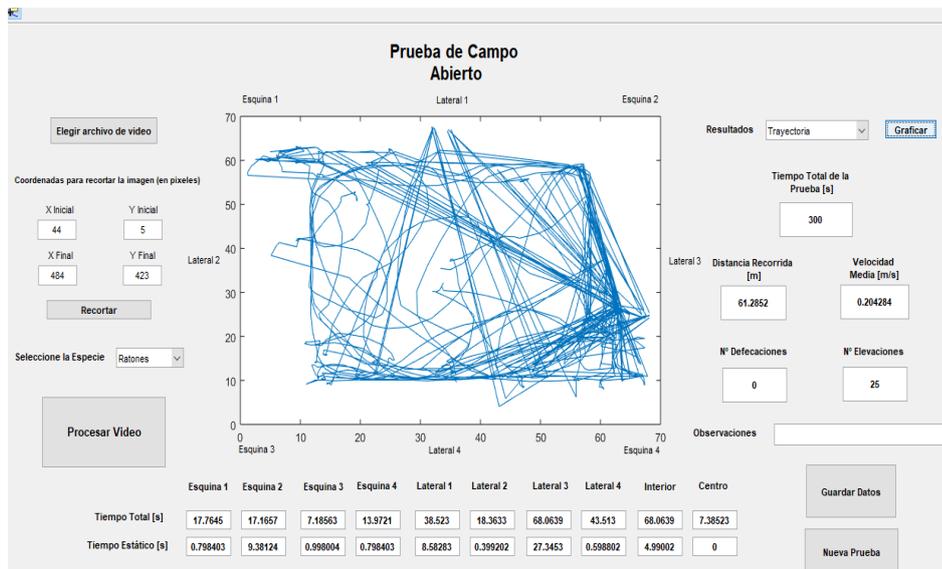


Gráfico 3-2: Aplicación EMIS
Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

Parámetros a medir:

Tiempo en el centro: Roedor se encuentra relajado y explora ambientes nuevos.

Tiempo en el intermedio: Roedor relajado explora ambientes luminosos cercanos al centro

Tiempo en los laterales: Roedor se encuentra ansioso y tiende a permanecer en lugares donde no se expone.

Tiempo en las esquinas: Roedor ansioso permanece en zonas de confort.

Defecaciones: Mientras más defecaciones el roedor se encuentra más ansioso, presenta emociones exageradas.

Elevaciones: El roedor tiende a elevarse más veces cuando está ansioso, presenta emociones exageradas.

Distancia recorrida: Mayor distancia recorrida por el roedor indica que la locomoción no ha sido afectada.

Velocidad media: Mayor desplazamiento realizado por el roedor tiende a tener buena locomoción

2.5.8.4. *Procedimiento de utilización de equipos:*

De acuerdo a las especificaciones de los POES que se encuentran en el área de ensayos del bioterio primeramente se armó el equipo y se desinfectó con etanol al 10%, este proceso se realizaba antes de cada prueba. Luego se procedió a encender la cámara y se conectó mediante red wifi al computador donde estaban previamente instaladas las aplicaciones. Una vez que todo estaba listo, se procedió a colocar cada uno de los ratones con tratamiento previo, los cuales están especificados en la tabla 2-2. Cada prueba se evaluó durante 5 minutos. Concluido los ensayos del día se desconectó la cámara y se guardó el equipo. Posteriormente se procedió a obtener los videos de cada día y se subió cada uno en las aplicaciones antes mencionadas. Los datos arrojados por el software fueron extraídos a un archivo de Excel para posteriores análisis.

La figura 6-2 detalla los ensayos realizados.



Figura 6-2: Flujograma para evaluar la actividad ansiolítica
Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

2.5.9. *Análisis estadístico*

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente en el programa estadístico SPSS 24, inicialmente, se verificó que los datos obtenidos en los distintos parámetros cumplan con los dos requisitos fundamentales para la estadística paramétrica, que son: distribución normal y homogeneidad de varianzas.

Para verificar, si los datos siguen una distribución normal, se realizó la prueba estadística de Kolmogorow -Smirnov, mientras que, para la igualdad de varianzas se utilizó el estadístico de Levene.

Para el análisis de las distintas dosis se utilizó la prueba de hipótesis (ANOVA) estableciendo que:

Hipótesis nula (H_0): Las medias de los (parámetros) en los diferentes tratamientos son iguales.

Hipótesis de investigación (H_a): Existe al menos una pareja de medias de (parámetros) que son diferentes.

El resultado del test ANOVA obtenido en los distintos parámetros, en los 7 tratamientos, en la mayoría de los casos son menores que el nivel de significancia, lo que indica que, existe al menos una pareja de medias que son diferentes. Para determinar cuáles son las parejas de medias diferentes, se realizó el test post hoc Tukey.

En test post hoc Tukey, se observó la formación sub grupos homogéneos. En la mayoría de parámetros, se tomó en cuenta las probabilidades de los sub grupos, y se estableció que, el sub grupo que presentó una probabilidad mayor, es el que permitió concluir que, estadísticamente los datos obtenidos en estos sub grupos son más significativos o más confiables para tomar una decisión.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Ensayos de Control de calidad de la Droga Cruda

Se obtuvieron los siguientes resultados del control de calidad de la droga cruda. Los ensayos se efectuaron por triplicado.

Tabla 1-3: Resultados obtenidos del Control de Calidad de droga cruda de *Peperomia peltigera*

PARÁMETRO	Hojas de <i>Peperomia peltigera</i> C.DC.	Límites de referencia	Normativa
Humedad (%)	7,50±0.048	Hasta 14%	USP# 35
Cenizas totales (%)	10,51±0.023	Hasta 12%	USP# 35
Cenizas solubles en agua (%)	6,03±0.008	Hasta 7%	USP# 35
Cenizas insolubles en HCl (%)	1,47±0.028	Hasta 5%	USP# 35

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En la Tabla 1-3, se observa que, el contenido de humedad de la droga cruda es 7,50%, encontrándose dentro los parámetros establecidos por la USP 35, la realización de este ensayo es importante para garantizar la calidad de la droga cruda. El exceso de agua en las drogas vegetales compromete la conservación, estabilidad y promueve el crecimiento microbiano, además incrementa la presencia de hongos y la hidrólisis.

La determinación de cenizas totales permite conocer el contenido de materia extraña adherida al material vegetal y las sales minerales que presenta. El valor en la droga vegetal fue de 10,51%, hallándose dentro los límites que establece la USP # 35.

Mientras que la determinación de cenizas solubles en agua permite establecer la cantidad de sales solubles en agua, en tanto que el contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico permite conocer la cantidad de sílice o arena en el material vegetal. Las hojas de *Peperomia peltigera* presentaron 6,03% y 1,47% en cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico respectivamente, ambos parámetros se encuentran dentro de los límites establecidos en la USP 35, garantizándose así, la calidad de la droga vegetal para ensayos posteriores.

3.2. Tamizaje Fitoquímico

Tabla 2-3: Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hexánico, alcohólico y acuoso.

TIPO DE ENSAYO	COMPUESTO IDENTIFICADO	EXTRACTO HEXÁNICO	EXTRACTO ALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
SUDÁN	Grasas	+	N/A	N/A
BALJET	Lactonas y cumarinas	-	-	N/A
DRAGENDORFF	Alcaloides	++	++	++
MAYER	Alcaloides	++	++	++
WAGNER	Alcaloides	++	++	++
LIBERMANN – BOUCHARD	Triterpenos y esteroides	+++	+++	N/A
CATEQUINAS	Catequinas	N/A	-	N/A
RESINAS	Resinas	N/A	-	N/A
FEHLING	Azúcares	N/A	+	+
CLORURO FÉRRICO	Compuestos fenólicos	N/A	+	+
ESPUMA	Saponinas	N/A	+++	+++
BORNTRAGER	Quinonas	N/A	-	N/A
SHINODA	Flavonoides	N/A	++	++
ANTOCIANIDINAS	Secuencias de grupos de flavonoides	N/A	+	N/A

MICÍLAGOS	Polisacáridos	N/A	N/A	-
PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES		N/A	N/A	+

+: presencia, -: ausencia.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En la Tabla 2-3 se observa los metabolitos secundarios identificados como: alcaloides, azúcares, triterpenos, esteroides, saponinas, secuencia de grupos de flavonoides, compuestos amargos, compuestos fenólicos y flavonoides. Dichos compuestos podrían ser los responsables de las actividades biológicas señaladas en estudios anteriores.

Los alcaloides, se presentaron en los tres extractos, estos compuestos muestran actividad simpaticomimética y alucinógena, además intervienen en las reacciones principales del metabolismo celular y generalmente actúan en el sistema nervioso central (Benítez, 2012, pp. 2–3).

Se encontraron en el extracto alcohólico y acuoso la presencia de flavonoides y fenoles, se ha demostrado que los flavonoides tienen una amplia gama de actividades biológicas como: efecto diurético, cardioprotector, antimicrobiano, antiviral, tratamiento en enfermedades neurodegenerativas, anticancerosos, ansiolíticos y otros. Lo que hace que sean compuestos de interés para otro tipo de investigaciones (Balasundram, 2006, p. 195).

Hubo presencia considerable de triterpenos y esteroides, en los extractos alcohólico y hexánico. Las triterpenos poseen propiedades antioxidantes y hormonales, mientras que, los esteroides presentan actividades analgésicas y antiinflamatorias. También se encontró saponinas en el extracto alcohólico y acuoso, estos compuestos por lo general son precursores de detergentes al presentar espuma.

Los metabolitos reportados en la tabla 2-3 coinciden con los reportados en el artículo titulado “Preliminary Phytochemical Screening of Some Andean Plants”. Específicamente, en cuanto a los alcaloides se presentó diferencias menores al comparar las dos investigaciones, esto puede deberse al tipo de suelo, las condiciones geográficas, época de año, lugar de recolección de la droga vegetal, entre otras (Castillo Marco et al., 2014, pp. 36–37).

Es importante considerar que esta planta es endémica del Ecuador, con una gran variedad de usos ancestrales no probados científicamente, lo que le hace un blanco de gran interés por presentar diversidad de metabolitos secundarios.

3.3. Control de calidad de extracto hidroalcohólico de hojas de *Peperomia peltigera*

Tabla 3-2: Resultados obtenidos del Control de Calidad de extracto hidroalcohólico de hojas de *Peperomia peltigera* C.DC.

Parámetro	Extracto alcohólico de las hojas de <i>Peperomia peltigera</i> C. DC.
CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	
Olor	Alcohólico aromático
Color	Verde intenso
Aspecto	Turbio
Sabor	Amargo ligeramente astringente
CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICO	
Índice de refracción	1.368
pH	5.86
Densidad relativa	1.1143 g/mL
Sólidos totales (%)	2.683

Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

Las características organolépticas presentadas en extracto hidroalcohólico de *Peperomia peltigera* (Tabla 3-2), son propias del material vegetal empleado y del tipo de solvente.

En la determinación del índice de refracción, se obtuvo un resultado de 1.368, el cual es mayor respecto al agua, esto es un indicador de la presencia de sustancia disueltas en el extracto analizado.

En cuanto al pH del extracto de 5.86 se observa que es ligeramente ácido, debiéndose posiblemente a la presencia de taninos, flavonoides, quinolonas, saponinas y otras. (Pacheco et al., 2006).

La densidad relativa del extracto fue de 1.1143 g/mL, la cual es, mayor que la densidad del etanol (0.789 g/mL) y el agua (1 g/mL) los que fueron empleados como solventes, indicando de igual forma la presencia de sustancias disueltas en el extracto.

En el porcentaje de sólidos totales del extracto, se obtuvo un resultado de 2.68 %, la farmacopea francesa establece que el porcentaje no debe ser menor a 1.20, el valor superior al referente asegura que el extracto contenga una importante cantidad de metabolitos y buena solubilidad.

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

La cuantificación de fenoles totales se realizó mediante el método Folin-Ciocalteu, en el cual, se usó como estándar al ácido gálico, que fue utilizado para obtener la siguiente curva de calibración:

$$Y = 0.0014x + 0,0144 \text{ con un } R^2 \text{ de } 0.999$$

Tabla 4-3: Resultados de la cuantificación de Fenoles Totales

SUSTANCIA ANSIOLÍTICA	FENOLES TOTALES	
	mg Equivalentes de Ácido Gálico/g de extracto seco	G Equivalentes de Ácido Gálico/100g de extracto seco (%EQFT)
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>Peperomia peltigera</i>	14,53 ± 0.01	1,453 ± 0.001

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

Luego de realizar los cálculos respectivos, se obtuvo la tabla 4-3, en donde se observa que, el contenido de fenoles totales presentes en el extracto de *Peperomia peltigera* fue de 14,53 mg Equivalentes de Ácido Gálico/g de extracto seco, es decir 1,453 g Equivalentes de Ácido Gálico/100g de extracto seco (%EQFT). La obtención de este resultado es importante para considerar el estudio a futuro de más actividades farmacológicas. Es necesario tener en cuenta que, los polifenoles son conocidos por su actividad antioxidante. Previenen enfermedades

inflamatorias y cardiovasculares, además, son agentes quimioprotectores contra el cáncer (Espinoza et al., 2015, p. 3).

3.5. Cuantificación de Flavonoides Totales

La determinación de flavonoides se realizó mediante el método colorimétrico de tricloruro férrico, para este ensayo se tomó como patrón de referencia a la quercetina, con la cual se elaboró la siguiente curva de calibración:

$$Y = 0.0014x + 0,0144 \text{ con un } R^2 \text{ de } 0.999$$

Tabla 5-3: Resultados de la Cuantificación de Flavonoides

SUSTANCIA ANSIOLÍTICA	FLAVONOIDES TOTALES	
	mg Equivalentes de Quercetina/g de extracto seco	G Equivalentes de Quercetina/100g de extracto seco (%EQFT)
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>Peperomia peltigera</i>	16,33 ± 0,48	1,63 ± 0,048

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En la tabla 5-3, se observa que, el contenido de flavonoides totales presentes en el extracto de *Peperomia peltigera* fue de 16,33 mg Equivalentes de Quercetina/g de extracto seco, es decir 1,453 g Equivalentes de Quercetina/100g de extracto seco (%EQFT). Este resultado es importante ya que, posiblemente los flavonoides sean los responsables de la actividad ansiolítica, además hay tener en cuenta que, este valor puede crecer dependiendo del sitio de recolección, las condiciones climáticas, etc. Además, se observa la que, el resultado obtenido de flavonoides el mayor que el obtenido de fenoles, esto posiblemente se deba a errores en el método.

3.6. Actividad ansiolítica *in vivo*

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

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

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

Grupos	Tiempo en Cuarto Claro (min)	Tiempo en el Cuarto Oscuro (min)
Blanco	0,69	3,30
Control	3,16	0,79
D1-PP	2,42	1,59
D2-PP	2,32	1,67
D3-PP	1,94	1,77
D4-PP	2,02	1,61
D5-PP	1,66	1,67

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

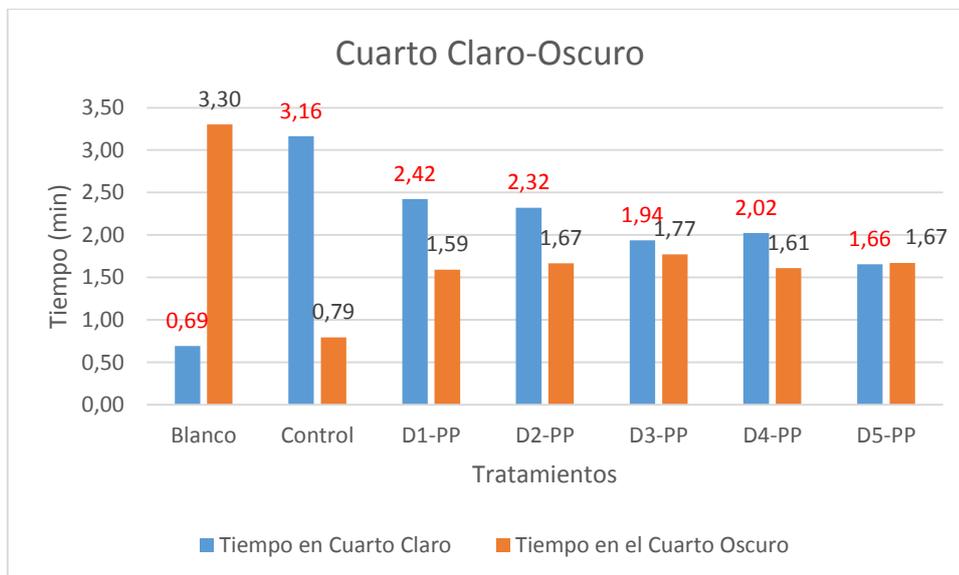


Gráfico 1-3: Tiempos de permanencia en Cuarto Claro y Oscuro obtenidos por efecto de las diferentes dosis administradas.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En el gráfico 1-3, se observa que, el tiempo promedio de permanencia de los ratones en el cuarto claro creció de 0,69 minutos del blanco a 1,66 minutos con la dosis D5-PP, indicando que la administración de las distintas dosis reduce los niveles de ansiedad en los ratones e incrementan el tiempo de permanencia en el cuarto claro. Los incrementos más notorios se dan en el control, D1-PP y D2-PP. En el caso del tiempo promedio de permanencia en el cuarto oscuro descendió de 3,50 minutos del blanco a 1,67 minutos de D5-PP, lo que indica que, al administrar las distintas dosis, los ratones salían a explorar el otro compartimento (Cuarto claro). También se puede observar que la dosis D5-PP pasa aproximadamente el mismo tiempo en los dos compartimentos.

Tabla 7-3: Test ANOVA para tiempos en cuarto claro y oscuro.

ANOVA					
TIEMPO EN EL CUARTO CLARO					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	20,797	6	3,466	3,412	0,009
Dentro de grupos	35,551	35	1,016		
Total	56,348	41			
TIEMPO EN EL CUARTO OSCURO					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	20,288	6	3,381	4,392	0,002
Dentro de grupos	26,944	35	0,770		
Total	47,232	41			

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En la tabla 7-3 se observa que, los p-valores del test ANOVA obtenidos tanto para las medias de los tiempos de permanencia en el cuarto claro como en el oscuro son menores que el nivel de significancia, es decir existen diferencias significativas en los tiempos de permanencia de cada compartimento.

En el test post hoc Tukey (tabla 8-3), en relación al tiempo en el cuarto claro, se observa la formación de dos sub grupos homogéneos. El control y el blanco encabezan cada sub grupo formado junto con las dosis. El que presenta mayor probabilidad de los dos subgrupos, es el formado por el control junto con todas las dosis, indicando así que, todas las dosis poseen actividad ansiolítica al permanecer mayor tiempo en el compartimento claro.

Lo que sucede con el tiempo de permanencia en el cuarto oscuro es similar (Tabla 8-3), ya que también se observa la formación de dos sub grupos homogéneos. El control y el blanco encabezan

cada sub grupo formado junto con todas las dosis. El sub grupo del control con todas las dosis es el que tiene una probabilidad mayor. Es decir, las dosis no presentan diferencias significativas respecto al control (Clonacepam), siendo este el que permanece menos tiempo en el cuarto oscuro.

Tabla 8-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en Cuarto Claro y Cuarto oscuro

TIEMPO EN EL CUARTO CLARO			
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Blanco	6	0,690264814	
D5-PP	6	1,65543725	1,65543725
D3-PP	6	1,93584291	1,93584291
D4-PP	6	2,024047005	2,024047005
D2-PP	6	2,3220667	2,3220667
D1-PP	6	2,421113776	2,421113776
Control	6		3,163030428
Sig.		0,071	0,160
TIEMPO EN EL CUARTO OSCURO			
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Control	6	0,791634677	
D1-PP	6	1,589845284	1,589845284
D4-PP	6	1,610391929	1,610391929
D2-PP	6	1,66644655	1,66644655
D5-PP	6	1,671507533	1,671507533
D3-PP	6	1,769541411	1,769541411
Blanco	6		3,30162274
Sig.		0,475	0,027

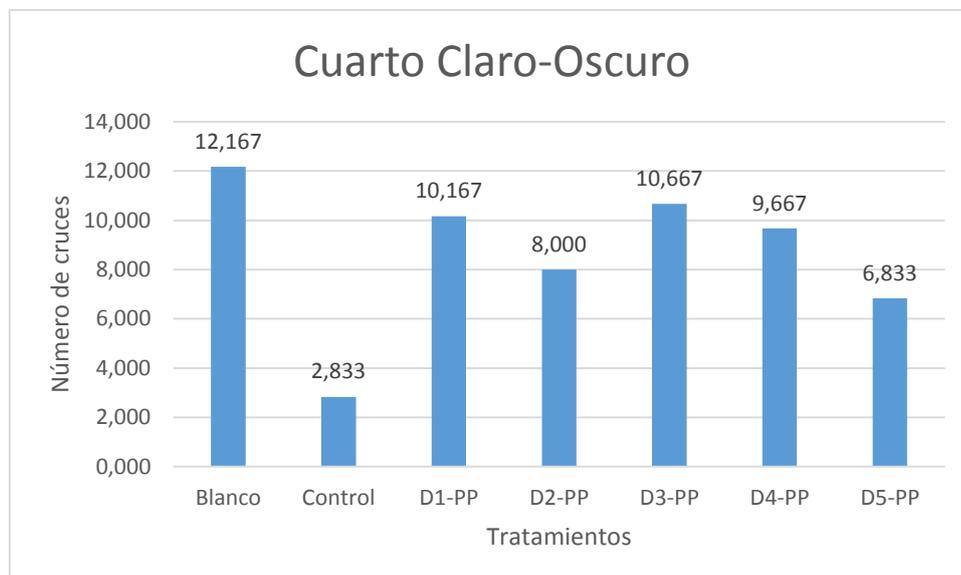
Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

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

Tabla 9-3: Resultados obtenidos del Número de cruces cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y Velocidad media

Grupos	Número de cruces Claro-Oscuro	Distancia recorrida	Velocidad media
Blanco	12,167	10,634	0,035
Control	2,833	1,413	0,007
D1-PP	10,167	10,056	0,034
D2-PP	8,000	7,656	0,026
D3-PP	10,667	10,018	0,033
D4-PP	9,667	8,789	0,029
D5-PP	6,833	7,403	0,025

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018



Gráfica 2-3: Número de cruces claro-oscuro obtenidos por efecto de los diferentes tratamientos.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

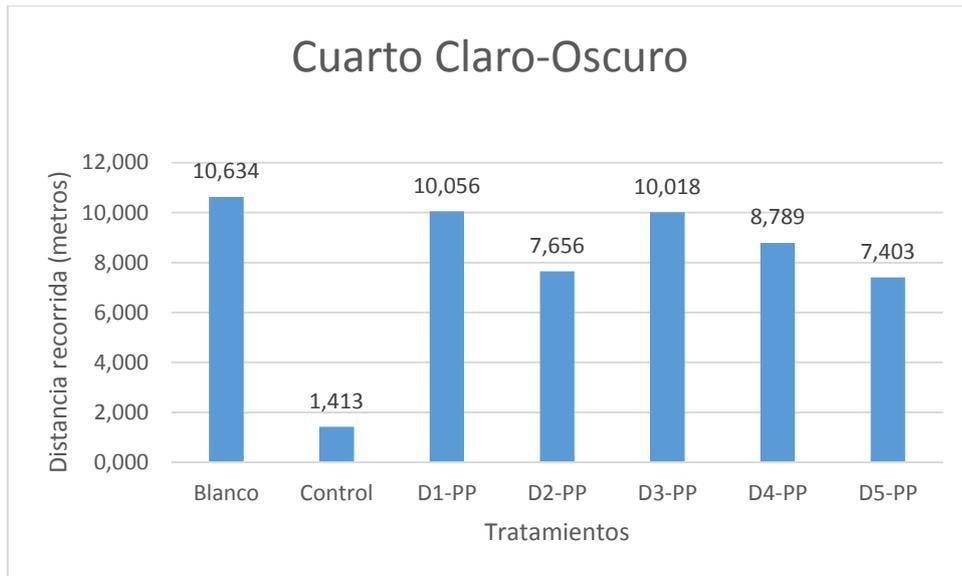


Gráfico 3-3: Distancia recorrida obtenida por efecto de los diferentes tratamientos

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

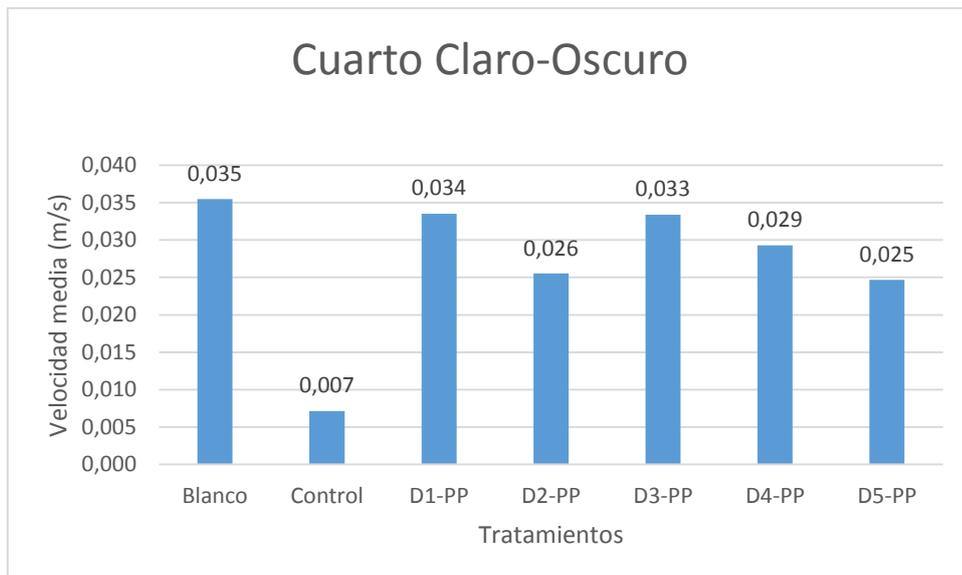


Gráfico 4-3: Velocidad media obtenida por efecto de los diferentes tratamientos

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En los gráficos 2-3, 3-4 y 4-3 se puede apreciar que, el número de cruces, la distancia recorrida y velocidad media decrecieron de 10,634, 12,167 m y 0,035 m/s del blanco respectivamente a 6,833, 7,403 m y 0,025 m/s de D5-PP respectivamente, lo cual indica que al administrar las distintas dosis existe disminución de la locomoción. Es importante señalar que, en las tres variables medidas el descenso más notorio se da en el control que ha sido el más afectado en la locomoción,

siendo uno de los problemas más importantes al administrar este grupo de fármacos, mientras que los aumentos más importantes suceden en D1-PP y D3-PP en los cuales presentan valores cercanos al blanco (Propilenglicol) y lejanos al control (Clonacepam).

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

ANOVA					
CRUCES CUARTO CLARO OSCURO					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	343,905	6	57,317	6,079	0,000
Dentro de grupos	330,000	35	9,429		
Total	673,905	41			
DISTANCIA RECORRIDA continuará					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	361,550	6	60,258	6,662	0,000
Dentro de grupos	316,597	35	9,046		
Total	678,147	41			
VELOCIDAD MEDIA					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,003	6	0,001	5,214	0,001
Dentro de grupos	0,004	35	0,000		
Total	0,007	41			

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En la tabla 10-3 se observa que, los p-valores del test ANOVA obtenidos tanto para las medias del número de cruces, distancia recorrida y velocidad media son menores que el nivel de significancia, es decir que existen diferencias significativas.

En relación con el número de cruces y distancia recorrida (tabla 11-3), se observa en ambos casos la formación de dos sub grupos homogéneos. Un sub grupo está formado por el blanco con todos los tratamientos y el otro lo conforman el control con los tratamientos D5-PP y D2-PP. Los sub grupos que presentan mayor probabilidad, son los encabezados por el control y los dos

tratamientos, indicando que, a esas dosis existe mayor depresión en la actividad locomotora por encontrarse en el mismo grupo que el control.

El test post-hoc para velocidad media (Tabla 11-3), arroja resultados muy similares a las dos variables anteriores, presentando mayor depresión locomotora en los tratamientos D5-PP, D2-PP y además D4-PP.

Tabla 11-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de cruces cuarto claro-oscuro, distancia recorrida y velocidad media.

CRUCES CUARTO CLARO OSCURO			
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Control	6	2,83	
D5-PP	6	6,83	6,83
D2-PP	6	8,00	8,00
D4-PP	6		9,67
D1-PP	6		10,17
D3-PP	6		10,67
Blanco	6		12,17
Sig.		0,081	0,066
DISTANCIA RECORRIDA			
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
Control	6	1,41	
D5-PP	6	7,25	7,25
D2-PP	6	7,66	7,66
D4-PP	6		8,98
D3-PP	6		10,02
D1-PP	6		10,06
Blanco	6		10,63
Sig.		0,465	0,016
VELOCIDAD MEDIA			
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	

		1	2
Control	6	0,01	
D5-PP	6	0,02	0,02
D2-PP	6	0,03	0,03
D4-PP	6	0,03	0,03
D3PP	6		0,03
D1-PP	6	-	0,03
Blanco	6		0,04
Sig.		0,558	0,012

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

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

3.6.2.1. *Tiempo en brazos abiertos y cerrados*

Tabla 12-3: Resultados obtenidos del tiempo en brazos abiertos y cerrados

Grupos	Tiempo en Brazos Abierto (min)	Tiempo en Brazos Cerrados (min)
Blanco	0,20	3,85
Control	2,13	1,42
D1-PP	2,26	0,51
D2-PP	2,44	1,44
D3-PP	2,13	1,28
D4-PP	2,10	1,82
D5-PP	0,86	3,20

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

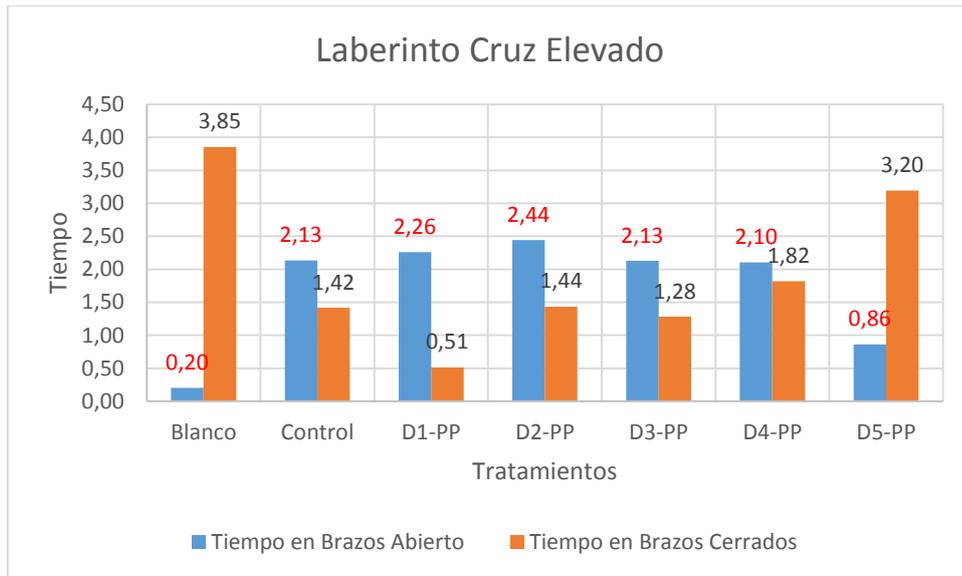


Gráfico 5-3: Tiempos de permanencia en brazos abiertos y cerrados obtenidos por efecto de los diferentes tratamientos.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En el gráfico 5-3, se observa que, el tiempo promedio de permanencia de los ratones en los brazos abiertos creció de 0,20 minutos del blanco a 0,86 minutos con D5-PP, indicando que, al administrar las distintas dosis, los ratones incrementaron el tiempo de permanencia en los brazos abiertos. Los aumentos más notorios se dan en el control, y en los tratamientos de D2-PP y D1-PP. En tanto que el tiempo promedio de permanencia en los brazos cerrados descendió de 3.85 minutos del blanco a 3,20 minutos con D5-PP, lo que indica que, la administración de las distintas dosis del extracto, influyó en la salida exploratoria a los Brazos abiertos. Las disminuciones más notorias se observan en el tratamiento con D1-PP y con el control positivo, interpretando que ambos presentan mayor actividad ansiolítica.

Tabla 13-3: Tiempo en brazos abiertos, medio y brazos cerrados

ANOVA					
TIEMPO EN BRAZOS ABIERTOS					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	25,095	6	4,182	5,354	0,001
Dentro de grupos	27,339	35	0,781		
Total	52,434	41			
TIEMPO EN BRAZOS CERRADOS					

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	49,421	6	8,237	6,545	0,000
Dentro de grupos	44,045	35	1,258		
Total	93,466	41			

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En la tabla 13-3 observamos que, los p-valores del test ANOVA obtenidos tanto para las medias de los tiempos de permanencia en brazos cerrados y abiertos son menores que el nivel de significancia, es decir existen diferencias significativas en los tiempos de permanencia en cada compartimento.

En relación al tiempo de permanencia en brazos abiertos, en la tabla 14-3, se observa la formación de dos sub grupos homogéneos. Un sub grupo está formado por el blanco con la dosis D5-PP y el otro por el control con todas las dosis. El sub grupo con la probabilidad mayor, es el formado por el blanco con la dosis D5-PP. Considerando que, el blanco es el que, permanece menor tiempo en compartimento claro, se puede decir que la dosis D5-PP en el laberinto en cruz elevado no presenta actividad ansiolítica considerable por encontrarse formando parte del mismo grupo con el blanco.

Para el caso del tiempo de permanencia en brazos cerrados (Tabla 14-3), se muestra la formación de tres sub grupos homogéneos. El sub grupo con mayor probabilidad, es el compuesto por el control junto con las dosis D1-PP, D3-PP, D2-PP Y D4-PP, tomando en cuenta que, el control es el que, permanece menor tiempo en el compartimento oscuro, las dosis D1-PP, D3-PP, D2-PP y D4-PP en este equipo presentan un comportamiento ansiolítico estadísticamente similar que el control.

Tabla 14-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en brazos abiertos, medio y brazos cerrados

ANOVA					
TIEMPO EN BRAZOS ABIERTOS					
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01			
		1	2		

BLANCO	6	0,202224704		
DOSIS 5	6	0,861026637	0,861026637	
DOSIS 4	6		2,104837028	
DOSIS 3	6		2,128201906	
CONTROL	6		2,132534318	
DOSIS 1	6		2,260091843	
DOSIS 2	6		2,443172381	
Sig.		0,844	0,048	
TIEMPO EN BRAZOS CERRADOS				
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01		
		1	2	3
DOSIS 1	6	0,514182382		
DOSIS 3	6	1,280926349	1,280926349	
CONTROL	6	1,416330481	1,416330481	1,416330481
DOSIS 2	6	1,435127803	1,435127803	1,435127803
DOSIS 4	6	1,821378715	1,821378715	1,821378715
DOSIS 5	6		3,195082344	3,195082344
BLANCO	6			3,850946875
Sig.		0,422	0,074	0,01

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

3.6.2.2. Entradas en brazos abiertos y cerrados

Tabla 15-3: Resultados obtenidos de entradas en brazos abiertos y cerrados

Grupos	Entradas en Brazos Abiertos	Entradas en Brazos Cerrados
blanco	10,67	19,33
control	3,50	0,67
D1-PP	11,17	13,00
D2-PP	10,67	8,83
D3-PP	1,17	8,67
D4-PP	6,83	7,83

D5-PP	4,50	6,17
--------------	------	------

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

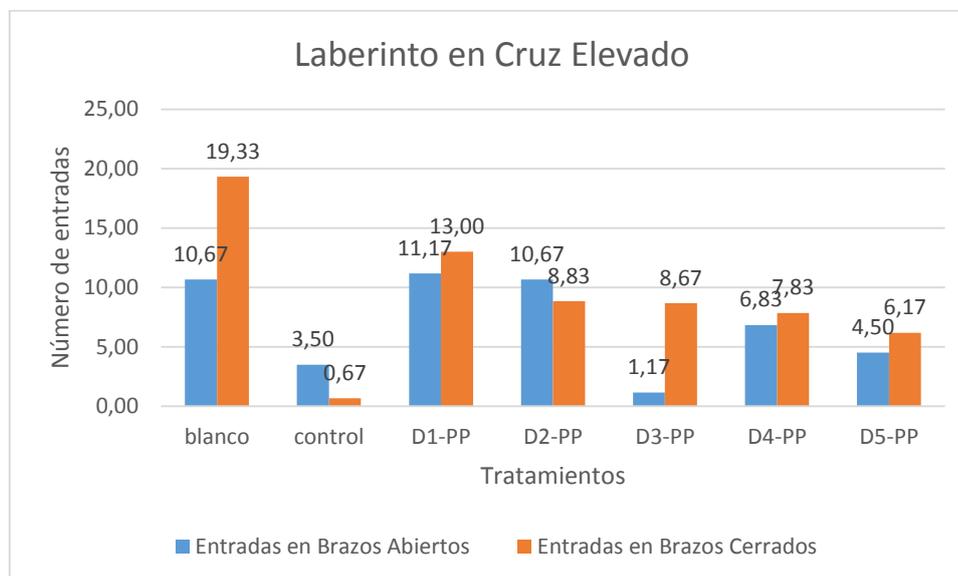


Gráfico 6-3: Número de entradas en brazos abiertos y cerrados obtenidas por efecto de los diferentes tratamientos.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En el gráfico 6-3, se observa que, en el número de entradas a brazos abiertos decreció de 10,67 del blanco a 4,50 con D5-PP, indicando que la administración de las distintas dosis a los ratones presentó depresión de la actividad locomotora. Los descensos más notorios se dan en control y D3-PP, mientras que los aumentos más considerables se observan en D1-PP y D2-PP siendo cercanos al valor más alto que expresa el blanco. Para el caso del número de entradas en brazos cerrados descendió de 19,33 del blanco a 6,17 de D5-PP, lo que indica que, al administrar las distintas dosis, los ratones redujeron el número las entradas a este compartimiento, por tanto, la locomoción disminuyó. La disminución más notoria se observa en el control, mientras que el aumento más relevante se dio en la D1-PP. En los dos casos ahí disminución de la locomoción en comparación al blanco, pero hay que considerar que respecto al control también existe aumento considerable en ciertas dosis.

Tabla 16-3: Test ANOVA para brazos abiertos y brazos cerrados

ANOVA					
ENTRADAS EN BRAZOS ABIERTOS					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	580,619	6	96,770	8,506	0,000
Dentro de grupos	398,167	35	11,376		
Total	978,786	41			
ENTRADAS EN BRAZOS CERRADOS					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1208,571	6	201,429	16,608	0,000
Dentro de grupos	424,500	35	12,129		
Total	1633,071	41			

Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

En la tabla 16-3 se observa que, los p-valores del test ANOVA obtenidos tanto para las medias del número de entradas en brazos abiertos y cerrados son menores que el nivel de significancia, es decir existen diferencias significativas en las entradas a cada compartimento.

En cuanto al número de entradas en los brazos abiertos (Tabla 17-3), se evidenció la formación de tres sub grupos homogéneos. El sub grupo que tiene una probabilidad mayor, es el sub grupo que está formado por el control junto con las dosis D3-PP, D5-PP y D4-PP, que indica que, estas dosis presentan depresión locomotora. Siendo justamente un aspecto desfavorable en cuanto al uso de benzodiazepinas.

La tabla 17-3, muestra que, en cuanto al número de entradas en brazos cerrados, se forman tres sub grupos homogéneos. Un sub grupo está formado por el control con las dosis D4-PP y D5-PP, lo que indica que en estas dosis hay depresión de la actividad locomotora. También se observa la formación de un sub grupo con todas las dosis, pero sin el blanco ni el control. Otro sub grupo está formado por el blanco con la dosis D1-PP, este último grupo nos permite concluir que la dosis D1-PP no deprime significativamente la locomoción por encontrarse en el mismo sub grupo con el blanco.

Tabla 17-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de brazos abiertos y brazos cerrados

ENTRADAS BRAZOS ABIERTOS				
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01		
		1	2	3
DOSIS 3	6	1,17		
CONTROL	6	3,50	3,50	
DOSIS 5	6	4,50	4,50	4,50
DOSIS 4	6	6,83	6,83	6,83
DOSIS 2	6		10,67	10,67
BLANCO	6		10,67	10,67
DOSIS 1	6			11,17
Sig.		0,082	0,012	0,024
ENTRADAS BRAZOS CERRADOS				
TRATAMIENTO PARA LA ANSIEDAD	N	Subconjunto para alfa = 0.01		
		1	2	3
CONTROL	6	0,67		
DOSIS 5	6	6,17	6,17	
DOSIS 4	6	7,83	7,83	
DOSIS 3	6		8,67	
DOSIS 2	6		8,83	
DOSIS 1	6		13,00	13,00
BLANCO	6			19,33
Sig.		0,017	0,026	0,047

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

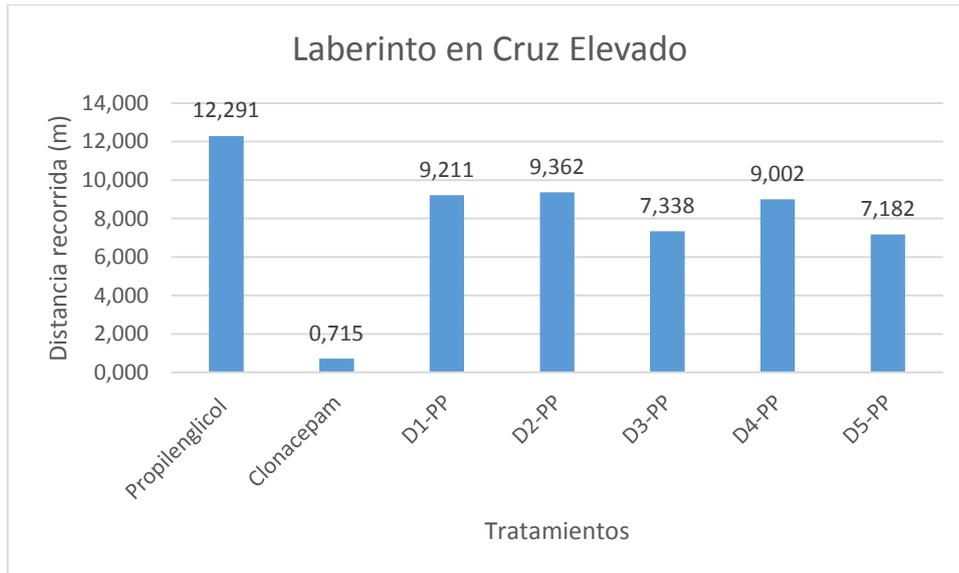
3.6.2.3. Distancia recorrida y velocidad media

Tabla 18-3: Resultados obtenidos de la distancia recorrida y velocidad media

Grupos	Distancia recorrida	Velocidad media
Propilenglicol	12,291	0,041
Clonacepam	0,715	0,005

D1-PP	9,211	0,035
D2-PP	9,362	0,031
D3-PP	7,338	0,022
D4-PP	9,002	0,030
D5-PP	7,182	0,012

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018



Gráfica 7-3: Distancia recorrida obtenida por efecto de los distintos tratamientos.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

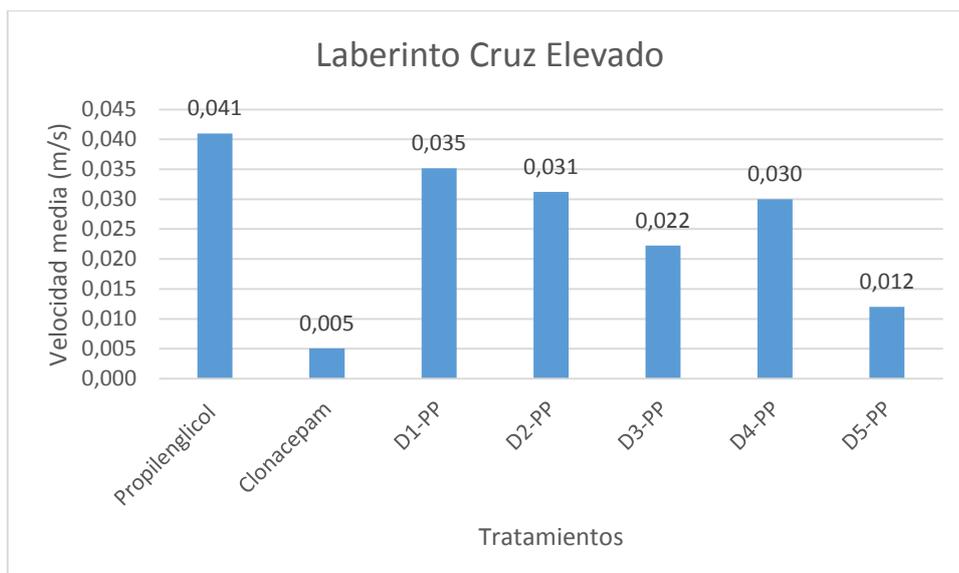


Gráfico 8-3: Velocidad media obtenida por efecto de los distintos tratamientos

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En los gráficos 7-3 y 8-3, se observa que, la distancia recorrida y la velocidad media del blanco decrecieron de 12,291 m y 0,041 m/s a 7,182 m y 0,012 m/s respectivamente con el tratamiento de la D5-PP, señalando que la administración de las distintas dosis a los ratones hizo que disminuyan su recorrido en el equipo, es decir, su locomoción se redujo. Los descensos más notorios se observan en el control, D5-PP y D3-PP, mientras que los aumentos considerables se observan con D1-PP y D2-PP siendo los valores cercanos que expresa el blanco.

Tabla 19-3: Test ANOVA para la distancia recorrida y velocidad media

ANOVA					
DISTANCIA RECORRIDA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	460,792	6	76,799	5,141	0,001
Dentro de grupos	522,883	35	14,940		
Total	983,675	41			
VELOCIDAD MEDIA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,006	6	0,001	4,241	0,003
Dentro de grupos	0,008	35	0,000		
Total	0,014	41			

Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

En la tabla 19-3 observamos que, los p-valores del test ANOVA obtenidos tanto para las medias de distancia recorrida y velocidad media son menores que el nivel de significancia, es decir existen diferencias significativas en el recorrido de los ratones.

En cuanto a la distancia recorrida (Tabla 20-3), se observa, la formación de dos sub grupos homogéneos. Un sub grupo está formado por el control y las dosis D5-PP, D3-PP Y D4-PP y el otro por el blanco con todas las dosis. El que presenta una probabilidad mayor es el sub grupo que se forma con el control junto a las tres dosis, indicando que, a esas dosis existe depresión en la actividad locomotora por encontrarse en el mismo grupo con el control.

Para la velocidad media (Tabla 11-3), se muestra la formación de dos sub-grupos homogéneos. Encabezados ya sea por el blanco o por el control, y cada uno forma un sub grupo con todas las

dosis. La mayor probabilidad presenta el sub grupo formado por el blanco y todas las dosis, por lo que, este parámetro expresa que ninguna dosis afecta la locomoción.

Tabla 20-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de distancia recorrida y velocidad media

DISTANCIA RECORRIDA			
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
CONTROL	6	0,7152035050	
DOSIS 5	6	7,1824971655	7,1824971655
DOSIS 3	6	7,3380458080	7,3380458080
DOSIS 4	6	9,0021540923	9,0021540923
DOSIS 1	6		9,2113588525
DOSIS 2	6		9,3618578492
BLANCO	6		12,2910041195
Sig.		0,278	0,011
VELOCIDAD MEDIA			
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
CONTROL	6	0,005052768	continuará
DOSIS 5	6	0,011995123	0,011995123
DOSIS 3	6	0,022237931	0,022237931
DOSIS 4	6	0,030007181	0,030007181
DOSIS 2	6	0,031206193	0,031206193
DOSIS 1	6	0,035148974	0,035148974
BLANCO	6		0,040970014
Sig.		0,026	0,035

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

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

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

Tabla 21-3: Resultados obtenidos del Tiempo en el centro, interior, laterales y esquinas

Grupos	Tiempo en Centro (min)	Tiempo en el Interior (min)	Tiempo en Laterales (min)	Tiempo en Esquinas (min)
Blanco	0,03	0,21	2,71	2,21
Control	0,15	0,82	1,03	0,47
D1-PP	0,16	1,05	1,25	1,38
D2-PP	0,18	0,98	1,45	1,72
D3-PP	0,10	0,80	2,28	1,30
D4-PP	0,11	0,62	2,70	2,18
D5-PP	0,10	0,80	2,52	1,82

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

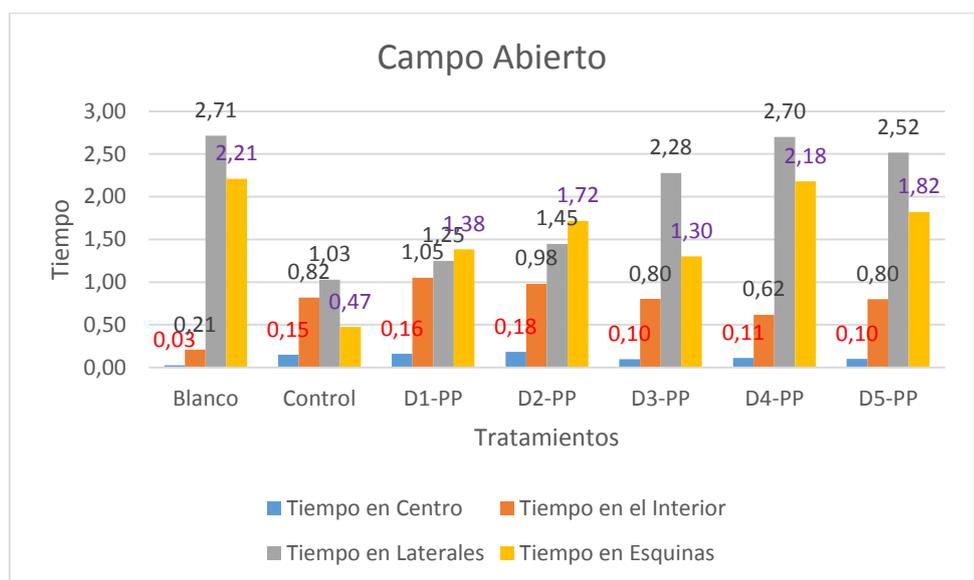


Gráfico 9-3: Tiempo de permanencia en el centro, interior, laterales, esquinas obtenidos por efecto de los distintos tratamientos.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En el gráfico 9-3, se observa que, el tiempo del blanco en el centro y en el interior crecieron de 0,03 y 0,21 minutos respectivamente a 0,10 y 0,80 minutos con D5-PP respectivamente, señalando que, la administración del extracto a distintas dosis reduce en los animales de experimentación los niveles de ansiedad y tienden a explorar la zona del interior y del centro del campo abierto. Los descensos más notorios se dan en: la D5-PP y D3-PP, mientras que los aumentos más considerables se observan en el control y D2-PP. Para el caso del tiempo del blanco en las zonas laterales y en las esquinas descendió de 2,71 y 2,21 minutos a 2,52 y 1,82 minutos

con D5-PP respectivamente, indicando que, la administración de las distintas dosis redujo en los ratones la permanecía en la periferia del campo abierto. La disminución más notoria se observa en el control y D1-PP, mientras que el aumento más relevante se dio en la D5-PP

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

ANOVA					
TIEMPO EN EL CENTRO					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	18,023	6	3,004	3,917	0,004
Dentro de grupos	26,837	35	0,767		
Total	44,860	41			
TIEMPO EN EL INTERIOR					
					continuará
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2,791	6	0,465	4,432	0,002
Dentro de grupos	3,674	35	0,105		
Total	6,466	41			
TIEMPO EN LOS LATERALES					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	18,916	6	3,153	9,841	0,000
Dentro de grupos	11,213	35	0,320		
Total	30,129	41			
TIEMPO EN LAS ESQUINAS					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7,230	6	1,205	3,410	0,000
Dentro de grupos	12,368	35	0,353		
Total	19,597	41			

Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

En la tabla 22-3 se observa que, los p-valores del test ANOVA obtenidos como medias de los tiempos en el centro, interior, laterales y esquinas son menores que el nivel de significancia, es decir existen diferencias significativas en la permanencia de compartimentos.

En relación con el tiempo de permanencia en el centro e interior (Tabla 23-3), se observa la formación de dos sub grupos homogéneos. El sub grupo que tiene una probabilidad mayor es el

formado por el control con todos los tratamientos, indicando que, todas las dosis muestran una actividad sedante por encontrarse en el mismo grupo con el control.

Para el tiempo de permanencia en los laterales (Tabla 23-3), se observa la formación de cuatro sub grupos homogéneos, un sub grupo lo conforma el control y las dosis D1-PP y D2-PP, posiblemente afirmando que presentan mayor actividad sedante por encontrarse en el mismo sub grupo con el control, mientras que el otro grupo se asemeja a los datos obtenidos con el blanco y son las dosis D4-PP, D5-PP y D3-PP siendo los que menor actividad sedante muestran al estar en el mismo grupo con el blanco.

En cuanto al tiempo de permanencia en las esquinas (Tabla 23-3), se observa la formación de dos sub grupos homogéneos ambos con la misma probabilidad, se tomó al grupo formado por el control, y los tratamientos D1-PP y D3-PP, para indicar que, estas dosis tienen menor tiempo de permanencia en las esquinas por encontrarse en el mismo sub grupo con el control.

Tabla 23-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de tiempo en el centro, interior, laterales y esquinas

TIEMPO EN EL CENTRO					
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01			
		1	2		
BLANCO	6	-3,9384			
CONTROL	6	-2,8739	-2,8739		
DOSIS 4	6	-2,5128	-2,5128		
DOSIS 3	6	-2,4013	-2,4013		
DOSIS 5	6	-2,3770	-2,3770		
DOSIS 1	6	-2,0765	-2,0765		
DOSIS 2	6		-1,7170		
Sig.		0,012	0,278		
TIEMPO EN EL INTERIOR					
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01			
		1	2		
BLANCO	6	0,207455949			
DOSIS 4	6	0,617570312	0,61757031		
DOSIS 5	6	0,801472102	0,8014721		
DOSIS 3	6	0,802063303	0,8020633		

CONTROL	6	0,818655971	0,81865597		
DOSIS 2	6		0,97998069		
DOSIS 1	6		1,05082163		
Sig.		0,03562898	0,26514441		
TIEMPO EN LOS LATERALES					
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01			
		1	2	3	4
CONTROL	6	1,029751257			
DOSIS 1	6	1,250503297	1,2505033		
DOSIS 2	6	1,448496996	1,448497	1,448497	
DOSIS 3	6		2,27893701	2,27893701	2,27893701
DOSIS 5	6			2,51675833	2,51675833
DOSIS 4	6				2,70092094
BLANCO	6				2,71401657
Sig.		0,856	0,048	0,035	0,833
TIEMPO EN LAS ESQUINAS					
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01			
		1	2		
CONTROL	6	0,473783618			
DOSIS 3	6	1,301493373	1,30149337		
DOSIS 1	6	1,381812929	1,38181293		
DOSIS 2	6		1,71726065		
DOSIS 5	6		1,82080183		
DOSIS 4	6		2,17951891		
BLANCO	6		2,20982194		
Sig.		0,097	0,097		

Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

3.6.3.2. *Número de defecaciones y elevaciones*

Tabla 24-3: Resultados obtenidos de número de elevaciones y defecaciones

Grupos	Número de Elevaciones	Número de defecaciones
Blanco	47,00	2,33
Control	2,67	0,33
D1-PP	5,67	0,83
D2-PP	7,17	1,17
D3-PP	13,17	1,67

D4-PP	12,50	1,83
D5-PP	16,17	1,33

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

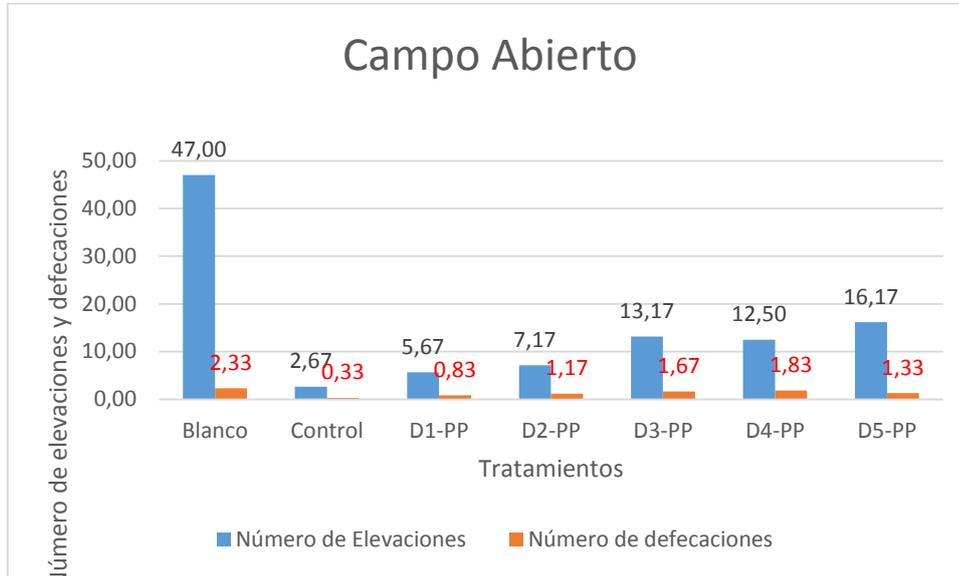


Gráfico 10-3: Número de elevaciones y defecaciones obtenidos por efecto de los distintos tratamientos.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En el gráfico 10-3, se observa que, el número de elevaciones y defecaciones en el campo claro decreció de 47,00 y 2,33 del blanco a 16,17 y 1,33 con D5-PP respectivamente, lo cual señala que, al administrar las distintas dosis, los ratones disminuyeron su actividad emocional exagerada expresada generalmente durante episodios de ansiedad. Los descensos más notorios se dan en el control, D1-PP y D2-PP, mientras que el aumento más considerable se observa con D5-PP.

Tabla 25-3: Test de ANOVA para número de elevaciones y defecaciones

ANOVA					
NÚMERO DE DEFECACIONES					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1,936	6	0,323	2,163	0,080
Dentro de grupos	3,878	26	0,149		
Total	5,814	32			

NÚMERO DE ELEVACIONES					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	30.992	6	5.165	24.510	0,000
Dentro de grupos	7.376	35	0,211		
Total	38.368	41			

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

El p-valor del test ANOVA (Tabla 25-3) obtenido para el número de defecaciones, en los 7 tratamientos, es mayor que el nivel de significancia, por lo que se acepta la hipótesis nula, es decir, no existe diferencias de medias de los tratamientos con el blanco y el control. En este parámetro estadísticamente no se obtuvieron datos relevantes, por lo que, a la hora de tomar una decisión, se considera que la causa de este resultado se deba posiblemente a que el tiempo de experimentación fue de 5 min. En bibliografía se señala que el tiempo puede ser 2 a 20 minutos, siendo lo recomendado 10 minutos. (Vargas-Irwin and Góngora, 2011, p. 145)

En la tabla 25-3 se observa que, el p-valor del test ANOVA obtenido para las medias del número de elevaciones es menor que el nivel de significancia, es decir existen diferencias significativas en el número de elevaciones.

En cuanto al número de elevaciones (Tabla 26-3), se observa la formación de tres sub grupos homogéneos. El sub grupo formado por el control junto con la D1-PP, indican que, en esta dosis la actividad emocional exagerada disminuyó considerablemente. El blanco y la dosis D5-PP forman el otro grupo, lo que expresa una actividad emocional exagerada similar a la expresada por el blanco.

Tabla 26-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos para número de elevaciones

NÚMERO DE ELEVACIONES				
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01		
		1	2	3
CONTROL	6	0,8283		
DOSIS 1	6	1,6999	1,6999	
DOSIS 4	6		1,8898	

DOSIS 2	6	2,4823	
DOSIS 3	6	2,5610	
DOSIS 5	6	2,6197	
BLANCO	6		3,8131
Sig.		1,000	0,928 1,000

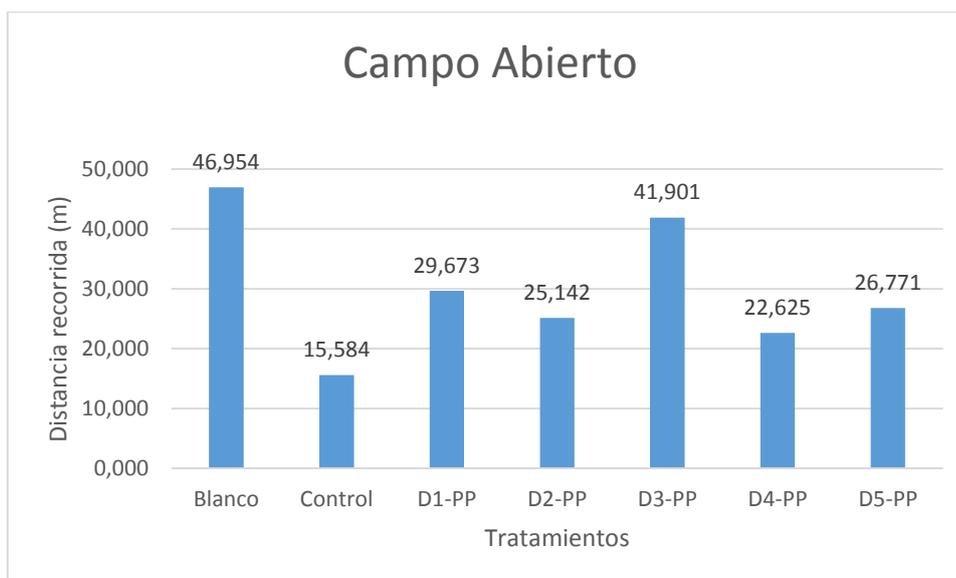
Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

3.6.3.3. Distancia recorrida y Velocidad media

Tabla 27-3: Resultados obtenidos de la distancia recorrida y la velocidad media

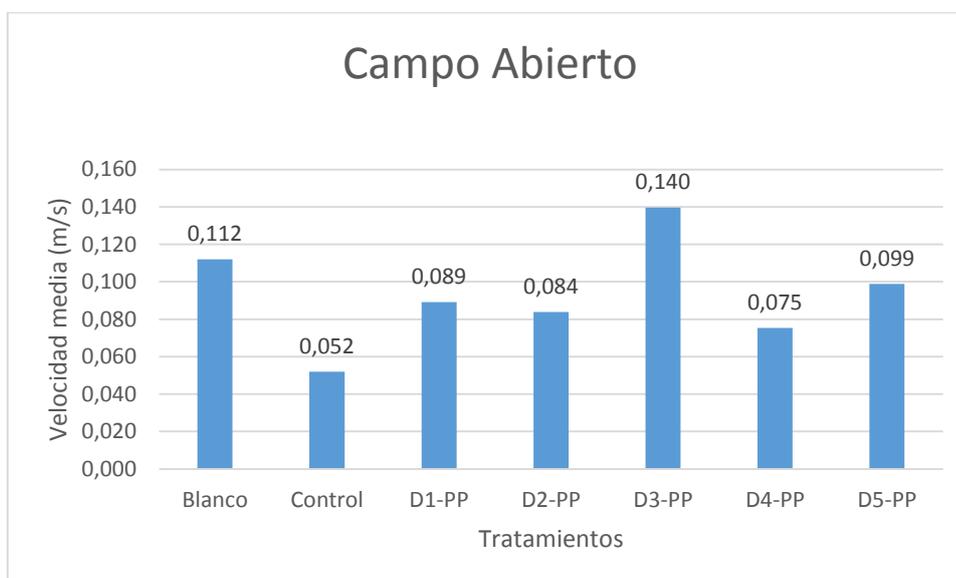
Grupos	Distancia recorrida	Velocidad media
Blanco	46,954	0,112
Control	15,584	0,052
D1-PP	29,673	0,089
D2-PP	25,142	0,084
D3-PP	41,901	0,140
D4-PP	22,625	0,075
D5-PP	26,771	0,099

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018



Gráfica 11-3: Distancia recorrida obtenida por efecto de los diferentes tratamientos

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018



Gráfica 12-3: Velocidad media obtenida por efecto de los diferentes tratamientos.

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En los gráficos 11-3 y 12-3, se observa que la distancia recorrida y la velocidad media del blanco decrecieron de 46,995 m y 0,112 m/s respectivamente a 26,771 m y 0,099 m/s con D5-PP, lo cual señala que, al administrar las distintas dosis, los ratones disminuyeron su recorrido en el campo abierto, por lo tanto, también su locomoción. Los descensos más notorios se dan con el control, D5-PP y D2-PP, es importante señalar que dosis la D3-PP muestra un aumento considerable e incluso mayor que el blanco.

Tabla 28-3: Test ANOVA para distancia recorrida y velocidad media

ANOVA					
DISTANCIA RECORRIDA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5,600	6	0,933	5,026	0,001
Dentro de grupos	6,499	35	0,186		
Total	12,099	41			
VELOCIDAD MEDIA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	14,142	6	2,357	7,855	0,000

Dentro de grupos	10,502	35	0,300		
Total	24,644	41			

Realizado por: Gabriela Yancha, 2018

En la tabla 16-3 se observa que, los p-valores del test ANOVA de las medias de la distancia recorrida y velocidad media son menores que el nivel de significancia, es decir existen diferencias significativas en las entradas a cada compartimento.

En la tabla 29-3, en cuanto a la distancia recorrida y velocidad media, se observa que, en ambos casos se forman dos sub grupos homogéneos. El sub grupo que presenta una probabilidad mayor es el formado por el blanco junto con todos los tratamientos, lo que permite concluir que, los tratamientos no afectan a la locomoción dentro de la prueba de campo abierto.

Tabla 29-3: Test post-hoc HSD Tukey de grupos homogéneos de distancia recorrida y velocidad media

DISTANCIA RECORRIDA			
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
CONTROL	6	2,5467	
DOSIS 4	6	3,0882	3,0882
DOSIS 2	6	3,1967	3,1967
DOSIS 5	6	3,2474	3,2474
DOSIS 1	6	3,3611	3,3611
DOSIS 3	6		3,4933
BLANCO	6		3,8315
Sig.		0,035	0,069
VELOCIDAD MEDIA			
GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.01	
		1	2
CONTROL	6	-4,0048	
DOSIS 4	6		-2,6156
DOSIS 5	6		-2,5071

DOSIS 1	6	-2,4564
DOSIS 2	6	-2,3427
BLANCO	6	-2,2261
DOSIS 3	6	-2,2105
Sig.		0,065 0,856

Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

4.6.4. Discusión general de los resultados

Analizados los resultados estadísticos de los extractos en cada equipo, se puede resumir que:

Tabla 30-3: Resumen estadístico de los grupos formados por el control y las dosis en los distintos parámetros para la evaluación de la actividad ansiolítica y sedante

CCO			
Cuarto claro	CO, D1, D2, D4, D3, D5	Cuarto oscuro	CO, D1, D4, D2, D5, D3
LCE			
Brazos abiertos	CO, D1, D2, D3, D4	Brazos cerrados	CO, D1, D3, D2, D4
CA			
Centro	D2, D1, CO, D4, D5, D3	Interior	D1, D2, CO, D3, D5, D4
Laterales	CO, D1, D2	Esquinas	CO, D3, D1
Elevaciones	CO, D1	Defecaciones	-

Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

Tabla 31-3: Resumen estadístico de los grupos formados por el control y las dosis en los distintos parámetros para la evaluación de la actividad locomotora

	CCO	LCE	CA
Distancia recorrida	CO, D5, D2	CO, D5, D3, D4	CO
Velocidad media	CO, D5, D2	CO	CO
Cruces	CO, D5, D2, D4	-	-
Ent. Brazos abiertos	-	CO, D3, D5, D4	-
Ent. Brazos cerrados	-	CO, D4, D5	-

Realizado por: Gabriela Yanca, 2018

Según el análisis estadístico, todas las dosis del extracto de *Peperomia peltigera* presentan actividad ansiolítica, ya que al ser comparadas con el control positivo (Clonacepam), no presentan diferencias significativas. La mayor parte de las dosis evaluadas no afectan la locomoción.

Dosis1 (25 mg de extracto *Peperomia peltigera* /kg)

Para evaluar la actividad ansiolítica se analizó los tiempos de permanencia en el cuarto claro del equipo CCO y en los brazos abiertos del LCE, se observó que, D1 mostró valores estadísticamente similares a los expuestos por el control. Además, presentó valores semejantes al control en los tiempos permanencia en el centro e interior del equipo CA, lo que indican que, además de actividad ansiolítica, otorga actividad sedante. En cuanto a la actividad locomotora los valores obtenidos de esta dosis son diferentes a los expuestos por el control en todos los parámetros de los tres equipos por lo que, se puede decir la dosis 1 no presenta depresión de esta actividad.

Dosis 2 (50 mg de extracto *Peperomia peltigera* /kg)

Al analizar los tiempos de permanencia en el cuarto claro del equipo CCO y en los brazos abiertos del equipo LCE, la dosis D2 presentó destacada actividad ansiolítica, debido a que, los valores no presentaron diferencias estadísticamente significativas frente al control. El tiempo de permanencia en el centro e interior del equipo CA fue similar al expuesto por el control, mientras que los valores obtenidos en el tiempo de permanencia en las esquinas y el número de elevaciones de esta dosis fueron diferentes a los del control, por lo que, disminuye la actividad sedante. Mientras que en lo referente a los parámetros de distancia recorrida y velocidad media del equipo CA y LCE, presentó valores similares al control. En el equipo CCO en estos dos parámetros junto los cruces, mostraron valores diferentes a los del control, lo que hace que, la actividad locomotora sea afectada, pero en menor intensidad.

Dosis 3 (100 mg de extracto *Peperomia peltigera* /kg)

Esta dosis, presentó una buena actividad ansiolítica, ya que, al analizar los tiempos de permanencia en el cuarto claro del equipo CCO y en los brazos abiertos del equipo LCE, los valores de esta dosis y el control fueron similares por formar parte de un mismo grupo. En cuanto al tiempo de permanencia en el las esquinas, centro e interior del equipo CA se observó que son similares a lo expuesto por el control, mientras que, en el tiempo de permanencia de los laterales y en el número de elevaciones del equipo CA, se evidenció que los valores de esta dosis no son similares al control, por lo que la actividad sedante fue afectada. Se presentó depresión de la

actividad locomotora debido a que, los parámetros de distancia recorrida y número de entradas en brazos abiertos en el equipo LCE mostraron valores similares a los del control.

Dosis 4 (200 mg de extracto *Peperomia peltigera* /kg)

La actividad ansiolítica en esta dosis es buena, debido a que, al analizar los tiempos de permanencia en el cuarto claro del equipo CCO y en los brazos abiertos del equipo LCE se mostraron valores estadísticamente similares a los expuestos por el control. Con respecto al tiempo de permanencia en el centro e interior del equipo CA presentaron valores semejantes a los del control, mientras que, en los tiempos de permanencia en los laterales, esquinas y número de elevaciones mostraron valores diferentes al control, por lo que, presentan reducción en la actividad sedante. Se evidencia depresión de la actividad locomotora debido a que, los parámetros de distancia recorrida, entrada en brazos abiertos y cerrados del equipo LCE, además del número de cruces cuarto claro-oscuro del equipo CCO, presentaron valores similares a lo expuesto por el control.

Dosis 5 (300 mg de extracto *Peperomia peltigera* /kg)

Esta dosis muestra que la actividad locomotora fue afectada en mayor proporción ya que, los parámetros de distancia recorrida, velocidad media y número de cruces del equipo CCO, además distancia recorrida, velocidad media y número de entradas en brazos abiertos y cerrados del equipo LCE mostraron valores estadísticamente similares al control. También presentó disminución en la actividad sedante debido a que al tiempo de permanencia en laterales, esquinas y número de elevaciones del equipo CA presentan valores diferentes a los del control. La actividad ansiolítica se ve reducida debido a que, a la permanencia de tiempo en brazos abiertos y cerrados del equipo LCE presentó valores diferentes a los del control.

CONCLUSIONES

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

Se identificó en la planta de manera cualitativa una gran variedad de metabolitos secundarios presentes como: alcaloides, azúcares, triterpenos, esteroides, saponinas, flavonoides, compuestos amargos, compuestos fenólicos.

Se determinó la cantidad de flavonoides y fenoles totales presentes en el extracto de *Peperomia peltigera*, los valores obtenidos fueron de 16,33 mg Equivalentes de Quercetina/g de extracto liofilizado de flavonoides totales y 14,53 mg Equivalentes de ácido Gálico/g de extracto liofilizado de fenoles totales.

Se comprobó que el extracto de hojas de *Peperomia peltigera* a diferentes concentraciones presenta actividad ansiolítica según los resultados analizados estadísticamente y comparados con el control, la actividad biológica podría deberse a los metabolitos como flavonoides, terpenos y alcaloides, además datos como entrada en brazos abiertos y cerrados, número de cruces, distancia recorrida y velocidad media permitieron dar un indicio de la actividad locomotora que poseen.

La dosis con resultados destacados fue la de 25mg/kg, por presentar buena actividad ansiolítica y sedante al formar parte de todos los grupos con el control, en todos los parámetros de los equipos utilizados. En cuanto a la locomoción no formó ningún grupo con el control. Por lo que se considera una dosis con efecto ansiolítico con la ventaja de que no afecta la actividad locomotora en los animales de experimentación.

RECOMENDACIONES

Se sugiere realizar nuevamente el tamizaje fitoquímico de la planta, tomado de otro lugar de procedencia para confirmar la presencia de metabolitos al ser una planta poco estudiada.

Se recomienda evaluar el efecto ansiolítico de *Peperomia peltigera* utilizando otro tipo de solventes y otras partes de la planta.

Se recomienda realizar la evaluación de toxicidad de *Peperomia peltigera* para obtener información de los riesgos que puede ocasionar la administración constante de las distintas dosis.

Es importante evaluar otras actividades farmacológicas en esta planta, ya que presenta metabolitos de gran interés para nuevas investigaciones

BIBLIOGRAFÍA

Aldo, N. & Stagnaro, J.C. *Historia de la Ansiedad*. 1° edición. Editorial Polemos S.A. Buenos Aires-Argentina, 2007, pp. 56-59

Arenas, M.C. & Puigcerver, “Diferencias entre hombres y mujeres en los trastornos de ansiedad: una aproximación psicobiológica”. *Escritos de psicología*. 2009, Vol. 3, pp. 20-29.

Balasundram, N. “Food chemistry phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses”. A: *Elsevier*. 2006, Vol. 99, pp. 191-203 [Consulta: 20 enero 2018]. DOI 10.1016/j.foodchem.2005.07.042.

Benítez, G. “Farmacognosia”. A: *Micobotánica-Jaén*. 2012, p. 1-15.

Castillo Marco et al. “Preliminary phytochemical screening og some andean plants”. A: *nt. J. Pharm.* 2014, Vol. 28, p. 35-37.

Castro, A. i Torres, V. “Fitoterapia”. A: *Revista de Actualización Clínica*. 2014, Vol. 42, p. 2184-2188.

Contreras, C.M. et al. “El estudio experimental de la ansiedad y la depresión”. A: *Ciencia y Tecnología*. 2003, p. 29-39.

Contreras, C.M. “Algunos datos recientes sobre la Fisiopatología de los trastornos por ansiedad”. A: *Rev Biomed*. 1998, Vol. 9, núm. 3, p. 181-191.

Consejo de Farmacéuticos. “Introducción a la fitoterapia”. A: *Portalfarma*. 2016.

Clinic, M. *Ansiedad*. A: [en línea]. 2012. [Consulta: 23 de marzo 2018]. Disponible a: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/anxiety/symptoms-causes/syc-20350961>.

Eupati. Modelos animales Introducción. A: “*Estudios no clínicos*”. 2015, p. 1-3.

Espinoza, C. et al. “Contenido de fenoles totales y actividad anti-radical de extractos metanólicos de la planta silvestre y cultivada in vitro de *Leucophyllum frutescens* Total phenols and anti-radical activity of methanolic extracts from wild and in vitro.” A: *Revista mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 2015, p. 6.

Goodman & Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Undécima e. Dallas: 2006. ISBN 9701057392, P. 448-453.

Hernández G, Vidal M, Gómez A, Ibáñez C, P.J. Ansiedad y trastornos de ansiedad. A: *Departamento de Psiquiatría y Salud Mental Sur*. 2009, p.

Hock, F.J. *Drug discovery and evaluation: Pharmacological Assays*. 3ra. New York: Library of Congress Control Number, 2016. ISBN 9783319053912, P. 1127-1144.

Instituto Nacional de la Salud Mental. “Trastornos de ansiedad” [en línea]. New York: NIH, 2009. [Consulta: 2 de enero 2018]. Disponible a: http://ipsi.uprrp.edu/opp/pdf/materiales/ansiedad_esp.pdf.

Kamenetzky, G. “Ansiedad y alcoholismo”. A: *Psicología del Mercosur*. 2006, p. 3.

Miranda, M. *Farmacognosia y productos naturales: Normas Ramales de drogas crudas y extractos y tinturas*. 6ª ed. La Habana, Cuba: 2006.

Moreno, D., et al. “Conducta ansiolítica en ratones de laboratorio utilizando procesamiento digital de imágenes”. (2018) [Consulta: 20 de junio 2018]. Disponible en la página web: <https://doaj.org/article/90fd2a97cc7045d0b262157490d1618b.25>.

Mutis, herbario de J.C. 1.23. *Peperomia peltigera*. 1994, p. 5.

Navas W. & Benades M. “Psiquiatría trastornos de ansiedad: revisión dirigida para”. A: *revista médica de costa rica y Centroamérica* lxi. 2012, núm. 604, p. 497-507.

OMS, M.S. “Estadísticas 2014”. 2014. Isbn 0010011010011.

OMS.” Promoción de la salud mental. Conceptos. Evidencia emergente. Práctica. Informe Compendiado”. A: Promoción de la Salud Mental [en línea]. 2004, p. 60. ISSN 0717-6163. [Consulta: 22 de marzo 2018]. DOI 10.1007/s13398-014-0173-7.2. Disponible a: http://www.who.int/mental_health/evidence/promocion_de_la_salud_mental.pdf.

Oviedo, V. et al. “Extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica en ratones”. A: *Rev. Colomb. Cienc. Quím, Farm.* [en línea]. 2009, Vol. 38, núm. 1, p. 105-120. [Consulta: 12 de enero 2018]. Disponible a: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v38n1/v38n1a07.pdf>.

Pacheco, A. et al. “Estandarización preliminar de parámetros de calidad del extracto blando de las hojas de *Petiveria alliacea* L “. A: *Revista Cubana de Química*. 2006, Vol. 18, núm. 3, p. 78-83.

Palacios, M. “Metabolitos primarios y secundarios”. A: *Farmacología y Bioquímica*. 2012, p. 10.

Pastrana J. “Trastornos de ansiedad y estrés”. A: *Guía de ayuda a familiares y a pacientes*. 2007, p. 10.

Pérez Ortega, G. & González Trujano, M.E. “Plantas medicinales contra la ansiedad”. A: *Ciencia UNAM*. 2015, p. 69-75.

Ramos, M. et al. “El papel del ácido gamma-aminobutírico en la depresión de la mujer”. A: *Gaceta Médica de México*. 2017, p. 10. [Consulta: 03 de mayo 2018]. Disponible a: DOI 10.24875/GMM.17002544.

Raske, M.G. & Barlow, O.H. “Fisiología y psicología de la ansiedad”. A: [en línea]. 1993, p. 25-28. [Consulta: 23 de marzo 2018]. Disponible a: psicologoenleganes.com/wp-content/uploads/2015/08/Ansiedad_fisiologia.pdf.

Rea, V. «Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*)». EsPOCH, 2014.

Reyes-Ticas, J.A. Trastornos de ansiedad guía práctica para diagnóstico y tratamiento. A: *Biblioteca virtual en salud. Honduras*. [en línea]. 2005, p. 1-134. [Consulta: 24 de marzo 2018]. Disponible a: <http://www.bvs.hn/Honduras/pdf/TrastornoAnsiedad.pdf>.

Saña, M., Colom, A. & Castelló, N. “La experimentación animal”. A: *Experimentación Animal* [en línea]. 2011, núm. 1, p. 3-40. ISSN 05566177. [Consulta: 23 de marzo 2018]. Disponible a: https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/80084/la_experimentacion_animal.pdf.

Secretaría de salud México. Diagnóstico y tratamiento de los trastornos de ansiedad en el adulto. México, D. F.: Copygnt cenetec, 2010.

Serra, L.I.C. “Fisiología de la ansiedad”. A: *Centro Atene*. 2012, p. 92-93.

Taco, E. & Cañizares, I. “Plantas medicinales del mercado de la magdalena ubicado al sur de quito” [en línea]. 2013. [Consulta: 22 de febrero 2018]. Disponible a: <https://es.slideshare.net/ERICKATACO/investigacin-e-informacin-sobre-plantas-medicinales>.

The plant list. Peperomia peltigera C. DC. — The Plant List. 2010.

Universidad Autónoma Barcelona. Un fármaco reduce en ratones el miedo causado por traumas. A: [en línea]. Barcelona: 13 gener 2011, p. 1. [Consulta: 12 de marzo 2018] Disponible a: http://www.uab.cat/PDF/PDF_1294816500845_es.pdf.

Vargas-Irwin, C. & Góngora, M. “Modelos animales: Una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad Animal models”: *A review from three tests used in anxiety*. 2011, Vol. 18, p. 141-148.

Voces García, D., Díaz Gómez Calcerrada, C. & Puente García, N.M. “Uso de plantas medicinales en el tratamiento de la ansiedad y la depresión”. A: FMC - Formación Médica Continuada en Atención Primaria [en línea]. Elsevier, 2002, Vol. 9, núm. 1, p. 50-56. ISSN 11342072. DOI 10.1016/S1134-2072(02)75530-8. [Consulta: 09 de mayo 2018] Disponible a: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1134207202755308>.

ANEXOS

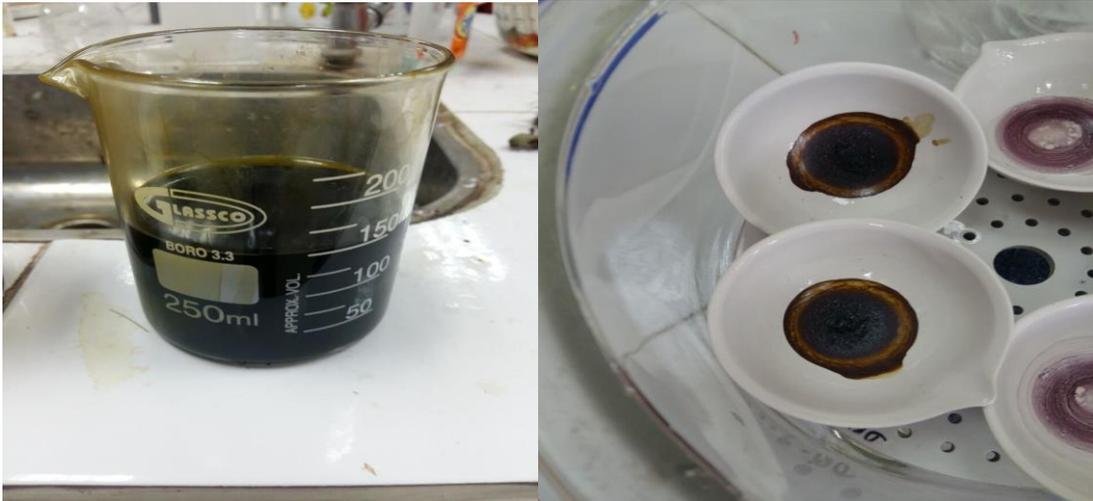
ANEXO A. Preparación de la droga cruda



ANEXO B. Control de calidad de la droga cruda



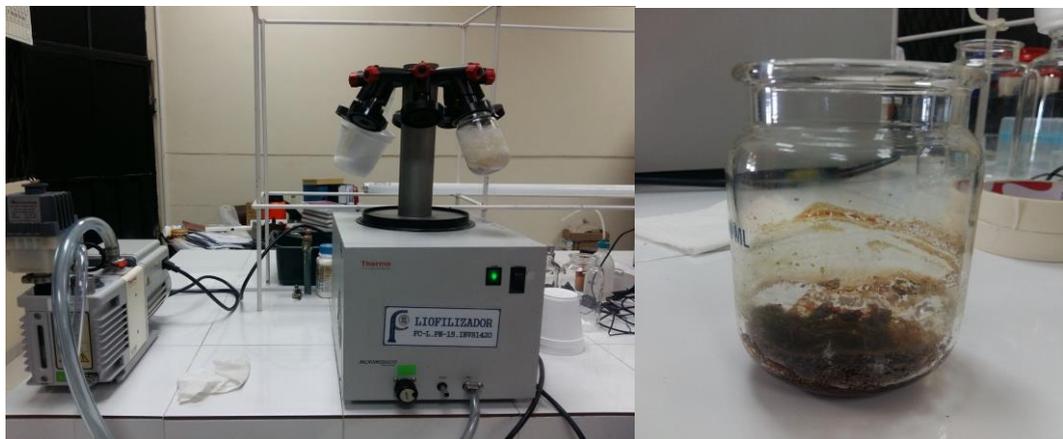
ANEXO C. Control de calidad del extracto hidroalcohólico



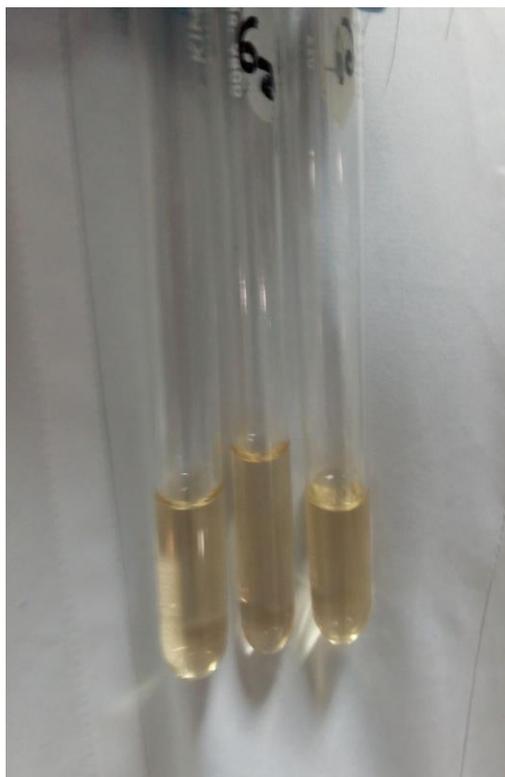
ANEXO D. Tamizaje fitoquímico



ANEXO E. Extracto liofilizado



ANEXO F. Cuantificación de Flavonoides y Fenoles totales



ANEXO G. Instalaciones del Bioterio ESPOCH



ANEXO H. Animales de experimentación ratones (*Mus musculus*)



ANEXO I. Extracto liofilizado de *Peperomia peltigera* reconstituido en propilenglicol al 15%



ANEXO J. Administración a ratones



ANEXO K. Equipo electrónico para “Cuarto Claro Oscuro”



ANEXO L. Equipo electrónico para “Laberinto Elevado en Cruz”



ANEXO M. Equipo electrónico para “Campo Abierto”

