

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA

UNAN – LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

CARRERA DE FARMACIA



**TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADO QUIMICO –
FARMACEUTICO**

TEMA:

**DETERMINACION DEL EFECTO SEDANTE DE MEZCLAS DE EXTRACTOS
A BASE DE *VETIVERIA ZIZANIOIDES*, *PASIFLORA EDULIS*, *MELISSA
OFFICINALIS*, Y *TILIA CORDATA* EN RATONES WISTAR EN EL PERIODO
COMPRENDIDO DE ABRIL-NOVIEMBRE DEL 2012.**

REALIZADO POR:

BR.DANIEL ALEJANDRO SALGADO SALGADO

BR.ESTHER DEL CARMEN SALINAS LÓPEZ

BR.EDIPCIA DE LOS ANGELES SALINAS ROQUE

TUTOR:

LIC. KELVIN JOSE NUÑEZ MARTINEZ

LEÓN, 16 NOVIEMBRE DEL 2012

“A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD”

INDICE

1. Introducción -----	3
2. Objetivos -----	4
3. Marco Teórico -----	5-21
4. Hipótesis -----	22
5. Materiales y métodos -----	23-35
6. Resultado y análisis de resultados -----	36-48
7. Conclusiones -----	49
8. Recomendaciones -----	50
9. Referencias bibliográficas -----	51-52
10. Anexos -----	53-57



1. INTRODUCCION.

En los últimos años, la investigación y desarrollo de drogas de origen vegetal ha cobrado una especial importancia debido a la exhortación hecha por la Organización Mundial de la Salud en el sentido de que cada país utilice todos sus recursos en pro de la Atención Primaria en la Salud por lo cual el uso tradicional de plantas medicinales debe ser preservado, de modo que, permita un mayor acceso a tratamientos terapéuticos a través de productos seguros, eficaces y de calidad.

Nicaragua, siendo un país rico en biodiversidad, ha iniciado el estudio experimental de ciertas plantas medicinales de aplicación tradicional, evaluándose su efecto y su toxicidad.

Muchas empresas, a partir del conocimiento popular, han colocado en el mercado varios fitomedicamentos, sin haber realizado estudios previos que comprueben la toxicidad de las plantas utilizadas así como la acción de las mismas. Entre estos fitomedicamentos existen algunos que poseen una combinación de plantas medicinales de las cuales se espera un efecto sinérgico para la actividad que se promueve, encontrándose en este grupo varios productos a los que se les atribuye la acción ansiolítica, pero hasta la fecha, según la literatura consultada, no existe en Nicaragua ningún estudio publicado que compruebe dicho efecto sinérgico como ansiolítico de un preparado fitoterapéutico que contenga una combinación de plantas medicinales, ni tampoco que compruebe que la combinación no es tóxica.

El presente estudio tiene como finalidad evaluar si las mezclas de extractos conteniendo las especies de *Vetiveria zizanioides* (valeriana), *Passiflora edulis* (maracuyá), *Tilia cordata* (tilo) y *Melissa officinalis* (melisa) que poseen acción ansiolítica o sedante a nivel experimental en ratones *Wistar*.



2. OBJETIVOS:

General:

➤ Determinar el efecto sedante de mezclas de extractos a base de *Vetiveria zizanioides*, *Melissa officinalis*, *Pasiflora edulis* y *Tilia cordata* en ratones Wistar.

Específicos:

- Evaluar la mejor Mezcla y su correspondiente relación de extractos contenida experimentalmente.
- Valorar la efectividad de dosis administradas a través de capacidad exploradora, equilibrio y coordinación, aversión a la rama, actividad locomotora en los test de Placa agujereada, Rota road, Laberinto en cruz y Campo abierto.
- Comparar el efecto sedante de las mezclas administradas en comparación con estándares de referencia.
- Elucidar el vínculo de efecto sinérgico que puedan poseer los extractos de las especies de estudio en las mezclas y relaciones ensayadas.



3. MARCO TEORICO

Información botánica de las especies en estudio

3.1- Valeriana

Nombre científico: *Vetiveria zizanioides*, *Andropogon muricatus*

Familia: Poaceae

Origen: Sur de Asia (Indonesia, India, Malasia, Ceylán, etc.).

Clase: Magnoliopsida

Género: Gramíneas

Nombre común: Vetiver, Pachulí, Baúl de pobre, Capia, Grama de las Indias, Pasto violeta, Zacate violeta, valeriana. (3)



Fig. 1

3.1.1 Origen y distribución geográfica:

Esta especie es nativa del subcontinente indio y se han introducido en muchos países tropicales. (4)

3.1.2 Descripción botánica:

Es una hierba perenne con fibrosa y gruesas raíces adventicias. (4)

3.1.3 Aplicaciones:

Tiene amplias aplicaciones en cosméticos, aromatizantes, agente antimicrobiano y anti hongos en la industria farmacéutica. (4)

3.1.4 Propiedades:

Las raíces son estimulante, sedante, tónico, estomacal, diurético, antiespasmódico y emenagogo, y se utiliza en las fiebres, inflamaciones y la irritabilidad del estómago. (4)

3.1.5 Composición química: Sesquiterpenos, y Fenilpropanoico (aceite esencial de la raíz), ácido hidroxivalerenico, acevaltrato y valtrato en proporciones abundante. (5,2)

³ http://es.wikipedia.org/wiki/Ratones_Valeriana_Vetiveria

⁴ Nazrul Islam Bhuiyan, Jasim Uddin Chowdhury and Jaripa begum. (2008). Essential oil in roots of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash ex small from Bangladesh, 37(2), 213-214. <http://www.banglajol.info/index.php/BJB/.../1646>



3.2- Maracuyá

Nombre científico: *Passiflora edulis*

Familia: passifloraceae

Clase: magnoliopsida

Género: *Passiflora*

Especie: *p. Edulis*

Sinónimo: *P. alata*, *P. quadrangularis*, *P. laurifolia*,
P. caeruleo P. ligularis, *P. maliformis*.

Nombre común: maracuyá. (6)



Fig.2

3.2.1 Origen y distribución geográfica

Se considera que el centro de origen es Brasil, específicamente la región de las amazonas. El origen de unas 150-200 especies de las 465 existentes de passiflora. (6)

3.2.2 Descripción botánica

Hojas: simples, alternas, trilobuladas o digitadas, con márgenes finamente dentados, de 7 a 20 cm de largo, de color verde profundo, brillante en el haz y pálidas en el envés. Zarcillos: redondos en forma de espiral, se fijan al tacto con cualquier superficie responsables que la planta tenga el hábito de crecimiento trepador. Tallo: la base es leñosa, y a medida que se acerca al ápice va perdiendo esa consistencia. Raíces: El sistema radicular es totalmente ramificado. Flores: hermafroditas (perfectas), nacen en las axilas, consisten de 3 sépalos de color blanco verdoso, 5 pétalos blancos y una corona. (6)

3.2.3 Aplicaciones:

Subproducto que se extrae es la maracuyina, como tranquilizante. (7)

3.2.4 Propiedades: Baja la presión arterial, tranquilizante, fuente de vitamina c. (7)

3.2.5 Composición química:

Alcaloides:(harmano, harmina y harmol), aceite esencial, Flavonoides, quercetol, apigenol, luteolol, eterosido: saponarol, isovitexol, vitexol, isoorientina, pasiflorina, ginocardina, cricina. (7)

⁶ http://es.wikipedia.org/wiki/Passiflora_edulis

⁷ <http://www.botanical-online.com/medicinalsPassiflora.htm>



3.3- Tilo

Nombre científico o latino: *Tilia cordata*

Nombre común: Tilo de hojas pequeñas.

Familia: Tiliaceae (Tiliáceas).



Fig.3

3.3.1 Origen y distribución: Especie originaria de la mayor parte de Europa hasta el Cáucaso. (8)

3.3.1 Descripción botánica

Talla: árbol de hasta 30 m. Porte: copa amplia y regular. Hojas: simples, alternas y caedizas, de base algo asimétrica, aserradas de forma regular, glabras por el haz, pelosas por el envés de 3 a 10 cm. Sus flores son de pequeño tamaño, aromáticas, y aparecen en verano. Fructificación: fruto seco, indehiscente y tomentoso. (8)

3.3.2 Propiedades: El tilo tiene propiedades antiespasmódicas y suavemente tranquilizantes y sedantes. (8)

3.3.3 Aplicaciones:

Las infusiones de hojas y flores de tila sirven para disminuir la hinchazón, tiene propiedades diuréticas, Es muy común la infusión de tilo en toda clase de resfríos, Contra las flatulencias, diarreas y calambres de estómago, para limpiar los dientes. (8)

3.3.4 Composición química

Posee una gran cantidad de aminoácidos (la glisina, valina, y asparagina) flavonoides (la hesperidina, quercetina y leucina) alcoholes (el feniletanol y el terpineo) y ácidos los que más se destacan, son el ácido ascórbico, clorogénico. Flores (saponinas, mucílagos, eugenol). Tanto las flores como las hojas de este árbol poseen taninos sustancias antioxidantes. (8)

⁸ fichas.infojardin.com/.../Tilia-cordata-tilo-de-hoja-pequena-tilo-silvest...



3.4- Melisa

Familia: Labiatae

Nombre común: Toronjil de limón

Especie: *Melissa officinalis*

Nombres vulgares: Toronjil; abejera, cedronela, toronjil. (9)



Fig.4

3.4.1 Origen y distribución

La Melisa es originaria del área mediterránea y de Asia, aunque hoy en día puede encontrarse naturalmente en zonas húmedas o incluso en praderas sombrías en América del Norte, Europa y en las islas Británicas. (9)

3.4.2 Descripción:

La Melisa es originaria de Europa central y meridional. Se trata de una planta herbácea, perenne, de tallo erguido cuadrangular y cubierto de vello. Tiene un agradable aroma a limón. Arbusto de alrededor de 60-90 cm de altura. Los tallos se ramifican desde la base. Las hojas son grandes, pecioladas y con márgenes dentados, de color verde claro brillante. Las flores aparecen en verano y son color blanco rosado. Las flores no son muy vistosas. (9)

3.4.3 Propiedades:

Es sedante y ligeramente hipnótica. También está indicado en las cefaleas tensionales y espasmos abdominales de origen nervioso. Tiene acción antiespasmódica, es carminativa. Indicada en problemas de disquinesia biliar y cálculos biliares. Es antiinflamatoria de la mucosa digestiva. Ayuda a regular la menstruación y a aliviar sus dolores. Es antiséptica y eficaz frente a hongos y virus. Por vía externa contra el virus del herpes zoster, anti neurálgico, antimigrañosa y cicatrizante. Se emplea como correctora del sabor y del olor.

Aplicaciones: relajante y buena para el corazón. En la medicina popular se usa contra la ansiedad y la depresión así como para calmar las palpitaciones del corazón. (9)

3.4.4. Composición química: Ácidos: clorogenico, oleanolico, succínico, ursolico (planta), rosmarinico (hojas), citronelico (brotes). Alcoholes: linalol, citronelal, geranial, neral, limoneno (brotes). Taninos: (planta) Catequinas: (planta), Timol: (planta). (9)

⁹ revuyon.lacoctelera.net/post/.../la-melisa-o-toronjil-melissa-officinalis...



3.5- Buenas prácticas pos cosecha recolección, secado, lavado, trituración, preparación de extractos

3.5.1 Recolección de la muestra: BPM Recolección.

La época de recolección influyen en la composición química de las plantas estas se encuentran disminuidas y como consecuencia no tienen el mismo desarrollo vegetativo, y sobre todo varia la composición de principios activos. (10)



Fig.5

Las raíces y los rizomas deben recolectarse en otoño, cuando los procesos vegetativos han cesado. Las raíces, especialmente si son carnosas, encogen y se vuelven esponjosas con el secado. Las cortezas se deben recoger en primavera, antes que comienzan los procesos vegetativos. (10)

Las hojas y las sumidades foliáceas y floridas deben recogerse cuando la fotosíntesis es más activa, lo que generalmente ocurre en la época de floración, antes de la floración, antes de la maduración de los frutos y semillas. (10)

3.5.2 Selección

Consiste en la separación manual o mecánica de materia extraña, impurezas y adulterantes agregados intencionalmente o no. La suciedad y la arena deben ser removidas por tamización o mediante corrientes de aire. (11)

4.3 Secado de droga vegetal

El secado de una planta no es más que el proceso de extraer la humedad que contiene, para evitar que se pudra, enferme o pierda las sustancias activas, además de permitir su almacenamiento por un tiempo determinado antes de su utilización. (11)



Fig.6

⁹ revuyon.lacoctelera.net/post/.../la-melisa-o-toronjil-melissa-officinalis

¹⁰ Sharapin,N.(2000). Fundametos dev tecnología de productos fitoterapeuticos. CYTED(Organización). Sub programa de química fina farmacéutica, Convenio Andres Bello(organización).

¹¹ Asociacion Española para la cultura, el arte y la Educacion(ASOCAE O.N.G.D)NATURALEZA EDUCATIVA.Usos y técnicas secado y conservación. http://www.natureduca.com/med_usos_secado.php



Éste se puede realizar con calor natural o artificial; sea cual sea el sistema, el propósito es eliminar progresivamente la humedad contenida en las partes útiles, mediante técnicas adecuadas a cada especie de forma que no se pierdan o devalúen las sustancias que se pretender retener. . (11)

Las partes recolectadas deben ponerse a secar inmediatamente; se evitará de esta forma que se marchiten o requemen. Por esta misma razón, salvo en algunos casos, es necesario evitar el secado a pleno sol, dado que las sustancias activas se reducen o alteran por efecto de los rayos solares. . (11)

El proceso de secado resulta más o menos sencillo dependiendo de que partes de la planta se van a manipular. Si el tiempo de secado es excesivo se corre el riesgo de que la planta se reduzca a polvo, perdiendo las sustancias activas; un tiempo escaso, por su parte, puede provocar que la humedad que aún contienen las haga enmohecer o podrirse. . (11)

En invierno es preciso calentar el lugar habilitado como secadero. En verano, sin embargo, se pueden alcanzan altos regímenes de secado. Algunas especies de las que se aprovechan sus ramas o frutos (hinojo, alcaravea, salvia, mejorana, ajedrea, etc.), pueden incluso secarse en su propio lugar de cultivo, pero con la precaución de que estén a recaudo del sol y la lluvia. (11)



Fig.7

Las partes a secar deben colocarse en capas finas, bandejas o cajas de madera que dispongan huecos por donde circule el aire; esto es especialmente importante si las cajas se van a apilar. Si el volumen de plantas a secar es muy alto, se aconseja disponer de estantes que permitan removerlas, al objeto de que las el secado sea proporcional en todo el conjunto. (11)



Fig.8

¹¹ Asociación Española para la cultura, el arte y la Educación (asocae o.n.g.d) naturaleza educativa. Usos y técnicas secado y conservación.
http://www.natureduca.com/med_usos_secado.php



El secado se puede conseguir por procedimientos variables, y entre estos podemos mencionar:

- Secado al sol directo o a la sombra.
- Mediante aire caliente y seco, a temperatura entre 40° a 80°, en estufa.
- Liofilización muy útil para la deshidratación de granos y semillas.

Deshidratación mediante sustancias inorgánicas: sulfato de calcio, cloruro de calcio, ácido sulfúrico, pentóxido de fosfato. (11)

3.5.3 Almacenamiento

Las drogas mantenidas a la intemperie siempre están propensas a ser atacadas por gusanos y roedores. (11), Las drogas que son almacenadas en seco, (fardos y cajas), reabsorben un 10% de su peso en humedad. (11), Deben ser almacenadas en vasijas selladas, acompañadas de un deshidratante. En grandes cantidades, el fondo de la caja debe ser llenado con óxido de calcio y separados por láminas perforadas. (11)

3.6 Extracción

Se realizarán 2 técnicas diferentes:

- Extracción con disolventes orgánicos.
- Extracción con disolventes activos. (12)

3.6.1 Factores que afectan el proceso de extracción

Los dos procesos de extracción están influenciados por una amplia gama de factores. Sin embargo, en general, hay solamente cinco factores que tienen un significado real. (12)

3.6.2 Contenido de agua de la hoja

Por ser una sustancia polar, el agua interfiere remojando la superficie de la hoja y penetrando solvente en la hoja. Además, reduce la difusión. Lo que es necesario, sin embargo, es cierto grado de humedad residual para mantener la elasticidad de la hoja y para prevenir que se desmenuce, lo que haría difícil que el solvente penetrara en la hoja. (12)

¹¹ Asociación Española para la cultura, el arte y la Educación (ASOCAE O.N.G.D) naturaleza educativa. Usos y técnicas secado y conservación.

http://www.natureduca.com/med_usos_secado.php

¹² Gustav Hess, S.L.(s.f). Factores que afectan el proceso de extracción

http://www.gustavheess.com/esp/produccion_2_3.php?submenu=2



3.6.3 Tamaño y forma de la partícula

La forma de las partículas en el material de extracción debe ser suficiente para permitir que el solvente fluya libremente, sin ninguna gran resistencia, además el tamaño de la partícula debe permitir la mejor extracción posible de cada partícula individual, reduciendo al mínimo la difusión. ⁽¹³⁾

3.6.4 Cantidad de solvente.

El cociente cuantitativo del solvente al material de extracción dependerá de la composición de la hoja. Generalmente, la cantidad del solvente de extracción aumenta proporcionalmente con el contenido de fibra cruda en la hoja. Como norma general, cuanto más grande es la concentración de éste, menos energía se necesita para eliminar el solvente al final del proceso. ⁽¹³⁾

3.6.5 Temperatura de extracción.

Las altas temperaturas reducen la viscosidad solvente y aumentan la solubilidad del extracto en el solvente. La viscosidad reducida del solvente y la función realizada del solvente en temperaturas elevadas provocan que la extracción mejore. Mientras que no hay grandes diferencias, es mejor usar los agentes calentados de extracción. El aumento en la producción de aceite compensa el coste de calentar el solvente. ⁽¹³⁾

3.6.6 Tiempo de extracción.

El tiempo de extracción depende del nivel de extracción y del tipo de naturaleza y estructura del material de extracción. ⁽¹³⁾

3.7 Tipos de extracción

3.7.1 Destilación:

Es el proceso de extracción más fácil y barato. Convierte los aceites esenciales en vapor y después vuelve a condensarlos. ⁽¹⁴⁾

¹³Técnicas de extracción, modificado y consultado (3 abril 2011).

<http://pirata43.blogspot.com/2011/10/tecnicas-de-extraccion-con-disolventes.html>

¹⁴Quality Handcrafted Portuguese Copper Alembic Stills. Metodos de extraccion http://www.copper-alembic.com/essentials_methods.php?lang=es



3.7.2 Extracción en frío:

Se trata de un método muy utilizado para la extracción de cítricos. Este método de extracción presenta la ventaja de no someter los aceites esenciales a temperaturas elevadas. Sin embargo, éstos entran en contacto con el agua, por lo que se dispersan importantes componentes hidrosolubles. ⁽¹⁴⁾

3.7.3 Extracción con solventes orgánicos:

En este método se utilizan solventes para extraer aceites esenciales, especialmente en materias orgánicas. La extracción con solventes comprende los siguientes métodos. ⁽¹⁴⁾

3.7.4 Maceración:

Consiste en colocar la droga y el menstruo en un recipiente que cierre perfectamente a temperatura ambiente (15 a 20 °C) durante un lapso de tiempo variable, el que dependerá del menstruo utilizado. La droga debe estar finamente dividida y se agita para mejorar el contacto y asegurar la solubilización de los principios activos. ⁽¹⁴⁾

La maceración es útil cuando los principios son fácilmente solubles en frío y cuando la acción de la temperatura los altera. ⁽¹⁴⁾

3.7.5 Enfleurage:

Método utilizado para extraer aceite esencial de flores delicadas como el jazmín y la rosa, que consiste en colocar capas de pétalos sobre un cristal, cubiertas con un aceite esencial tibio y con mucha grasa, La grasa que recubre las flores y absorbe sus esencias se la va con alcohol para eliminar las esencias absorbidas. Sin embargo, el alcohol se evapora y origina, de este modo, aceites esenciales muy concentrados conocidos como absolutos. ⁽¹⁴⁾ Este es un método muy eficaz y de elevados costos, pero que es bastante utilizado por los productores de perfumes. ⁽¹⁴⁾

3.7.6 Extracción con dióxido de carbono:

Se trata de un método reciente, que utiliza temperaturas relativamente más bajas a las de la destilación, lo que lo hace menos agresivo para las plantas. ⁽¹⁴⁾

¹⁴Quality Handcrafted Portuguese Copper Alembic Stills. Metodos de extraccion
http://www.copper-alembic.com/essentials_methods.php?lang=es



3.8 Técnicas de comprobación de actividad terapéutica de las plantas medicinales

A la luz de los modernos avances en botánica, fitoquímica, farmacología, farmacocinética, farmacodinamia y toxicología, el conocimiento tradicional y popular sobre las propiedades medicinales de las plantas deberá ser constatado y validado para garantizar una terapia adecuada, eficaz y con la menor incidencia de ocasionar riesgos para el paciente.⁽¹⁵⁾

3.8.1 Actividad sedante

Existen especies que poseen similar actividad que las benzodiazepinas sintéticas, interactuando en la mayoría de los casos sobre receptores GABA. La actividad sedante de un extracto vegetal se basa en algunas sencillas pruebas. ⁽¹⁵⁾

Prueba de la placa agujereada: Se coloca en la jaula una tabla con 16 agujeros. Se mide el carácter de curiosidad del animal en la medida que introduzca su cabeza en cada agujero. Se mide el número de agujeros explorados por minuto durante 5 minutos y se compara con otros sedantes (benzodiazepinas). El sedante (vegetal o sintético) producirá una disminución en la curiosidad del animal. ⁽¹⁵⁾

Prueba de Rota-Rod: Evalúa los reflejos del animal haciendo equilibrio sobre un eje giratorio (10 rpm) durante 3 minutos. Si se administra un sedante, la caída y pérdida del equilibrio será rápida. ⁽¹⁵⁾

Prueba de la chimenea: Se coloca el ratón en un tubo cilíndrico de 30 cm de profundidad. Se lo empuja hasta el final. Se coloca de pie el cilindro y se mide el tiempo que tarda el ratón en escapar del fondo del tubo. ⁽¹⁵⁾

¹⁵ Técnica de comprobación de actividad terapéutica.

http://www.sld.cul.../comprobacion_de_la_actividad_terapeutica_de_las_plantas



3.10 Farmacología de las plantas medicinales

Los métodos biológicos o bioensayos, se definen como la determinación de la potencia de un agente físico, químico o biológico, mediante un indicador biológico. La principal desventaja de estos estudios es su falta de precisión, debido a la amplia variabilidad biológica. Pero en cambio encierra las siguientes ventajas: 1) no es necesario conocer el principio activo y así se conociera el principio activo no es necesario aclarar su constitución química, 2) el principio activo no necesita encontrarse en estado de pureza, 3) puede indicar cuál es el isómero activo o inactivo y permite valorar sustancias de estructura química muy semejante, pero difieren extraordinariamente en su actividad biológica y que se pueden encontrar combinadas. ⁽¹⁶⁾

Para que la valoración biológica proporcione resultados útiles hay que tomar en cuenta los siguientes postulados: ⁽¹⁶⁾

- Utilizar un número suficiente de animales, tanto para testigos, patrones y experimentales, determinando el número mediante el cálculo estadístico.
- Utilizar lotes de animales homogéneos (mismo peso, edad, sexo, alimentación, higiene, etc.) distribuyéndolos al azar (aleatoriamente) para lo que existen tablas especiales.
- La actividad del problema o muestra en estudio deberá determinarse por pruebas comparativas con el patrón de referencia y expresarse en términos de dicho patrón.
- Si la droga no produce muerte de los animales de experimentación, se debe recurrir al estudio cruzado.
- La respuesta obtenida debe estar relacionada con el uso terapéutico del fármaco como sea posible.

Farmacológicamente existen dos métodos que se utilizan en plantas medicinales: el primero en órganos y tejido aislado denominado estudios “in vitro” debido a que se toman animales recién muertos y el segundo a aquellos que utilizan al animal completo sin quitarle la vida, denominados “in vivo”. ⁽¹⁶⁾

¹⁶ villares Amelia, universidad de nacional de Trujillo, Farmacología de las plantas medicinales.
<http://www.bvsde.paho.org/texcom.manualesMec/fitoterapeutica>



3.11. Animales de experimentos

3.11.1 Ratones

Los experimentos con animales se utilizan ampliamente para desarrollar nuevas medicinas y para probar la seguridad de otros productos. ⁽¹⁷⁾

Muchos de estos experimentos causan dolor a los animales involucrados o reducen la calidad de vida de otras maneras. ⁽¹⁷⁾

En todo el mundo se usa para vivisección una amplia gama de especies. Las ratas y ratones se llevan la mayor proporción de los experimentos de laboratorio, sobre todo porque son fáciles de manejar y baratos de mantener por su pequeño tamaño. Ocupan menos sitio en un laboratorio que otros animales más grandes, y además tienen de 50 a 100 crías al año. ⁽¹⁷⁾

Los conejos albinos se utilizan sobre todo para pruebas de ojos y de piel por su fácil manejo y su capacidad limitada de expulsar sustancias de los ojos durante los experimentos. Las cobayas también se utilizan para pruebas de piel y de grupo por ejemplo de vacunas. ⁽¹⁷⁾

Los perros y los primates se utilizan mucho en experimentos de toxicidad, investigaciones del cerebro, odontología y prácticas de cirugía. La raza más habitual en perros es el Beagle, elegidos obre todo porque tiene muy buen carácter y es de un tamaño manejable para las pruebas. Los primates como babuinos, macacos, titis y chimpancés se siguen utilizando a miles. Otros son los gatos, aves, peces, cerdos, caballos, ovejas y hámster, aunque hay otros muchos. ⁽¹⁷⁾

3.11.2 RATA

3.11.2.1 ratas *wistar*

Orden: Rodentia

Suborden: Myomorpha

Familia: Muridae

Género: *Rattus*

Especie: *norvegicus* ⁽¹⁷⁾

Características: Ratas exocriadas. Modelo general en investigación biomédica, muy utilizadas en toxicología. ⁽¹⁷⁾



Fig.9

¹⁷F.A.Q. Animales de experimentos

<http://www.altarriba.org/viviseccion/faq.htmviviseccion>



3.11.2.2 Ratas silvestres

Proechimys chrysaеolus

Orden: Rodentia

Familia: Echimyidae

Subfamilia: Eumysopidae

Género: *Proechimys*

Especie: *chrysaеolus*. (17)



Fig.10

Características:

Ratas silvestres (llevadas a laboratorio, manteniendo colonias de forma exocriada). Se utilizan en estudios de epidemiología de zoonosis tropicales. Son reservorios u hospederos intermediarios de enfermedades (encefalitis equina venezolana, Leishmaniasis, equinococosis tropical y Chagas. Además son utilizadas para estudios neurológicos por su resistencia a epilepsias. (17)

3.11.2.3 *Rattus*

Rattus es un género de roedores miomorfos de la familia Muridae, conocidos comúnmente como ratas. Son roedores de mediano tamaño que no sobrepasan los 300 g de peso y los 30 cm, más una cola de similar longitud. Las patas anteriores son cortas y con cuatro dedos (el pulgar, rudimentario) y las posteriores, más largas, con cinco dedos. (18)



Fig.11

3.11.3 Ratones

3.11.3.1 ratones wistar

Línea ICR

Orden: rodentia

Suborden: Myomorpha

Familia: Muridae

Género: *Mus*

Especie: *musculus* (19)



Fig.12

¹⁷F.A.Q. Animales de experimentos

<http://www.altarriba.org/viviseccion/faq.htm>

¹⁸ http://es.wikipedia.org/wiki/Ratones_de_laboratorio

¹⁹ <http://es.wikipedia.org/wiki/Rattus>



Características:

Ratones exocriados: vigorosos, buena capacidad reproductiva y rápido crecimiento. Se usan ampliamente en estudios de toxicología, farmacología y pruebas de seguridad. (19)

3.1.1.3.2 ratones albinos

El ratón de laboratorio es un roedor, usualmente de la especie *Mus musculus*, que se utiliza para la investigación científica. Su cariotipo está compuesto por 40 cromosomas¹ y suelen ser albinos. (20)



Fig.13

Para cada experimento se escogen ratones de laboratorio que pertenezcan a una misma cepa pura o endogámica. Los individuos de una misma cepa llevan los mismos genes, por lo cual se facilita la comparación de los efectos de los diferentes tratamientos experimentales (fármacos, entorno físico, etc.), sin que se produzca confusión debido a las diferencias genéticas. La cepa más utilizada ha sido la BALB/c (ratón albino), aunque existen otras disponibles, especialmente desde el desarrollo de técnicas de manipulación de genes que han provisto una gran cantidad de cepas con modificaciones genéticas particulares. (20)

Algunas investigaciones particulares pueden requerir de una especie de ratón diferente a *Mus musculus*. Por ejemplo, en 2004, investigadores de la Universidad de Emory utilizaron ratones de las praderas (*Microtus ochrogaster*) y ratones de los pantanos (*Microtus pennsylvanicus*) para estudiar un gen relacionado con el comportamiento monógamo. (20)

Las características que han hecho del ratón de laboratorio el modelo biológico y biomédico más utilizado en las investigaciones científicas son:(20)

1. Su fácil manejo.
2. Su tamaño apropiado para la crianza y manipulación.
3. No requieren demasiados cuidados.

¹⁹ <http://es.wikipedia.org/wiki/Rattus>

²⁰ http://es.wikipedia.org/wiki/Ratones_de_laboratorio



4. Tienen un sistema inmune similar al de los seres humanos.
5. Tienen un alto número de crías. Poseen un breve período de gestación (19-21 días), y su destete es rápido.
6. Al ser mamíferos euterios, poseen un genoma muy similar al de los seres humanos.

3.11.4 ratón *knock-out*

Un ratón *knock-out* (KO) es un organismo genéticamente modificado (OGM) que carece de la expresión de un gen en particular. Los ratones KO son un modelo para estudiar la acción de un gen particular en la bioquímica y fisiología de un organismo. Los ratones knock-out son muy útiles en el estudio del cáncer y de otras enfermedades complejas. (20)



Fig.14

3.12 TEST DE EXPERIMENTACION

3.12.1 Test de la placa agujereada

La prueba de la placa agujereada según Boisser mide la actividad de un ratón en una situación libre. Se realiza en una tabla cuadrada con 16 agujeros en donde el ratón pasa periódicamente la cabeza dentro de los agujeros, se determina el número de agujeros explorados cada minuto durante 5 minutos. El test permite apreciar la curiosidad, la actividad exploradora y eventualmente la ansiedad; por lo cual estos efectos permiten seguir la reacción de exploración, comportamiento y curiosidad del ratón. (21,1)



Fig.15

Técnica

Consiste en colocar delicadamente al ratón en el centro de la tabla. El número de agujeros explorados son contados y anotados al término de cada minuto durante 5 minutos; no se toma en cuenta el paso del ratón por el agujero sin exploración, la exploración de los bordes de la tabla, ni la introducción de la cabeza en el mismo agujero varias veces. (21,1)

²⁰ http://es.wikipedia.org/wiki/Ratones_de_laboratorio



Resultados

Se anota el número de agujeros explorados por minuto y el número total durante los 5 minutos. Esta prueba es positiva cuando el número de agujeros explorados por el animal tratado con la muestra en estudio disminuye hasta acercarse o igualarse al tratado con el fármaco de referencia. (21,1)

3.12.2 test de Rota rod

La prueba de Rota Rod según Bhargava & Chandra y Kinnard & Carr, Evalúa los reflejos de equilibrio y coordinación en ratones. La Administración de un inhibidor del Sistema Nervios Central provoca Disturbios de coordinación y caída del animal. (22)



Fig.16

Técnica

El modelo Rota.rod es muy sensible para medir la ansiedad y la relajación muscular en ratas. El equipo consta de cuatro tambores de siete centímetros de diámetro colocados verticalmente, el modelo cuenta con cuatro platos que se colocan en la parte inferior de los tambores, poseen un guardador de níquel blindado con hierro montado debajo de cada plato, esta parte debe tocar el imán y el resorte inoxidable, ejerciendo una ligera presión sobre el eje. (22)

De esta manera cada imán es conectado eléctricamente al eje cerrando el circuito de poder al tablero correspondiente. (22)

El circuito se rompe cuando el guardador de níquel pierde contacto con el imán, deteniéndose el tiempo en el tablero, esto ocurre cuando el animal cae del cilindro sobre el plato. El modelo tres opciones: acelerar (aumenta las revoluciones por minuto), bloquear (mantiene la velocidad constante) y reset (mantiene el Rota-rod girando a una velocidad mínima). (22)

²² Guerrero Olvera Ma. Eugenia. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. (2006), Determinación del perfil farmacológico de compuestos derivados de las benzodiazepinas como sedante- hipnótico, anticonvulsivo, ansiolítico y relajante muscular.
<http://www.148.206.53.231/UAMI13420.pdf>



Se verifica con anterioridad que los ratones sean capaces de mantenerse indefinidamente sobre el eje que gira, son entrenados consecutivamente, observándose durante dos minutos; los ratones que no logran mantenerse se descartan del test. Consiste en mantener un ratón en posición en un eje que gira a 10rpm durante 3 minutos. Las mediciones se realizan a los 30 minutos, 1 y 2 horas. (22)

Resultados

Se determina la dosis efectiva media (DE50) que hace caer al 50% de los ratones en menos de 3 minutos con la sustancia en estudio. (22)

3.12.3 laberinto en cruz elevado

El comportamiento exploratorio de ratas en Laberinto en Cruz Elevado (LCE) es utilizado en el estudio de trastornos de ansiedad generalizada. Este modelo evalúa la exploración de la rata en un nuevo ambiente que presenta dos zonas diferentes: una potencialmente aversiva (brazos abiertos) y otra segura (brazos cerrados). El movimiento del animal puede ser explicado en primera aproximación como el resultado de una ponderación entre la motivación de explorar y la aversión que experimenta en una determinada posición del laberinto. En su estado natural la rata elige estar cerca de superficies verticales, preferiblemente rincones y lugares con poca iluminación, los campos abiertos y las alturas le causan aversión, lo que explica porque la rata permanezca más en los brazos cerrados que los brazos abiertos. (23)



Fig.17

Este experimento consiste en colocar los ratones a evaluar en el centro de una estructura que tiene la forma de cruz, está elevada respecto del nivel del suelo, y presenta la particularidad que dos de sus ramas contienen paredes a sus costados que dan la sensación de lugar cerrado y oscuro; mientras que las otras dos ramas se denominan “abiertas” porque no presentan dichas paredes a sus lados.



Fig.18

²² Guerrero Olvera Ma. Eugenia. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. (2006), Determinación del perfil farmacológico de compuestos derivados de las benzodiazepinas comosedante- hipnótico, anticonvulsivo, ansiolítico y relajante muscular.

<http://www.148.206.53.231/UAMI13420.pdf>

²³ D. A. Miranda, C. A. Conde, C. C. Celis, S. P. Corzo. (2009). Modelado del Comportamiento de Ratas en Laberinto en Cruz Elevado Basado en Redes Neuronales. Artificiales, vol.41-2, 406-408.



Las ramas abiertas y cerradas se encuentran enfrentadas. La evaluación consiste en colocar los ratones en el centro de la estructura y determinar la cantidad de veces que el ratón ingresa a cada tipo de rama y el tiempo que permanece en su interior en un periodo determinado (generalmente es de 5 minutos). Esta prueba se lleva a cabo para evaluar la actividad ansiolítico de la droga en cuestión; y el fundamento radica en que los ratones son animales de hábito nocturno, por lo que se estima que permanecerán, preferentemente, en la “rama cerrada”. De esta manera, un aumento en los tiempos de permanencia en la “rama abierta” implica un efecto ansiolítico-des inhibitorio de la droga en cuestión. (23)

3.12.4 campo abierto:

La prueba de campo abierto es una prueba conductual que ha sido diseñada y estandarizada para evaluar respuestas motoras espontaneas y respuestas emocionales asociadas al temor y a la exploración en roedores. El aparato tiene un área de 70cm x 70cm y 40cm de altura, la superficie está dividida en cuatro cuadrantes

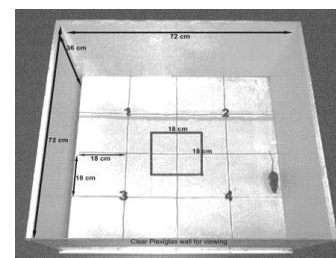


Fig.19

de 35cm x35cm, dibujados sobre el campo abierto el operador cuenta el número de líneas que cada ratón cruza en un tiempo determinado (generalmente 2 minutos o 5 minutos). A mayor número de líneas cruzadas respecto del control negativo más desinhibido está el ratón por efecto ansiolítico de la droga en estudio; mientras una caída notoria en el número de líneas atravesadas refleja una falta de movimiento de locomoción característica del efecto de sedación (23)

²³ D. A. Miranda, C. A. Conde, C. C. Celis, S. P. Corzo. (2009). Modelado del Comportamiento de Ratas en Laberinto en Cruz Elevado Basado en Redes Neuronales. *Artificiales*, vol.41-2, 406-408.



4. HIPOTESIS

La acción ansiolítica de mezclas extractos a base de *Passiflora edulis*, *Vetiveria zizanioides*, *Melissa officinalis* y *Tilia cordata* muestra resultados satisfactorios para un intervalo de confianza del 95% en los test aplicados a los animales de experimentación en comparación a tres grupos de psicotrópicos. Benzodiacepinas, inhibidor selectivo de la receptación de Serotonina y Barbitúricos



5. MATERIAL Y METODO

Tipo de estudio:

El presente estudio es experimental, de tipo pre prueba- post prueba y grupo control realizado en el período comprendido de abril- noviembre 2012.

Universo:

Especies vegetales con utilidad etnomédica reportadas en el país con propiedades sedantes como *Vetiveria zizanooides*, *Tilia cordata*, *Passiflora edulis*, *Verbena officinalis*, *Melissa officinalis*, *Mentha sativa L.*, *Ruta graveolens L.*, *Valeriana officinalis*, *Hypericum perforatum L.*, *Crataegus monogyma*, *Humulus lupulus L.*, *Eschscholzia californica cham.*

Muestra:

Cuatro especies vegetales *Vetiveria zizanooides*, *Tilia cordata*, *Passiflora edulis* y *Melissa officinalis*.

Área de estudio:

Laboratorio de farmacognosia del departamento de farmacia industrial Facultad de ciencias químicas Carrera de Farmacia; Escuela de Veterinaria, Bioterio de la escuela de veterinaria.

Unidad de Análisis:

Ratones de la variedad *Wistar* tras la administración de las mezclas con diferentes relaciones.

Variables a estudiar en animales de ensayo (ratones wistar)

- Capacidad exploradora
- Equilibrio y coordinación
- Aversión a la rama cerrada o abierta
- Actividad locomotora



Tabla. 1 Operacionalización De Las Variables

Variable	Conceptualización	Indicadores	Unidad de medida
Capacidad exploradora	Actividad que consiste en descubrir e investigar un espacio desconocido.	Número de agujeros explorados	Tiempo
Equilibrio y coordinación	Cualidades motrices responsables del control del movimiento obtenida con el aprendizaje.	segundos sobre la rueda que permanece	tiempo
Aversión a la rama	Oposición hacia un objeto o lugar, no pudiendo hallar una explicación racional a tal conducta.	Minutos de permanencia en la rama con paredes o en la rama sin paredes.	Tiempo
Actividad locomotora.	Acoplamiento de una serie de acciones musculares que sirven al movimiento voluntario o que constituyen una reacción observable en una situación.	Número de líneas cruzadas.	Tiempo

Plan de análisis de resultados:

Se utilizaron los programas:

Microsoft Excel para tabular y graficar los resultados obtenidos de la investigación.

Condiciones de Ensayo

Recursos Materiales:

- Tabla cuadrada de madera con 16 agujeros para Prueba de Curiosidad.
- Rota Road (eje de madera que gira, sobre el cual están colocados discos verticales a intervalos de 10 cm).
- Cruz elevada con dos ramas abiertas y dos ramas con paredes.
- Caja de madera con 36 líneas marcadas
- Balanza para animales
- Jeringas de 1 ml.
- Fármacos estándares de referencia: alprazolam, fenobarbital, fluoxentina
- Ratones wistar machos (sujetos de experimentación) de 20 a 23 g de peso.
- Material y equipo de Laboratorio.

PROCEDIMIENTO

Preparación de extractos.

Procedimiento

1. Las tinturas con fines de investigación elaboraron en relación 1:5, 1:10, en concentraciones 35, 50 y 70 % respectivamente, posteriormente se determinaran los



sólidos totales a fin de definir la mejor relación droga solvente considerando el poder extractivo de el grado alcohólico.

2. Se calculo la cantidad de agua y alcohol necesario para obtener el volumen y grado alcohólico deseado de la tintura.
3. La cantidad pesada de la materia vegetal se deposito en un recipiente grande (barril plástico), donde posteriormente se le agrego el volumen de agua y alcohol previamente mezclados.
4. Una vez obtenido la mezcla, hidroalcohólicas se transfirió al barril que contenía la droga vegetal utilizando un pichel plástico.
5. Posteriormente se removio con una pala de madera para lograr que la mezcla etanol agua se incorporara con la droga vegetal.
6. Se Tapo y rotulo especificando el nombre de la planta macerada fecha de maceración, fecha de salida.
7. Se dejo reposar por un periodo de quince días; removiendo cada día con la pala de madera, se anoto las observaciones organolépticas a fin de garantizar la calidad de la tintura en mención.
8. Una vez transcurrido el periodo de los quince días se procedió al prensado de la droga vegetal.

5.3 Determinación de sólidos totales.

Para la determinación de sólidos totales se procedió inicialmente con una de prensa de filtros tarados posteriormente se adiciona un ml de cada uno de los extractos individuales de las tinturas 1:5 y 1:10 de *Valeriana Vetiveria zizanoide*, *Pasiflora edulis*, *Melissa officinalis* y *Tilia cordata* se determino la mejor relación droga concentracion basándose en el porcentaje más alto obtenido según su peso.



Ensayos físico químico de tinturas, **Tabla 2** Propiedades fisicoquímicas de las Tinturas 1:5 y 1:10 de *Valeriana vetiveria*, *Pasiflora edulis*, *Melissa officinalis* y *Tilia cordata*

<i>Valeriana vetiveria zizanoides</i>			1:5			1:10		
Análisis	Tintura 35%	Tintura 50%	Tintura 70%	Tintura 35%	Tintura 50%	Tintura 70%		
Organoléptico	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:
Aspecto, Color, Olor	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido
	Color: verde oscuro	Color: verdoso	Color: verde musgo	Color: verde oscuro	Color: verdoso	Color: verde claro	Color: verde claro	Color: verde claro
	Olor: característico o aromático	Olor: característico o aromático	Olor: característico o aromático	Olor: característico o aromático	Olor: característico o aromático	Olor: característico o aromático	Olor: característico o aromático	Olor: característico o aromático
Físico Químico								
Sólidos	3.1%	3.03%	3%	4.01%	3.76%	3.2%		
Totales (g)								
PH	6.3	5.8	5.8	6.1	5.9	5.7		
<i>Pasiflora edulis</i>			1:5			1:10		
Análisis	Tintura 35%	Tintura 50%	Tintura 70%	Tintura 35%	Tintura 50%	Tintura 70%		
Organoléptico	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:
Aspecto, Color, Olor	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido
	Color: verde musgo	Color: verde musgo	Color: verde musgo	Color: verde musgo	Color: verde musgo	Color: verde musgo	Color: verde musgo	Color: verde musgo
	Olor: herbáceo	Olor: herbáceo	Olor: herbáceo	Olor: herbáceo	Olor: herbáceo	Olor: herbáceo	Olor: herbáceo	Olor: herbáceo
Físico Químico								
Sólidos	4.86%	3.53%	3.18%	2.61%	2.08%	1.52%		
Totales (g)								
PH	5.5	5.36	5.33	5.74	5.66	5.60		
<i>Tilia cordata</i>			1:5			1:10		
Análisis	Tintura 35%	Tintura 50%	Tintura 70%	Tintura 35%	Tintura 50%	Tintura 70%		
Organoléptico	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:	Aspecto:
Aspecto, Color, Olor	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido	fluido
	Color: café-marron	Color: café-marron	Color: café-marron	Color: café-marron	Color: café-marron	Color: café-marron	Color: café-marron	Color: café-marron
	Olor: característico o	Olor: característico o	Olor: característico o	Olor: característico o	Olor: característico o	Olor: característico o	Olor: característico o	Olor: característico o
Físico								



Químico						
Sólidos	6.01%	5.9%	6.00%	6.03%	5.4%	4.2%
Totales (g)						
PH	3.8	3.00	2.9	2.6	3.3	3.6
Melissa officinalis						
		1:5		1:10		
Análisis	Tintura 35%	Tintura 50%	Tintura 70%	Tintura 35%	Tintura 50%	Tintura 70%
Organoléptico	Aspecto: fluido	Aspecto: fluido	Aspecto: fluido	Aspecto: fluido	Aspecto: fluido	Aspecto: fluido
Aspecto, Color, Olor	Color: verde oscuro	Color: verde oscuro	Color: verde oscuro	Color: verde oscuro	Color: verde oscuro	Color: verde oscuro
	Olor: aromático	Olor: aromático	Olor: aromático	Olor: aromático	Olor: aromático	Olor: aromático
Físico Químico						
Sólidos	3.07%	2.61%	2.08%	1.52%	2.0%	3.02%
Totales (g)						
PH	5.5	5.2	5.3	5.4	5.66	5.6



5.4 Evaporación del solvente por rota vapor

Consiste en eliminar un disolvente orgánico de una mezcla de solventes. El motor eléctrico produce el giro de un tubo que tiene ajuste esmerilado al cual se acopla al matraz de fondo redondo que contiene la disolución. El matraz debe estar parcialmente sumergido en un baño de agua y girando la temperatura del baño debe oscilar entre 35 y 40 °C acoplado al sistema de refrigerante por el que circula agua que origina la condensación de los vapores del disolvente que se recogen en un elector.



Fig.20

El conjunto es un sistema cerrado conectado a una bomba al vacío, una trampa de agua o un circuito del vacío.

El conjunto es un sistema cerrado conectado a una bomba al vacío, una trampa de agua o un circuito del vacío.

5.5 Preparación de las muestras para el ensayo:

El procesado de las muestras es necesario cuidar este paso para evitar cualquier alteración en las muestras



Fig.21

Preparación de la muestra piloto:

1. Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 5:1:1:3
2. Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:5:3:1
3. Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:3:5:1
4. Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 3:1:1:5

Mezcla 1.

Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 5:1:1:3 para obtener 100ml de la muestra cuyas proporciones son maracuyá 50ml, tilo 10ml, valeriana 10ml y Melisa 30ml posteriormente en un elermeyer de 100ml adicionamos el extracto.

Mezcla 2.

Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:5:3:1 preparamos 100ml de La muestra cuyas proporciones son maracuyá 10ml, tilo 50ml, valeriana 30ml y Melisa 10ml adicionar el extracto en un elermeyer de 100ml.



Mezcla 3.

Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:3:5:1 Para la preparación de 120ml de esta muestra cuyas concentraciones son maracuyá 10ml, tilo 30ml, valeriana 50ml y Melisa 10ml los llevamos a un elermeyer de 100ml .

Mezcla 4.

Maracuyá –tilo –valeriana –Melisa 3:1:1:5 Para la preparación de 120ml de esta muestra cuyas concentraciones son maracuyá 30ml, tilo 10ml, valeriana 50ml y Melisa 10ml los llevamos a un elermeyer de 100ml .

Placebo: (jarabe simple) Preparación De Jarabe Simple:

Formula cuali cuantitativa para 2000 ml

Azúcar.....	1000g
Metil Parabeno.....	0.36g
Propil Parabeno.....	0.2g
Agua Destilada c.s.p.....	2000ml



Fig. 22

Método De Preparación

Disolución en caliente:

1. Pesar los 1000mg de azúcar en la balanza analítica.
2. Pesar el metil parabeno (0.36g) y el propil parabeno (0.2g) por separado en la balanza analítica.
3. Disolver en un beacker de 100ml una pequeña cantidad de alcohol el metil y propil parabeno por separado.
4. En un beacker de 1000ml agregar los 1000gr de azúcar y agregar el agua destilada, luego agregar el metil y propil parabeno ya solubilizados en el alcohol.
5. Colocar el beacker que contiene el agua destilada con el azúcar en una cocina a temperatura de 50°C agregarle un agitador magnético y dejar que se solubilice por aproximadamente 30 minutos.
6. Luego dejar enfriar
7. Filtrar con papel filtro en embudo buschner.



Procedimiento de las muestras de referencias (solubilidad y preparación de estándares)

Tabla 3. Solubilidad

	Estándares		
	Alprazolam	Fluoxentina	Fenobarbital
Alcohol	✓	✓	✓
Hexano	○	▪	▪
Cloroformo	✓	✓	▪
Agua destilada	○	✓	✓

- ✓ Buena solubilidad
- Poca solubilidad
- Insoluble

- 1) Se pesaron los estándares en una balanza analítica (aproximadamente 0.1gr)
- 2) Luego con una espátula se adicionaron los estándares a tubos de ensayos (12 tubos por separado)
- 3) Se le adiciono a los tubos de ensayos que contenían los estándares 10ml de los solventes (cloroformo, hexano, alcohol, agua destilada)
- 4) Se agito y se observo la solubilidad de cada uno.



Fig.24



5.6 Grupos de estudio:

5.6.1 Para la realización de los ensayos se procederá a establecer los grupos de ensayos, grupos control y grupos placebos respectivamente.

Para dicho estudio utilizamos 80 ratones *Wistar* sanos con peso y tamaño adecuado a su edad con dos meses y medio ya considerados adultos. Luego se establecerán los grupos:

Tabla.4 Grupo de estudio

Grupos	Extractos	Cantidad de ratones
Grupo A	Maracuyá-tilo-valeriana-Melisa 5:1:1:3 a dosis 0.4 cc	5
Grupo B	Maracuyá-tilo-valeriana-Melisa 1:5:3:1 a dosis 0.4 cc	5
Grupo C	Maracuyá-tilo-valeriana-Melisa 1:3:5:1 a dosis 0.4 cc	5
Grupo D	Maracuyá-tilo-valeriana-Melisa 3:1:1:5 a dosis 0.4 cc	5
Grupo E	Extracto de Valeriana a dosis de 0.4cc	5
Grupo F	Extracto de Tilo a dosis de 0.4cc	5
Grupo G	Extracto de Maracuyá a dosis de 0.4 cc	5
Grupo H	Extracto de Melisa a dosis de 0.4cc	5
Grupo I	Benzodiacepina, Alprazolam a dosis de 0.4 cc.	5
Grupo J	Fenobarbital, Barbitúrico a dosis de 0.4 cc.	5
Grupo K	Fluoxentina a dosis de 0.4 cc	5
Grupo L	Jarabe simple a dosis de 0.4 cc.	5
Grupo M	Grupo control. A dosis de 0.4 cc	20



Procedimiento experimental:

Test de la placa agujerada:

La prueba de la placa agujerada según Boisser, mide la actividad de un ratón en una situación libre.



Procedimiento:

- 1- Se tomo un grupo de 5 ratones wistar machos de edad, peso y talla similares.
- 2- Se le administro 0.4cc de mezclas, extractos, estándares, vehículo (jarabe simple), por vía oral aplicadas con una jeringa de 1ml.
- 3- Después de la aplicación de mezclas, extractos, estándares, vehículo (jarabe simple), se espero un lapso de tiempo de 20 min antes de dar inicio a la prueba.
- 4- se coloco del grupo de 5 ratones uno a uno en el centro de la placa agujerada, que contaba con 16 agujeros.
- 5- El ratón pasaba la cabeza periódicamente por los agujeros de la tabla agujerada.
- 6- Se observo la actividad del ratón cada minuto durante 5 min, el número de agujeros explorados por el animal.

Fig.25

Esta prueba permite apreciar la curiosidad, la actividad exploradora y eventualmente la ansiedad del animal. No se toma en cuenta cuando el animal se para delante de un agujero sin explorarlo, cuando explora los bordes, ni cuando explora dos o más veces el mismo agujero.



Test del Rota Rod:

La prueba evalúa los reflejos de equilibrio y coordinación en ratones. El equipo consta con dos soportes de madera de 15 cm de alto, una base de madera en forma de triangulo, con piso de poroplas, al extremo de cada uno de los soportes posee dos ruedas de plástico que sirve como eje, el cual lo atraviesan por ambos lados un eje de madera con 4cm de diámetro



Fig.26

el cual se le coloco 6 ruedas de cartón forradas en aluminio las cuales daban lugar a las separaciones en el eje de la rueda en donde se iban a colocar los animales de experimentación, dicho instrumento giraba aproximadamente a 25rpm.

Procedimiento:

- 1- Se entreno a los ratones observándolo por 2 min que lograran mantenerse sobre el eje que gira.
- 2- Se tomo un grupo de 5 ratones wistar machos de edad, peso y talla similares.
- 3- Se le administro 0.4cc de mezclas, extractos, estándares, vehículo (jarabe simple), por vía oral aplicadas con una jeringa de 1ml.
- 4- Después de la aplicación de mezclas, extractos, estándares, vehículo (jarabe simple), se espero un lapso de tiempo de 20 min antes de dar inicio a la prueba.
- 5- se coloco del grupo de 5 ratones uno a uno en el eje que gira a 25rpm durante 5 min.
- 6- Las mediciones se tomaron a los 5, 45 y 90 min.



Laberinto en cruz elevado:

La prueba se lleva a cabo para evaluar la actividad ansiolítica de la droga en cuestión; y el fundamento radica en que los ratones son animales de hábito nocturno, por lo que se estima que permanecerán, preferentemente, en la “rama cerrada”. De esta manera, un aumento en los tiempos de permanencia en la



Fig.27

“rama abierta” implica un efecto ansiolítico-desinhibitorio de la droga.

Procedimiento:

- 1- Se tomo un grupo de 5 ratones wistar machos de edad, peso y talla similares.
- 2- Se le administro 0.4cc de mezclas, extractos, estándares, vehículo (jarabe simple), por vía oral aplicadas con una jeringa de 1ml.
- 3- Después de la aplicación de mezclas, extractos, estándares, vehículo (jarabe simple), se espero un lapso de tiempo de 20 min antes de dar inicio a la prueba.
- 4- se coloco del grupo de 5 ratones uno a uno en el centro de cruz elevada con respecto a nivel del suelo.
- 5- Se determino la cantidad de veces que el ratón ingresa a cada tipo de rama y tiempo que permanece en su interior en un periodo de 5 min



Campo abierto:

La prueba evalúa el efecto ansiolítico de la droga, el operador cuenta el número de líneas que cada ratón cruza en un tiempo determinado (generalmente 2 minutos o 5 minutos). A mayor número de líneas cruzadas respecto del control negativo más desinhibido está el ratón por efecto ansiolítico de la droga en estudio; mientras una caída notoria en el número de líneas atravesadas refleja una falta de movimiento de locomoción característica del efecto de sedación.

Procedimiento:

- 1- Se tomo un grupo de 5 ratones wistar machos de edad, peso y talla similares.
- 2- Se le administro 0.4cc de mezclas, extractos, estándares, vehículo (jarabe simple), por vía oral aplicadas con una jeringa de 1ml.
- 3- Después de la aplicación de mezclas, extractos, estándares, vehículo (jarabe simple), se espero un lapso de tiempo de 20 min antes de dar inicio a la prueba.
- 4- se coloco del grupo de 5 ratones uno a uno en el centro de la caja que contiene 30 líneas trazadas, medidas correctamente.
- 5- Se conto el número de líneas que cada ratón cruza en un tiempo de 5 min.



6. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

Tabla 9

TEST PLACA AGUJERADA MEZCLAS						
Agujeros explorados vs tiempo en minutos						
Muestra	0	1	2	3	4	5
Animales-Mezcla 1	0	1	3	3	4	2
Animales -Mezcla 2	0	1	3	3	3	3
Animales- Mezcla 3	0	1	4	3	2	2
Animales- Mezcla 4	0	2	3	4	3	3

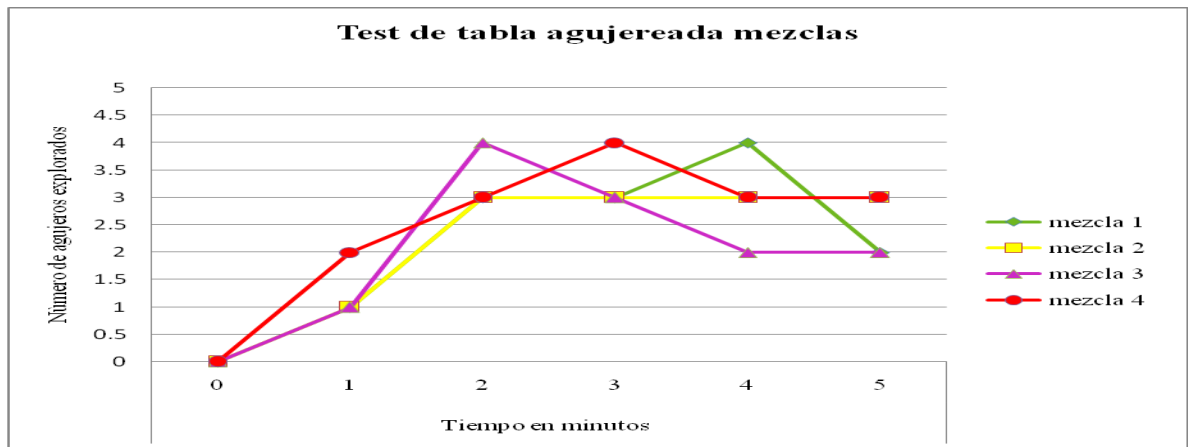


Gráfico N° 1

Análisis de resultados

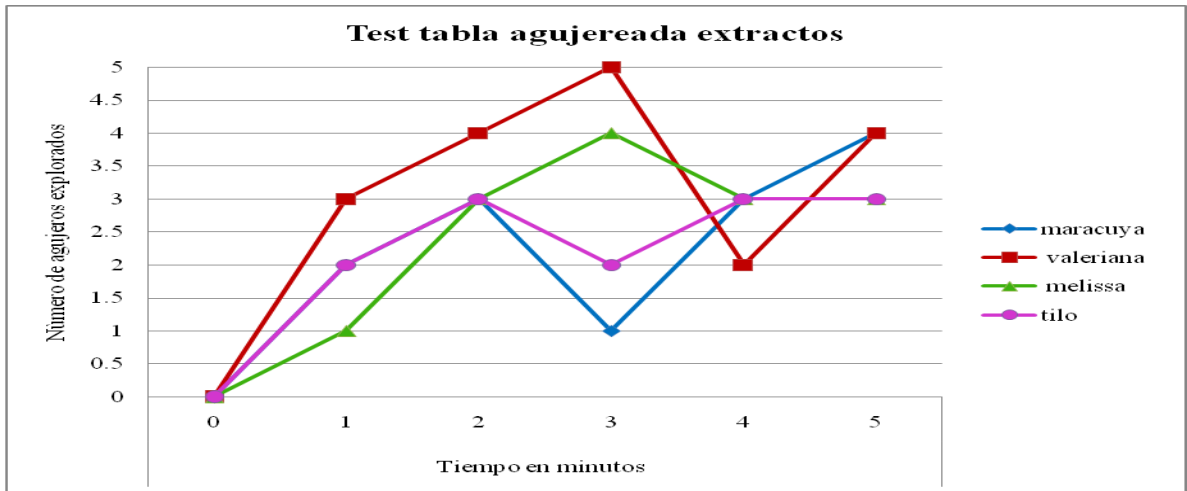
El gráfico 1 evidencia que las mezclas de extractos 1 (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 5:1:1:3), 3 (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:3:5:1) y 4 (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 3:1:1:5), muestran en común mayor número de agujeros explorados, para el tiempo intermedio de ensayo (2-4 min), no obstante para la mezcla 2 (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:5:3:1) el número de agujeros explorados permanece constante durante dicho tiempo de ensayo en los animales de experimentación, esto debido a que la mezcla 2 de extractos contiene mayor proporción de la especie tilo a la cual se le atribuye su efecto sedante por el contenido del flavonoide kaempferol (tilosol) y valeriana de la cual se ha reportado la presencia del ácido valérico (datos no publicados) en la especie *Vetiveria zizanoide* que de acuerdo a estudios actuales evidencian que esta especie contiene ácido valerénico y valepropiatos presentes igualmente en la especie *Valeriana officinalis* por lo cual ejerce el efecto sedante y la disminución del número de agujeros explorados por el animal en este test en comparación a las mezclas 1,3 y 4.



Tabla 10

TEST PLACA AGUJERADA EXTTRACTOS						
Agujeros explorados vs tiempo en minutos						
Muestra	0	1	2	3	4	5
Animales-Maracuyá	0	2	3	1	3	4
Animales- Valeriana	0	3	4	5	2	4
Animales- Melissa	0	1	3	4	3	3
Animales- Tilo	0	2	3	2	3	3

Grafico N° 2



Análisis de resultado

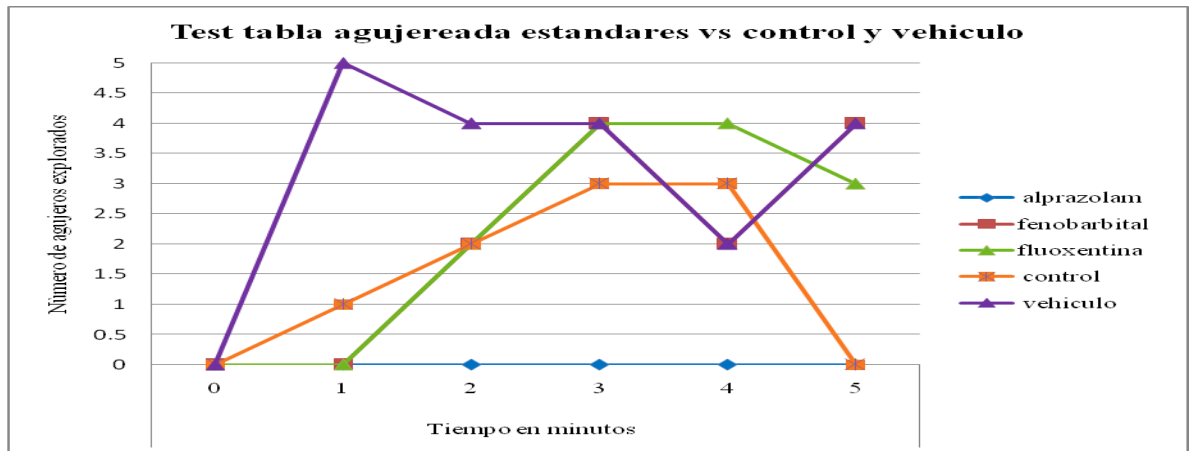
El grafico 2, evidencia que el extracto de Valeriana, posee el mayor numero de agujeros explorados seguido del extracto de melissa durante el tiempo intermedio de ensayo (2-4 min) ambos por encima de los extractos de maracuyá y tilo, de lo cual podemos aseverar que el extracto de valeriana no posee efecto sedativo como extracto individual al no contar con el efecto sinérgico que le brinda la especie de tilo descritas en las combinaciones del grafico 1, esto evidenciado por ser el extracto de tilo muestra la menor variación de agujeros explorados en los animales de experimentación, de lo que se deduce que la especie de tilo pose el mayor el efecto sedativo como único extracto por el flavonoide kaempferol (tilosol) presente en las inflorescencias.



Tabla 11

TEST PLACA AGUEJREADA ESTANDARES VS CONTROLY VEHICULO						
Agujeros Explorados vs Tiempo en minutos						
Muestra	0	1	2	3	4	5
Animales –control	0	1	2	3	3	0
Animales-vehículo	0	5	4	4	2	4
Animales - Std alprazolam	0	0	0	0	0	0
Animales – Std fenobarbital	0	0	2	4	2	4
Animales- Std fluoxentina	0	0	2	4	4	3

Grafico N° 3



Análisis de resultado

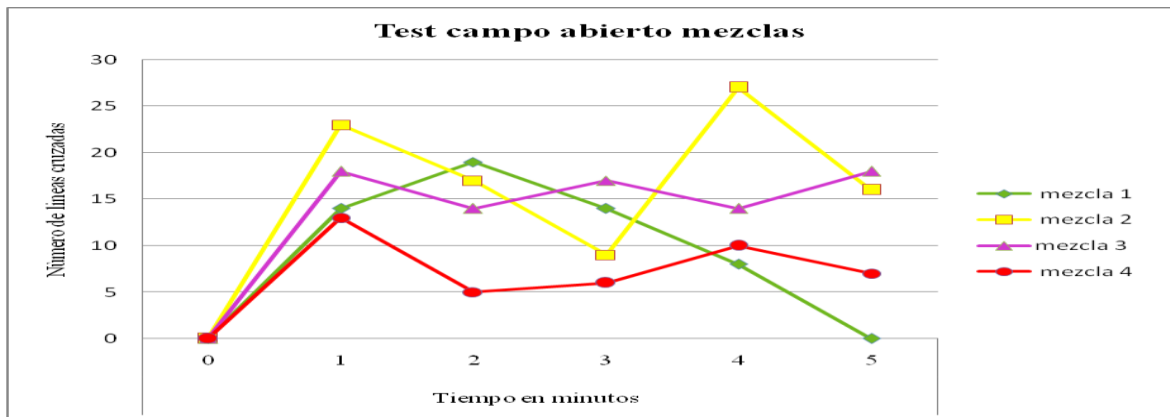
El grafico 3 evidencia que la solución estándar de alprazolam mostro actividad exploratoria nula, seguido de fenobarbital y fluoxentina, lo anterior basado en el efectivo poder sedante de la benzodiacepina (alprazolam) que produjo ataxia total y pérdida del sentido de orientación en el numero de agujeros explorados de los animales de experimentación superior al antidepresivo (fluoxentina) y el barbitúrico(fenobarbital). Igualmente se evidencia que el vehículo utilizado mostro la mayor cantidad de agujeros explorados lo anterior en base a que el vehículo utilizado es a base de sacarosa (jarabe simple 85%) y siendo que las elevadas concentraciones de glucosa en sangre elevan el transporte de dicho sustrato por sus correspondientes (transportadores de glucosa al cerebro Glut 4) que aumentan la actividad motora, lo cual difiere de los valores obtenidos de los animales de experimentación control que mostraron poca actividad exploratoria de agujeros en el test.



Tabla 12

TEST CAMPO ABIERTO MEZCLAS						
Tiempo en minutos Vs Numero de líneas cruzadas						
Muestra	0	1	2	3	4	5
Animales-Mezclas 1	0	14	19	14	8	0
Animales-Mezcla 2	0	23	17	9	27	16
Animales-Mezcla 3	0	18	14	17	14	18
Animales-Mezcla 4	0	13	5	6	10	7

Grafico N^o 4



Análisis de resultado

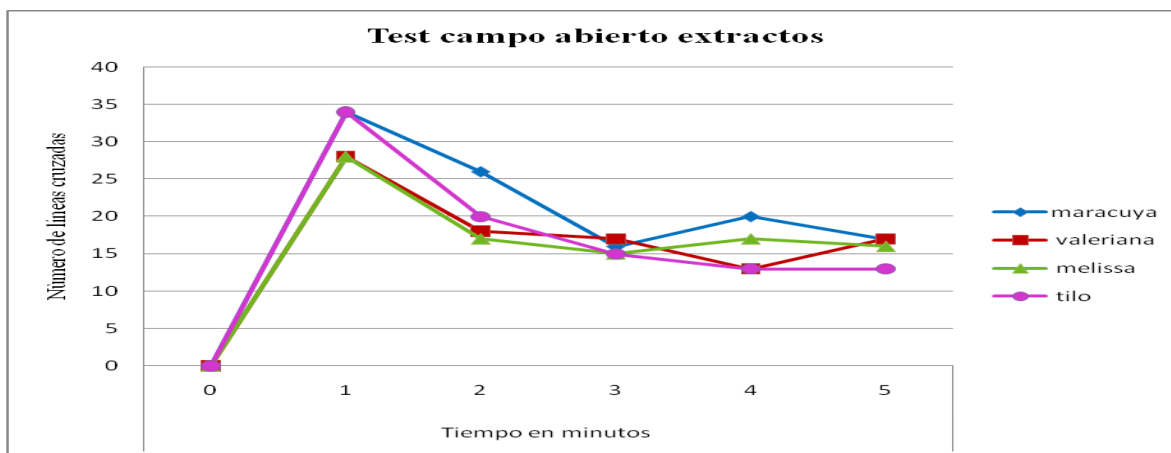
El grafico 4 evidencia que la mezcla dos (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:5:3:1) muestra el mayor número de líneas cruzadas en comparación con las mezclas uno (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 5:1:1:3), tres (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:3:5:1) y cuatro (Maracuyá -tilo –valeriana-Melisa 3:1:1:5), a su vez la mezcla tres evidencia la menor variación del número de líneas cruzadas mostrando a si superior grado de inhibición en la actividad locomotora en comparación a las mezclas uno, dos y cuatro, lo anterior considerando que la mezcla tres contiene mayor concentración de valeriana (*V.zizanooides*) de la cual se ha reportado contener la presencia de ácido valérico e isovalérico igualmente contenido en la especie *V.officinalis*, del cual este ultimo (ácido valérico) es conocido actúa como agonista de los receptores GABA_A, explica la actividad sedante de la valeriana (*V.zizanooides*).



Tabla 13

TEST CAMPO ABIERTO EXTRACTOS						
Tiempo en minutos vs Número de líneas cruzadas						
	0	1	2	3	4	5
Animales-Maracuyá	0	34	26	16	20	17
Animales-Valeriana	0	28	18	17	13	17
Animales-Melissa	0	28	17	15	17	16
Animales-Tilo	0	34	20	15	13	13

Grafico N° 5



Análisis de resultado

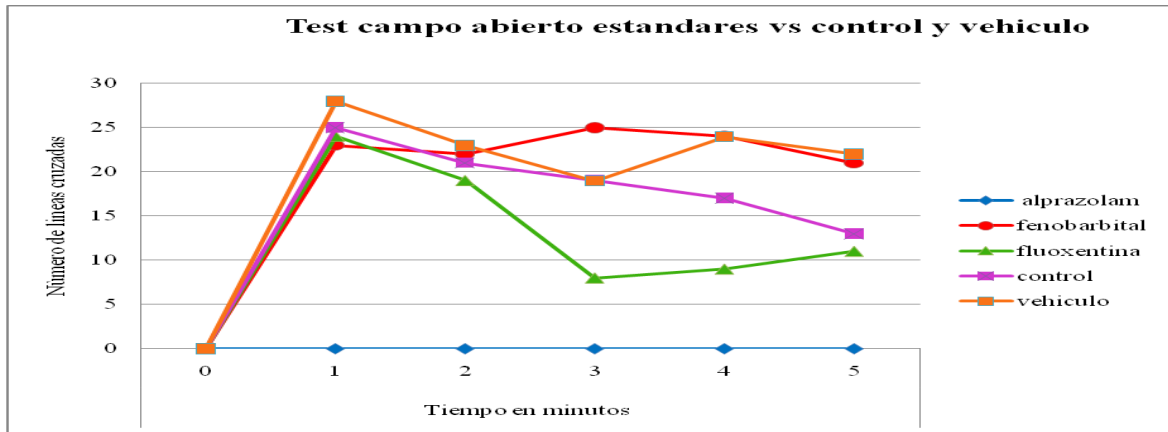
El gráfico 5, evidencia que los extractos de maracuyá y tilo poseen el mayor número de líneas cruzadas por los animales de experimentación en los primeros minutos de ensayo (0-2 min), posteriormente para el tiempo restante de ensayo (2-5min). La especie de tilo muestra decrecer en cuanto a lo medido por el test (Número de líneas cruzadas en función de actividad locomotora), mostrando así superior grado de inhibición en la actividad locomotora esto se explica en lo descrito en el gráfico 2 en cuanto la especie de tilo posee el mayor el efecto sedativo como único extracto en base al kaempferol al cual se le asocia actividad de tipo agonista sobre el receptor GABA similar a las benzodiacepinas.



Tabla 14

TEST DE CAMPO ABIERTO STANDARES VS CONTROL Y VEHICULO						
Tiempo en minutos vs Numero de líneas cruzadas						
	0	1	2	3	4	5
Animales-Alprazolam	0	0	0	0	0	0
Animales Fenobarbital	0	23	22	25	24	21
Animales-Fluoxentina	0	24	19	8	9	11
Animales-Control	0	25	21	19	17	13
Animales-Vehículo	0	28	23	19	24	22

Grafico N° 6



Análisis de resultado

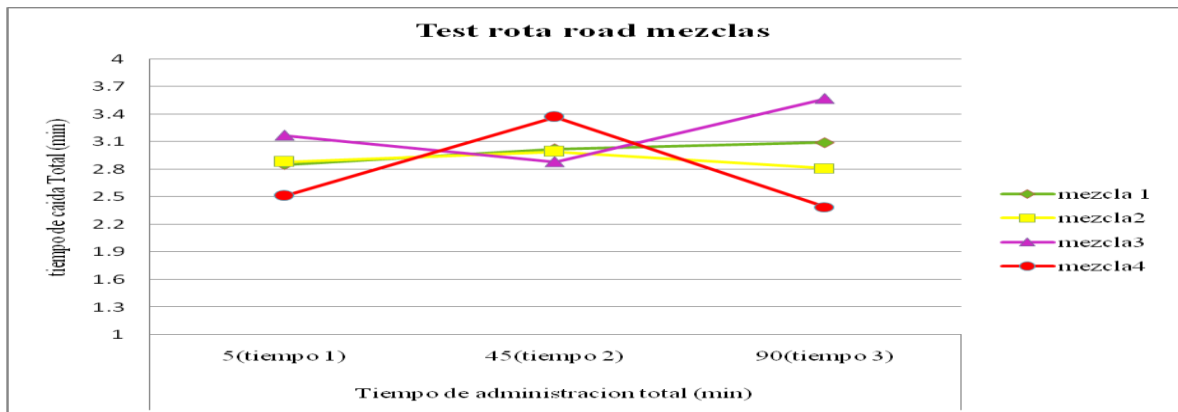
El grafico 6 evidencia que el estándar de la benzodiacepina (alprazolam) muestra inhibición total en cuanto al número de líneas cruzadas para el tiempo de ensayo (0-5 min) y para el caso del inhibidor selectivo de receptación de serotonina (fluoxentina) este mostro el mejor efecto inhibidor motriz verificable que el anticonvulsivante (fenobarbital) y el grupo de ensayo control y al que se le administro vehículo (jarabe simple). Lo anterior puede considerarse en base a que el efecto de alprazolam es aumentar de manera natural la acción del GABA , ejerciendo de esta forma una acción de inhibición en las neuronas que justifica la acción de sedación total en los animales de experimentación al unirse el receptor GABA alfa 1 sedativo, lo contrario a fluoxentina que produce bloqueo de la captación axonal de 5-HT (5-Hidroxitriptamina;receptores serotoninergicos), lo que produce aumento de la mayor concentración y disponibilidad de los neurotransmisores en la sinapsis, sin producir la sedación total que muestra la benzodiacepina.



Tabla 15

TEST ROTA ROAD MEZCLAS			
Tiempo de caída (min)	Tiempo de ensayo total (min)		
	5(tiempo 1)	45(tiempo 2)	90(tiempo 3)
Animal-Mezcla 1	2.85	3.02	3.09
Animal-Mezcla 2	2.88	2.99	2.81
Animal-Mezcla 3	3.17	2.88	3.57
Animal-Mezcla 4	2.51	3.37	2.39

Grafico N^o 7



Análisis de resultado

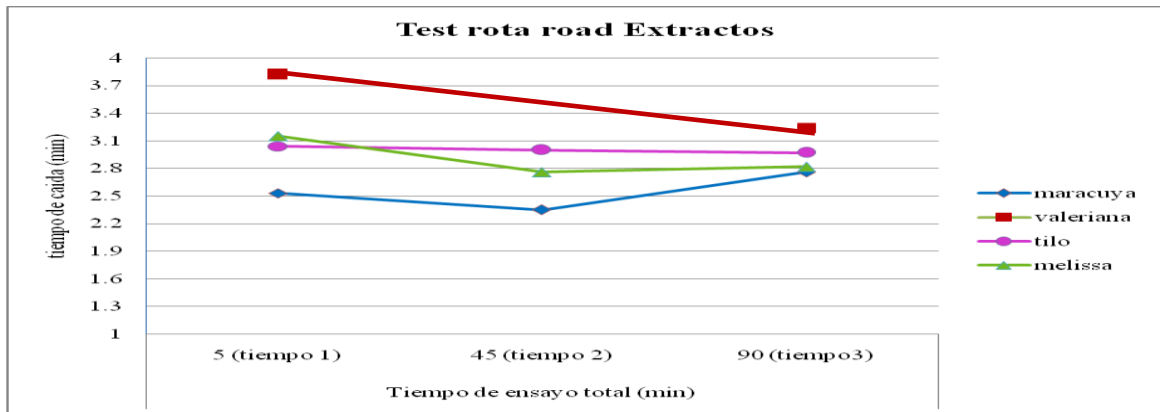
El grafico 7, evidencia que la mezclas uno (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 5:1:1:3) y dos (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:5:3:1) poseen efecto directo sobre el reflejo de equilibrio de los animales de experimentación en el tiempo de ensayo, al observarse que los tiempos de caída para dichas mezclas permanecen sin variación significativa (2.8- 3.1 min); y para el tiempo de ensayo (5-90 min), considerando que la mezcla uno posee mayor contenido de maracuyá y la mezcla dos mayor contenido de tilo de estas podemos indicar que de la especie de maracuyá el flavonoide crisina es responsable del efecto sedante, ya que su estructura química es propia de las sustancias afines a los receptores GABA-A además de presentar un alto contenido de alcaloides de tipo herman dichos compuestos poseen efecto espasmolíticos a nivel de músculo que disminuye la presión sanguínea lo cual se evidencio al verse afectada la coordinación y equilibrio de los animales, referente al tilo se atribuye actividad sedante al compuesto kaempferol descrito en el grafico 5, lo cual justifica que ambas mezclas (uno y dos) aumenten a si el tiempo de caída a diferencia de la mezclas tres (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:3:5:1) y cuatro (Maracuyá –tilo – valeriana-Melisa 3:1:1:5) que muestran variaciones para los tiempos de caída en mención .



Tabla 16

TEST ROTA ROAD EXTRACTOS			
Tiempo de caída (min)	Tiempo de ensayo total (min)		
	5(tiempo 1)	45(tiempo 2)	90(tiempo 3)
Animal-Maracuyá	2.53	2.35	2.76
Animal-Valeriana	3.82		3.24
Animal-Tilo	3.04	3	2.97
Melissa	3.15	2.76	2.82

Grafico N^o 8



Análisis de resultado

El grafica 8 evidencia que los extractos de tilo y valeriana mantienen tiempo de caidas sin variaciones para el tiempo de ensayo (5-90 min) en los animales de experimentacion demostrando que el efecto sedantes de ambas especies es análogo entre si como extractos individuales lo anterior se comprueba en los graficos 2, 5, a diferencia de las especies maracuya y melissa en los cuales los tiempos de caida muestran que para el tiempo de ensayo dos (45 min) se ve afectado el reflejo de equilibrio de los animales de experimentacion.

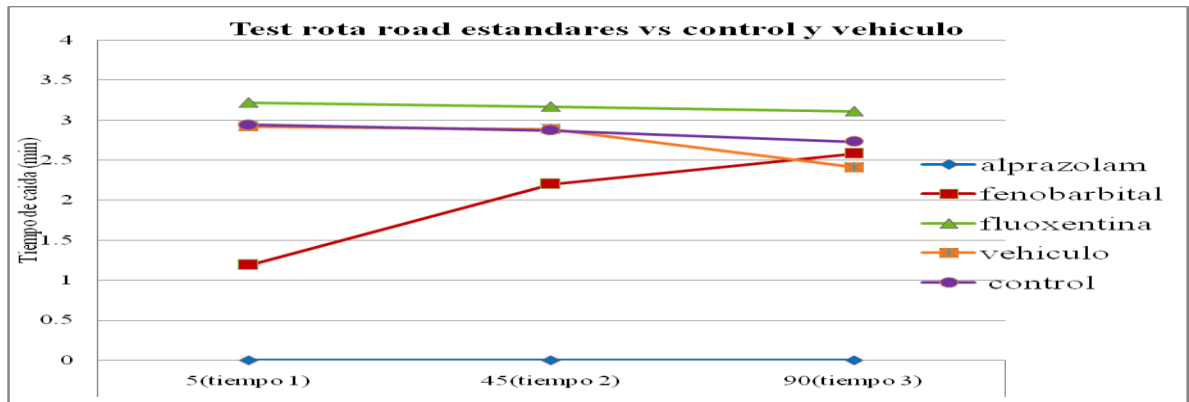


Tabla 17

TEST ROTA ROAD STANDARES VS CONTROL Y VEHICULO

	Tiempo de administracion (min)		
	5(tiempo 1)	45(tiempo 2)	90(tiempo 3)
Tiempo de caida (min)			
Alprazolam	0	0	0
Fenobarbital	1.19	2.2	2.58
Fluoxentina	3.22	3.17	3.11
Vehiculo	2.92	2.89	2.41
Control	2.94	2.87	2.73

Grafico N° 9



Análisis de resultado

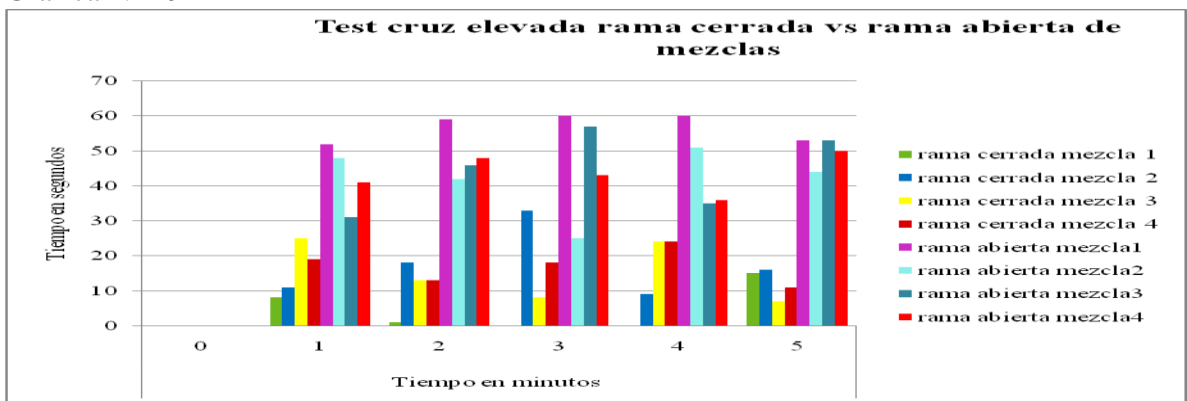
El grafica 9 evidencia la benzodiazepina (alprazolam) muestra un tiempo de caida nulo para los tres intervalos de ensayo, lo anterior justificado en que las benzodiazepinas son de accion corta y el efecto sedante mas ràpido y prolongado, puesto que la uniòn a las proteínas es de un 70%, superior a fluoxentina y fenobarbital lo que explica la sedaciòn total del grupo de estudio para la benzodiacepina; para el caso del anticonvulsivante (fenobarbital) este muestra el menor tiempo de caida para el tiempo 1 de ensayo, pero se equipara con el tiempo final de ensayo; con los grupos de estudio vehìculo, control y el inhibidor selectivo de la recaptaciòn de serotonina (fluoxentina) en los cuales los tiempos de caidas permanecen invariables para los tres intervalos de ensayos.



Tabla 18

TEST CRUZ ELEVADA VALORACION DE MEZCLAS													
Rama abierta	Tiempo en minutos						Rama cerrada	Tiempo en minutos					
	0	1	2	3	4	5		0	1	2	3	4	5
Mezcla 1	0	52	59	60	60	53	Mezcla 1	0	8	1	0	0	15
Mezcla 2	0	48	42	25	51	44	Mezcla 2	0	11	18	33	9	16
Mezcla 3	0	31	46	57	35	53	Mezcla 3	0	25	13	8	24	7
Mezcla 4	0	41	48	43	36	50	Mezcla 4	0	19	13	18	24	11

Grafica N^o 10



Análisis de resultado

En el grafico 10 se evidencia que la mezcla dos (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 1:5:3:1) Refiere la mayor permanencia en la rama cerrada mostrando así de acuerdo a lo apreciable por el test que los animales de experimentación no muestran temor ni ansiedad por las paredes de la maqueta, lo anteriormente dicho demuestra que el efecto sedante de ambas especies Tilo y Valeriana es sinérgico entre si evidenciando que los componentes de dichos extractos compuesto flavonico (kaempferol) y terpenos (acido valérico) poseen efecto directo sobre la conducta psicomotora del animal. Así mismo el grafico evidencia que la mezcla uno (Maracuyá –tilo –valeriana-Melisa 5:1:1:3) Refiere la permanencia en la rama abierta de los animales de experimentación los que se encuentran desinhibidos o en estado de ansiolisis, por lo que responde a condiciones del entorno, sin embargo la función cognitiva y la coordinación motora muestran estar atenuadas.

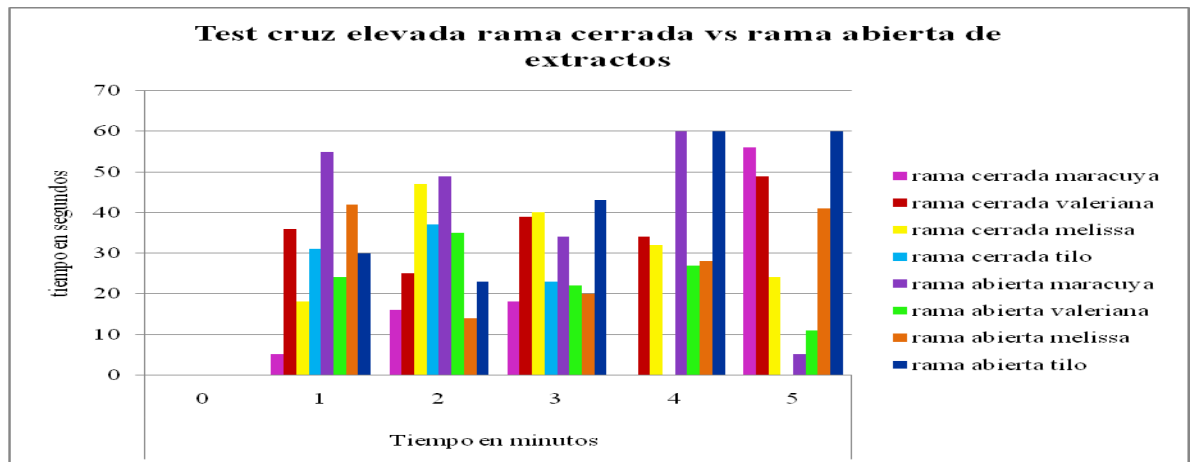


Tabla 19

TEST CRUZ ELEVADA VALORACION DE EXTRACTOS

Rama abierta	Tiempo en minutos						Rama cerrada	Tiempo en minutos					
	0	1	2	3	4	5		0	1	2	3	4	5
Maracuyá	0	55	49	34	60	5	Maracuyá	0	5	16	18	0	56
Valeriana	0	24	35	22	27	11	Valeriana	0	36	25	39	34	49
Melissa	0	42	14	20	28	41	Melissa	0	18	47	40	32	24
Tilo	0	30	23	43	60	60	Tilo	0	31	37	23	0	0

Grafico N^o 11



Análisis de resultado

El gráfico 11 evidencia que el extracto fluido de valeriana refiere la mayor permanencia en la rama cerrada administrado de los animales de experimentación en el tiempo de ensayo (1-5 min) mostrando acorde al test que estos se encontraban en un estado inhibido pues no demostraban temor ni ansiedad por explorar en las otras ramas de la cruz, la especie valeriana posee el mayor efecto sedativo lo que se justifica por la presencia del ácido valérico que actúa como agonista de los receptores GABA. Las especies melissa, tilo y maracuyá evidenciaron menor efecto que la especie anteriormente dicha. Los extractos de las especies maracuyá y tilo refieren la mayor permanencia en la rama abierta del test durante el tiempo de ensayo (1-5 min) lo que implica un efecto sedante-deshinibitorio de ambas especies dadas individualmente lo que demostro menor efecto sedativo en comparación con las especies valeriana y melissa lo que explica el comportamiento exploratorio y curioso de los animales de experimentación .

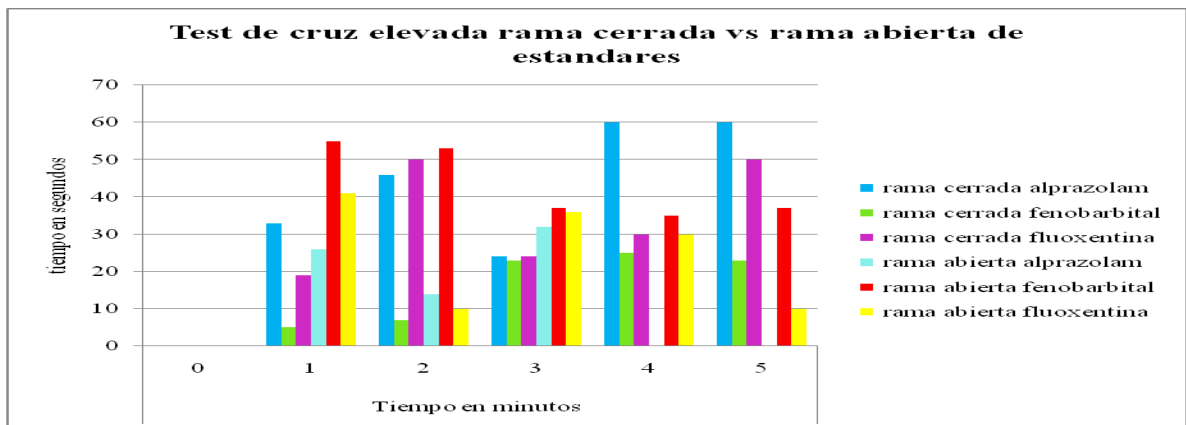


TABLA 20

TEST CRUZ ELEVADA VALORACION DE STANDERES

Rama abierta	Tiempo en minutos						Rama cerrada	Tiempo en minutos					
	0	1	2	3	4	5		0	1	2	3	4	5
Alprazolam	0	26	14	32	0	0	Alprazolam	0	33	46	24	60	60
Fenobarbital	0	55	53	37	35	37	Fenobarbital	0	5	7	23	25	23
Fluoxentina	0	41	10	36	30	10	Fluoxentina	0	19	50	24	30	50

Grafico N^o 12



Análisis de resultado

El gráfico 12 evidencia que el estándar de alprazolam (benzodiazepina) por su rápida absorción posee máximo efecto sedante en comparación a fenobarbital (anticonvulsivo) y fluoxentina (Inhibidor Selectivo de Receptación de Serotonina), lo que se demuestra con el tiempo máximo medible en el test de permanencia en la rama (60 segundos), para el tiempo de ensayo del test (5 min), en el cual el animal de experimentación muestra la inhibición en la ansiedad, temor y movimientos musculares. Sin embargo el estándar de fenobarbital (anticonvulsivo) refiere la mayor permanencia para los animales de estudio en la rama abierta de acuerdo a lo observado experimentalmente en el test, estos manifestaron una conducta ansiosa y excitable, de este último se conoce es un efecto adverso específico paradójico del estándar, por lo cual se apreció que los animales reflejaron un estado de vértigo y confusión.

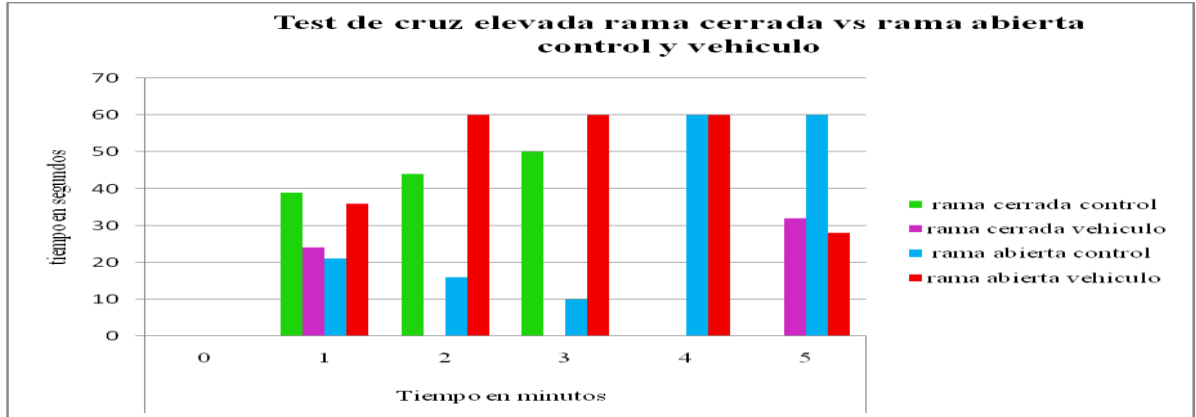


Tabla 21

TEST CRUZ ELEVADA VALORACION DE STANDERES

Rama abierta	Tiempo en minutos						Rama cerrada	Tiempo en minutos					
	0	1	2	3	4	5		0	1	2	3	4	5
Control	0	21	16	10	60	60	Control	0	39	44	50	0	0
Vehículo	0	36	60	60	60	28	Vehiculo	0	24	0	0	0	32

Grafico N^o 13



Análisis de resultado

El grafico 13 evidencia que el grupo de experimentación control tubo mayor permanencia en la rama cerrada en comparación al grupo al cual se le administro el vehículo (solución de jarabe simple) utilizado en el ensayo, lo que demuestra que este último grupo estuvo por más tiempo en la rama abierta de la cruz lo cual se justifica que la concentración de sacarosa en el vehículo potencia la actividad motora del animal y aumentan su hiperactividad.



7. CONCLUSIONES

En el presente trabajo concluimos:

En la presente investigación en la cual se valoro el efecto sedante de cuatro mezclas de extractos, en cuatro diferentes relaciones con factor base diez aplicándolo en ratones de la variedad *Wistar*, con test pertinentes, se concluye que la mezcla dos (Maracuyá –tilo – valeriana-Melisa 1:5:3:1) fue la más efectiva de acuerdo a las parámetros medidos disminución de capacidad motora, exploratoria, aversión a la rama, lo anterior en base al mayor contenido de las relaciones de *Vetiveria zizanoide* y *Tilia cordata*. Determinandose así que la relación entre dichas especies tienen un mayor efecto sedante y ansiolítico debido al efecto sinérgico entre los compuestos de ambas especies que actúan uniéndose al receptor GABA_A potenciando el efecto sedativo en lo animales de experimentación en comparación con las mezclas 1, 3.

A su vez el mejor efecto sedante evidenciado en la mezcla dos es medible con el estándar de referencia fluoxentina a razón de 0.4 cc administrados del estándar el cual demostró que posee un efecto moderado, esto al valorar los resultados de los test.



8. RECOMENDACIONES

- A las autoridades correspondientes velar por el acondicionamiento del área de ensayos del Bioterio como climatización de las áreas, que permitan evitar estrés en los animales de experimentación, para garantizar la calidad de resultados obtenidos en estudios de esta índole
- A futuros investigadores que garanticen que los animales de experimentación pertenezcan a la misma camada y reúnan los requisitos de edad, peso corporal y tallas similares para que se asegure la autenticidad de los resultados obtenidos durante la investigación.
- Continuar con investigaciones de especies vegetales medicinales para la validación de su utilidad, solas o en combinaciones con otras especies que posean efectos en común, que permitan determinar sinergismo entre especies como una alternativas fitomedicinal para personas de escasos recursos.
- Experimentar con otras vías de administración, concentraciones, relaciones de mezclas de extractos, dosis y tiempos de administración para valorar reacciones adversas producto de la administración de las mezclas de extractos.
- Evaluar el contenido de sólidos totales extraídos que garanticen en investigaciones de Screening biológicos la veracidad de los resultados obtenidos en las especies ensayadas.



9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Claudia Lucía Roca Berreondo. Universidad De San Carlos De Guatemala (2005). Evaluación comparativa de la acción sedante e hipnótica de un elixir fitoterapéutico y la combinación de las plantas originales. Obtenido de:

[http:// biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2371.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2371.pdf)

Ada Raquel Cruz de Paz. . Universidad De San Carlos De Guatemala (2005). Evaluación de la Actividad Biocida e Identificación Química de Valepotriatos en tres plantas reconocidas popularmente en Guatemala como Valeriana. Obtenido de:

http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2286.pdf

Nazrul Islam Bhuiyan, Jasim Uddin Chowdhury and Jaripa begum. (2008). Essential oil in roots of *vetiveria zizanioides* (L.) nash ex small from Bangladesh, 37(2), 213-214. Obtenido de:

<http://www.banglajol.info/index.php/BJB/.../1646>

Wikipedia es una marca registrada de la fundación wikimedia, Inc. Passiflora edulis

http://es.wikipedia.org/wiki/Passiflora_edulis

<http://www.botanical-online.com/medicinalspassiflora.htm>

<http://www.botanical-online.com/medicinalspassiflora.htm>

fichas.infojardin.com/.../tilia-cordata-tilo-de-hoja-pequena-tilo-silvest...

revuyon.lacoctelera.net/post/.../la-melisa-o-toronjil-melissa-officinalis...

revuyon.lacoctelera.net/post/.../la-melisa-o-toronjil-melissa-officinalis

Sharapin N.(2000). Fundametos de tecnología de productos fitoterapeuticos. CYTED (Organización). Sub programa de química fina farmacéutica, Convenio Andrés Bello (organización). Obtenido de:

http://books.google.com.ni/books/about/Fundamentos_de_tecnolog%C3%ADa_de_productos.html?id=XH2HzSIJPwC&redir_esc=y

Asociación Española para la cultura, el arte y la Educación (ASOCAE O.N.G.D) naturaleza educativa. Usos y técnicas secado y conservación.

http://www.natureduca.com/med_usos_secado.php

Técnicas de extracción, Modificadas y consultadas (3 abril2011).

<http://pirata43.blogspot.com/2011/10/tecnicas-de-extraccion-con-disolventes.html>

Quality Handcrafted Portuguese Copper Alembic Stills. Métodos de extracción

http://www.copper-alembic.com/essentials_methods.php?lang=es



F.A.Q. Animales de experimentos

<http://www.altarriba.org/viviseccion/faq.htmviviseccion>

Grupo de modelos experimentales para ciencias zoológicas de la universidad del tolima
derechos reservados (s.f).

<http://neurocienciaut.jimdo.com/bioterio>

Maceración. Modificado y consultado (15 marzo 2011)

<http://es.wikipedia.org/wiki/Maceraci%C3%B3n>

wikipedia es una marca registrada de la fundación Wikimedia, Inc. *Rattus*

<http://es.wikipedia.org/wiki/Rattus>

wikipedia es una marca registrada de la fundación Wikimedia, Inc. *Ratones de laboratorio*

[http://es.wikipedia.org/wiki/Ratones de laboratorio](http://es.wikipedia.org/wiki/Ratones_de_laboratorio)

wikipedia es una marca registrada de la fundación Wikimedia, Inc. *Raton de laboratorio*

[http://es.wikipedia.org/wiki/Raton de laboratorio](http://es.wikipedia.org/wiki/Raton_de_laboratorio)

Guerrero Olvera Ma. Eugenia. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. (2006),
Determinación del perfil farmacológico de compuestos derivados de las benzodiazepinas
como sedante-hipnótico, anticonvulsivo, ansiolítico y relajante muscular.

<http://www.148.206.53.231/UAMI13420.pdf>

D. A. Miranda, C. A. Conde, C. C. Celis, S. P. Corzo. (2009). Modelado del
Comportamiento de Ratas en Laberinto en Cruz Elevado Basado en Redes Neuronales
Artificiales, vol.41-2, 406-408.

Gorry Eduardo (2008). Revisión de los efectos ansiolíticos sedante e hipnótico del tilo

<http://www.biol.unlp.edu.ar/farmacologia/Utiles/Tilo.pdf>

<http://www.docencia.izt.uam.mx/ferm/uueeaa/material...pdf/jarabes.pdf>

Farmacia Práctica. (2004). Elaboración de jarabes, vol. 23-6

http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet?_f=38...pdf... - España

http://www.puntofocal.gov.ar/notific_otros_miembros/gtm64_t.pdf

Villares Amelia, universidad de nacional de Trujillo, Farmacología de las plantas
medicinales.

<http://www.bvsde.paho.org/texcom.manualesMec/fitoterapeutica>



10. ANEXOS



Fig. 1 Recolección



Fig.2 Secado



Fig.3 Trituración



Fig.4 Maceración



**Fig. 5 Evaporación de solvente
Rota vapor**



Fig.6 Preparación de extracto



Fig. 5 preparaciones de mezclas



Fig. 6 pesada de estándares



Fig. 7 preparaciones de estándares



Fig. 8 Preparación de placebo



Fig.9 Grupo de estudio



fig. 10 Pesada de ratones



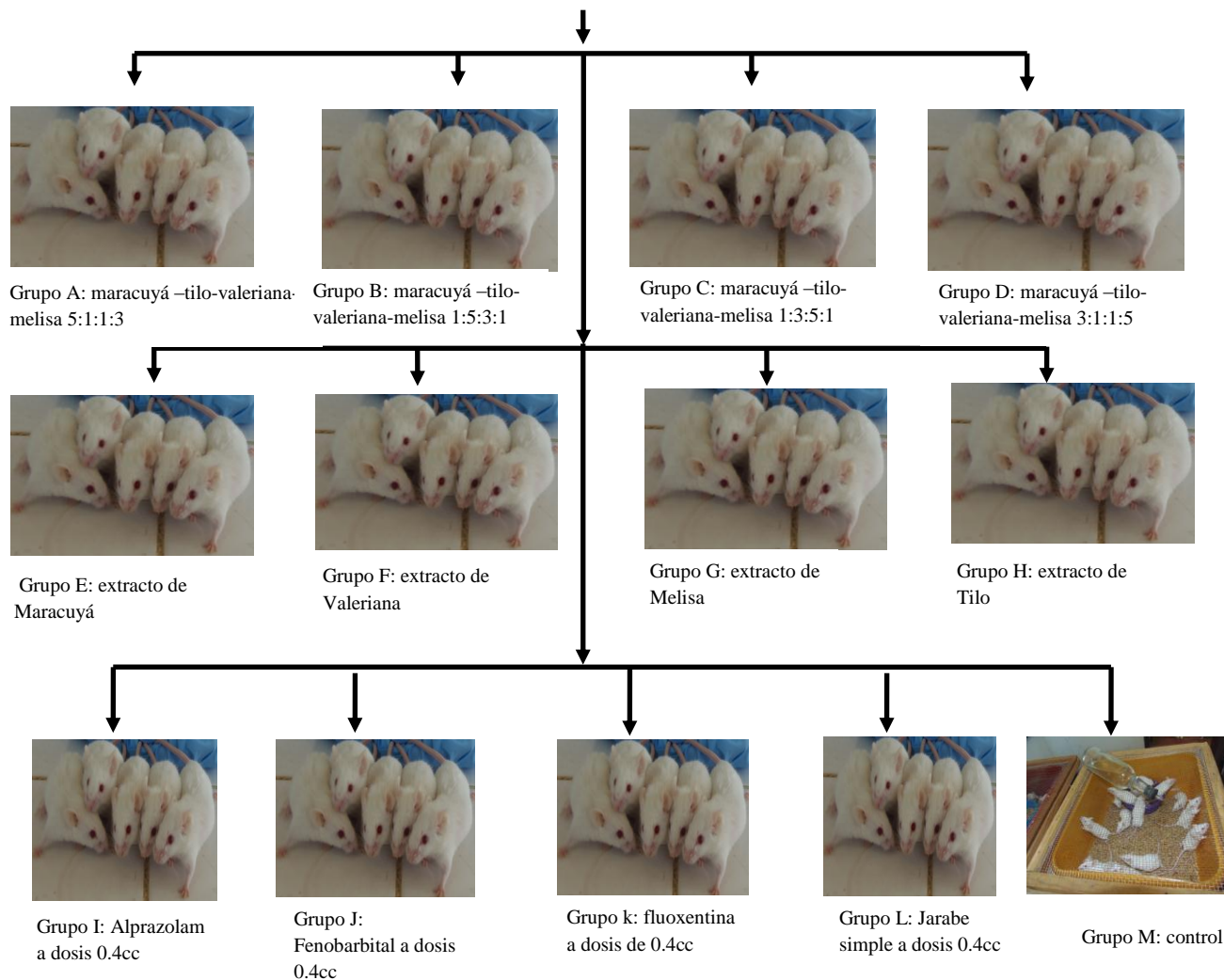
Fig. 10 Talla de los ratones



Esquema de grupos de ratones de estudio



Grupo de estudio 80 ratones Wistar
A dosis de 0.4cc





CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES																																
	Abril				Mayo				Junio				Julio				Agosto				Septiembre				Octubre				noviembre			
	Semanas																															
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2		
Revisión bibliográfica	■	■	■	■																												
Elaboración de protocolo					■	■	■	■																								
Ubicación e identificación de las especies					■	■																										
Recolección material vegetal					■	■																										
Lavado material vegetal					■	■																										
Secado material vegetal									■	■	■																					
Triturado del material vegetal												■	■																			
Preparación de los extractos													■	■	■	■																
Preparación de animales de experimentación	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																				
Ensayo																	■	■	■	■												
Procesamiento de datos																									■	■	■	■				
Elaboración de informe final																													■	■	■	■