

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
INSTITUTO DE FARMACOLOGÍA**

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DE *Justicia pectoralis*  
SOBRE LA CONDUCTA DE RATAS, EN LA PRUEBA DE LABERINTO EN  
CRUZ ELEVADO ASIMÉTRICO Y TIEMPO DE SUEÑO INDUCIDO  
POR PENTOBARBITAL SÓDICO.**

Memoria de Título presentada como parte  
de los requisitos para optar al **TÍTULO  
DE MÉDICO VETERINARIO.**

**DELIA PAOLA ALARCÓN MERCADO  
VALDIVIA – CHILE  
2005**

PROFESOR PATROCINANTE : **Dr. Marcos Moreira E.**  
Nombre Firma

PROFESOR COPATROCINANTE : **Dr. Frédérick Ahumada M.**  
Nombre Firma

PROFESOR COLABORADOR : **Dra. Viviana Bustos S.**  
Nombre Firma

PROFESORES CALIFICADORES : **Dr. Rafael Burgos A.**  
Nombre Firma

**Dr. Renato Gatica G.**  
Nombre Firma

FECHA DE APROBACIÓN : **8 de abril de 2005.**

*Con cariño  
A mi mamá, familia  
y amigos.*

## ÍNDICE

	Páginas.
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	18
DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES.....	30
BIBLIOGRAFÍA.....	31
ANEXOS.....	36
AGRADECIMIENTOS.....	41

### 1. RESUMEN.

#### **“Efecto de la administración de extracto de *Justicia pectoralis* sobre la conducta en ratas, en la Prueba de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico y Tiempo de Sueño Inducido por Pentobarbital sódico.”**

Se estudió el efecto del extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* sobre el Sistema Nervioso Central de ratas, mediante la realización de las pruebas de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico y Tiempo de Sueño Inducido por Pentobarbital Sódico.

Se utilizaron 45 ratas machos de la cepa Sprage-Dawley, distribuidas al azar en 3 grupos de 15 animales cada uno. La distribución de los grupos fue la siguiente:

- 1) Agua destilada, en un volumen de 0,5 ml/100g. Vía oral.
- 2) Diazepam al 0,02%, en dosis de 1 mg/kg., en un volumen de 0,5 ml/100g. Vía oral.

3) Extracto hidroalcohólico al 2% de *Justicia pectoralis*, en dosis de 100 mg/kg., en un volumen de 0,5 ml/100g. Vía oral.

Las ratas previamente fueron sometidas a un ayuno de 24 horas. Posteriormente se realizaron las pruebas de comportamiento en forma individual, la rata fue colocada sobre la plataforma central del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico para observar su conducta por un tiempo de 5 minutos, registrando el número de intromisiones y tiempo de permanencia en los distintos brazos. Posteriormente se le administró Pentobarbital Sódico al 0,15% intraperitonealmente, la dosis utilizada fue de 15 mg/kg., y después se realizó la Prueba de Tiempo de Sueño Inducido registrando las duraciones del tiempo de latencia para hipnosis, hipnosis, narcosis y la depresión total.

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas realizadas es posible concluir que el extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* en la dosis usada en la prueba del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico no se presentaron evidencias estadísticamente significativas en las variables cuantitativas ( $p < 0,05$ ), con excepción del head-dipping, lo que indica que el extracto de *Justicia pectoralis* no provoca un efecto ansiolítico. En la Prueba de Tiempo de Sueño Inducido por Pentobarbital Sódico se determinó que el extracto de *Justicia pectoralis* produce depresión a nivel del Sistema Nervioso Central.

Palabras claves: *Justicia pectoralis*, ratas, Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, ansiedad, Pentobarbital Sódico.

## 2. SUMMARY.

### **“Effect of the administration of *Justicia pectoralis* extract in rats conduct using Elevated Asymmetric Plus Maze and sodium pentobarbital Induced Sleeping Time.”**

The effects of *Justicia pectoralis* extract on the Central Nervous System of rats were studied, by testing in Elevated Asymmetric Plus Maze and Sleeping Time Induced with sodium pentobarbital.

Forty-five Sprage-Dawley male rats were used, and distributed randomly in three groups of 15 animals each. The distribution was as follows:

- 1) Distilled water, a volume of 0,5 ml/100 g of body weight, p.o.
- 2) Diazepam 0,02%, in doses of 1 mg/kg., and in volume of 0,5 ml/100 g of body weight, p.o.

3) Hidroalcoholic extract of 2% of *Justicia pectoralis*, in doses of 100mg/kg., and in volume of 0,5 ml/100 g of body weight, p.o.

Previously to the experiment, the animals were fasted for 24 hours. Then, individual tests behaviors were applied. Each rat was put in the center pad of an elevated asymmetric plus maze in order to watch and record its behavior during the next five minutes, registering the number of entries and time spent in the different arms. Finally, sodium pentobarbital 0.15% a dose of 15mg/kg was administrated to each rat to carry out the sleeping time induced test and register: Time of beat period for hypnosis, hypnosis, narcosis and total depression.

According to the results obtained, it can be concluded that *Justicia pectoralis* extract in the doses administrated did not show statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) on the order hand, when in the elevated asymmetric plus maze test was applied non was observed, with exception of the head-dipping, indicating that *Justicia pectoralis* extract does not cause an ansiolitic effect in rats. When the sleeping time induced with sodium pentobarbital test was applied, the effects of *Justicia pectoralis* extract determined that it depresses the Central Nervous System.

Keywords: *Justicia pectoralis*, Rats, Elevated Asymmetric Plus Maze, Anxiety, Pentobarbital sodium.

### 3. INTRODUCCIÓN

La “Fitoterapia” es un término griego (Phytos: planta y Terapia: tratamiento), que corresponde a la ciencia del tratamiento de las enfermedades por medio de las plantas o sustancias vegetales (Montes y Wilkomirsky, 1985; Briones, 1990).

La OMS define como planta medicinal a aquel vegetal que contiene en uno o más de sus órganos sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o que son precursores de hemisíntesis químico farmacéutico (Montes y Wilkomirsky, 1985).

Los primeros medicamentos utilizados por el hombre para aliviar el sufrimiento físico y curar las enfermedades fueron las plantas, muchas de las cuales por sus propiedades curativas están actualmente en uso (Montes y col., 1992). Las civilizaciones antiguas (China, Egipto, India) poseían obras completísimas sobre el uso de plantas medicinales para el

tratamiento de distintas enfermedades (Montes y Wilkomirsky, 1985; Booth y McDonald, 1988; Hoffman y col., 1992).

Durante el siglo XIX el uso de las plantas medicinales fue perdiendo adeptos. En Chile disminuyó considerablemente, a fines de los años 40 desde que comenzó la elaboración industrial de medicamentos (Medina, 1998). Los productos sintéticos, a pesar de ser muy efectivos para atacar las enfermedades pueden provocar efectos secundarios no deseados. Generando desde la década de 1980 un movimiento popular encaminado a volver a lo natural en detrimento de los productos sintéticos (Hoffman y col., 1992; Sharapin, 2000).

El principal fundamento de la fitoterapia es su baja toxicidad, lo que permite tratamientos prolongados. No obstante se debe tener presente que el uso inadecuado de ésta puede provocar efectos secundarios (Pastene, 1998). En algunos casos el único medicamento a emplear es el sintético, tratándose entonces de dos opciones complementarias (Hoffman y col., 1992).

Es reconocido que las propiedades medicinales de las plantas residen en la presencia de principios activos (CETAL, 1993). Cuando es utilizada una planta medicinal o sus preparados farmacéuticos, que se denominan fitocomplejos o principios activos, no se trata de un compuesto químico puro, sino de un conjunto de constituyentes propios de la planta, responsables del efecto terapéutico buscado, que es imposible de reproducir mezclando sus componentes en forma aislada (Montes y Wilkomirsky, 1985). Muchos principios activos son sumamente complejos, en algunos casos aun se desconoce su naturaleza química; otros han sido aislados, purificados e incluso sintetizados (Thompson, 1981). La mayoría de los principios activos pueden clasificarse en dos grandes grupos, alcaloides y flavonoides, uno u otro son componentes mayoritarios en las plantas y de una u otra manera determinan su acción (Montes y Wilkomirsky, 1985; Hoffman y col., 1992).

La medicina natural ha sido empleada en animales en forma paralela al desarrollo de la medicina humana (Booth y McDonald, 1988).

Las plantas medicinales utilizadas como materia prima para la producción de extractos o para el aislamiento de sustancias naturales puras representan un área en expansión. En la actualidad, las plantas medicinales representan cerca del 25% del total de las prescripciones médicas en los países industrializados; en los países en desarrollo el uso de las plantas medicinales representa el 80% del arsenal terapéutico; debido a que los costos de los medicamentos patentados son elevados e inaccesibles para los estratos más pobres de muchos países del mundo, por lo que recurren a la compra de plantas medicinales a un menor costo (Sharapin, 2000).

Existe un renovado interés a nivel mundial por la utilización de las plantas medicinales validadas científicamente, para integrarlas a los sistemas de salud e introducirlas al mercado nacional e internacional mediante la comercialización. Gran importancia alcanzan en este sentido, los estudios encaminados a establecer las tecnologías de cultivo que permitan producir las especies de forma sostenible, la comprobación de sus propiedades y mínimo

riesgo de toxicidad, así como aspectos tan importantes como la legalización y normalización de las drogas vegetales (Sánchez y col., 2003).

Es por esto que la Red Iberoamericana de Validación de Plantas Medicinales (RIVAPLAMED) de CYTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo) tiene por objetivo reunir recursos humanos y validar protocolos científicos para la validación pragmática de efectividad y toxicidad de plantas medicinales de uso popular, aumentando su valor agregado y posibilitando la exploración de su potencial terapéutico en Salud Pública Regional (CYTED, 2001).

Actualmente CYTED desarrolla un Subprograma X “Química Fina Farmacéutica”. Proyecto de Investigación X-8 “Obtención de Medicamentos innovadores con actividad ansiolítica/antidepresiva a partir de Plantas Medicinales Iberoamericanas Validadas” al cual pertenece este estudio.

### 3.1. *Justicia pectoralis*

*Justicia pectoralis* Jacq., variedad *stenophylla* Leonard pertenece al phylum Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, orden Scrophulariales, familia Acanthaceae, y su sufijo químico es Jacquín. Con los nombres de tilo, tila, carpintero y té criollo, la población cubana identifica a *Justicia pectoralis* Jacq., siendo una pequeña hierba de amplia utilización popular, como medicina para el tratamiento principalmente de afecciones nerviosas (Rodríguez y col., 2003).

*Justicia pectoralis* es nativa de América tropical, se presentan espontáneamente o son cultivadas, es frecuentemente encontrada en México, Venezuela, Trinidad y Tobago, Cuba, Jamaica, Oeste de Ecuador, Norte y noreste de Brasil (Oliveira y Andrade, 2000). Siendo conocida en algunos de estos países como Trevo-cumaru (Brasil: Amazonas); Yakayú (Colombia: Puinaves); Patco (Perú); Yerba carpintero, Curia, Camaguari (Venezuela)<sup>1</sup>.

Es una hierba olorosa que puede alcanzar aproximadamente 30 cm. de altura, de ramas delgadas, rastreras y ligeramente engrosadas en los nudos, presenta un tallo cilíndrico de color verde y abundantes pelos. Tiene hojas simples de color verde más intenso por la cara superior, lanceoladas, opuestas transversalmente, de base estrecha y ápice agudo, pueden medir de 4,5-6,5 cm. de largo y 1,0-1,5 cm. de ancho, con el pecíolo corto. Además presenta inflorescencia terminal erecta con numerosas flores pequeñas de color rosado; el fruto es una cápsula pequeña de color marrón (Oliveira y Andrade, 2000; Sánchez y col., 2003) (Anexo 1).

En relación con su micromorfología; el raspado epidérmico mostró células epidérmicas del envés irregulares, abundantes estomas diacríticos y pelos glandulares con cabezas, mientras la epidermis del haz está formada por células más sinuosas y con un número escaso

---

<sup>1</sup>[http://www.siamazonia.org.pe/Publicaciones/2003/Junio/Amazon%C3%ADa\\_biod\\_com\\_des/libros/28/28000007.htm#15](http://www.siamazonia.org.pe/Publicaciones/2003/Junio/Amazon%C3%ADa_biod_com_des/libros/28/28000007.htm#15) (Revisado: 18 de Agosto, 2004).



de estomas diacríticas, además de presentar el mismo tipo de pelo. En los cortes transversales practicados a las hojas se observa en la zona del nervio medio células epidérmicas con cutícula fina, colénquima debajo de ambas epidermis y haces conductores colaterales cerrados, destacándose uno central más grande. En la zona de los semilimbos en posición subepidérmica se observa parénquima en empalizada de una capa de células que atraviesa toda la zona del nervio medio (Sánchez y col., 2003).

Se pueden plantar en cualquier época del año, pero preferentemente, en la época de lluvias y se emplean estacas de tallo con 4 a 5 nudos donde se propaga. El cultivo se debe realizar a pleno sol, ya que en la sombra, a pesar de que se obtiene mayor desarrollo foliar, no se acumula cantidad satisfactoria de cumarinas, que son el principio activo de la especie. La humedad debe ser constante, pero no excesiva. Admite varios cortes de follaje durante el año<sup>2</sup>.

Químicamente *Justicia pectoralis* se compone principalmente de:

- Cumarinas; son sugeridas por varios autores como las sustancias responsables de la actividad fitoterapéutica. Siendo identificadas 1,2-benzopirona y umbelliferona (ésta última es el constituyente más activo de *Justicia*), como los principales constituyentes, encontrándose mayoritariamente en las hojas de la planta (Lino y col., 1997; Oliveira y Andrade, 2000).

Otro análisis de extractos de *Justicia pectoralis* Jacq., permitió la identificación, entre otros compuestos, de derivados de cumarina; dihidrocumarina, 7-hidroxycumarina (umbelliferona) y ácido 3-(2-hidroxyfenil) propiónico; los ácidos y los compuestos fenólicos fueron derivados de las cumarinas simples, los ácidos fenilpropiónico y sus isómeros hidroxilados fueron identificados después de ser derivados por medio de metilación; éstos resultados pueden ser útiles para la identificación y cuantificación de éstos compuestos en otro material biológico (De Vries y col., 1988).

Las cumarinas poseen propiedad anestésica, hipnótica, narcótica y sedativa entre otras<sup>3</sup>. Otros estudios demuestran su efecto analgésico, antiinflamatorio (actuando a nivel de macrófagos estimulando la fagocitosis), depresor central y periférico, espasmolítico, vasodilatador y antimicótico (Lino y col., 1997).

- Flavonoides; derivados de kanferol, rutina, quercetina, y apigenina (Sánchez y col., 2003).
- Beta-Carotenos; poseen actividad como antiestrés<sup>4</sup>.
- Vitaminas; Ácido ascórbico (C) con propiedades analgésicas, antidepresivas, antimigraña, antiparkinson. Complejo de vitaminas B: Niacina (B<sub>3</sub>); que presenta propiedades anticonvulsiva, antiepiléptica, antiinsomnio, antineurálgico, antiparkinson, sedativas y

<sup>2</sup><http://gobiernoenlinea.ve/Miscelaneas/manualdeorganoponicosyhuertosintensivos.doc> (Revisado: 26 de Abril, 2004).

<sup>3, 4, 5</sup><http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/farmacy2.pl>. (Revisado: 26 de Abril, 2004).

serotoninérgicos entre otras. Tiamina (B<sub>1</sub>); posee actividad de analgésico, antialzheimer, antianoréxico, antifatiga, antimigraña, antineurálgico, antineuropático entre otras<sup>5</sup>.

- Lignanos; las especies de *Justicia* son conocidas por su contenido de lignanos, se han obtenido justicidin B (asociado con actividad antidepresiva y antiarrítmica), swertisin, 2''-O-rhamnosylswertisin, O-methoxilated C-glicosilflavonas entre otros (Joseph y col., 1988 b).
- En cuanto a las cenizas totales; se encontraron valores altos comparados con las concentraciones de algunos iones que informan otros autores para esta especie, entre los que se encuentran calcio, cobre, magnesio, manganeso, aluminio, sodio, níquel, escandio y vanadio. Además, contiene azúcares reductores, carotenos, triterpenos y/o esteroides en menor cantidad (Sánchez y col., 2003).

La primera referencia de *Justicia pectoralis* con relación al papel desempeñado por las hojas del género *Justicia* como integrante de preparaciones alucinógenas sudamericanas fue publicada en 1967 en Sudamérica (Evans, 1990).

El uso de *Justicia pectoralis* variedad *stenophylla* en relación con la adición al rapé de *Virola* y también como el ingrediente único de un rapé fue investigado. Los extractos de la planta no contuvieron los alcaloides, aunque el compuesto ubicuo, betaina, fue aislado debido a su reacción con los reactivos del alcaloide. Los extractos no tenían un efecto significativo sobre el comportamiento grueso u aumentando la actividad motora espontánea en ratones. Siendo la cumarina y la umbelliferona componentes importantes de la planta debido a su capacidad de relajar el músculo liso (MacRae y Towers, 1984).

Aunque otros autores sostienen en revelar la presencia de pequeñas cantidades de triptaminas (alcaloides), lo que sería una fuerte evidencia del principio alucinógeno de esta especie. Mientras que otros justifican su uso como alucinógena, en que probablemente el agradable olor que tienen las cumarinas, es la causa principal de la utilización de esta especie en rapés alucinógenos por tribus indígenas de las amazonas de Brasil y de Venezuela. (Oliveira y Andrade, 2000).

Las infusiones de toda la planta son usadas por los indios Puinave para tratar infecciones pulmonares. En América central y en las indias occidentales son usadas para aliviar la tos, como un expectorante, antiasmático y sudorífico. Los efectos biológicos de ésta planta en enfermedades respiratorias está asociado con su actividad antibacterial (Joseph y col., 1988 a; Lino y col., 1997).

*Justicia pectoralis* Jacq tiene un amplio espectro en cuanto al tratamiento de diversas afecciones, entre las que podemos citar de forma selectiva las siguientes: curación de heridas, golpes y úlceras, enfermedades nerviosas y digestivas (Pérez y col., 2001). Esta planta es usada en la medicina popular para controlar dolores e inflamaciones (Oliveira y Andrade, 2000).

---

El alto porcentaje de compuestos polifenólicos en su composición, hace suponer que presenta además una actividad antioxidante. Este hecho sería de gran importancia teniendo en cuenta el interés creciente que ha despertado el estudio de la influencia de las especies reactivas del oxígeno (ERO) en los procesos biológicos y más aún en la medicina. Pérez y col., (2001) se plantearon como objetivo realizar un estudio del posible efecto antioxidante de *Justicia pectoralis* Jacq, al evaluar in vitro la inhibición de la peroxidación lipídica (POL) espontánea e inducida. Esto confirmó la existencia de propiedades antioxidantes para la *Justicia pectoralis* Jacq, que era de suponer si se toma en consideración que los metabolitos reportados como mayoritarios son del tipo de compuestos polifenólicos y que una de las actividades más ampliamente encontradas para estos es el efecto antioxidante, basado en la capacidad de atrapar o secuestrar ERO, radicales lipídicos, etc., y formar radicales polifenólicos más estables.

En las pruebas biológicas para la toxicidad hacia el mosquito del aegypti de Aedes el más eficaz de los extractos de plantas es *Justicia pectoralis* (Chariandy y Seaforth, 1999).

En un estudio de genotoxicidad al evaluar el extracto de *Justicia pectoralis* Jacq, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el índice de genotoxicidad respecto a sus controles negativos respectivos. En este trabajo se incluyeron ratas de ambos sexos en todas las evaluaciones realizadas, utilizando igual número de animales en cada uno. La dosis utilizada de 2 g/kg/día corresponde a la dosis límite, para períodos de tratamiento menores de 14 días y está basada en la no evidencia de toxicidad en estudios anteriores (Remigio y col., 2001).

Según estudios realizados en Cuba, *Justicia pectoralis* presenta propiedades sedantes reconocidas y fue probada su inocuidad. Su uso medicinal está asociado a afecciones de sistema nervioso entre otras (Sánchez y col., 2003).



**Foto 1:** *Justicia pectoralis*.

### **3.2. ANSIEDAD**

La ansiedad es una emoción estrechamente relacionada con el miedo apropiado, y que en muchos casos tiene finalidades adaptativas desde el punto de vista psicobiológico (Hardman y col., 2003). Es un disturbo del sistema nervioso central muy frecuente en

humanos, en la población de países industrializados su incidencia ocurre en respuesta a numerosos factores sociales y ambientales (RIVAPLAMED, 1996). Existen distintas manifestaciones de esta patología, las cuales reaccionan de manera diferente a múltiples drogas que se utilizan para aliviarlas, de tal manera que no existe una droga única de referencia. En los animales la existencia de ansiedad, es un motivo de discusión, sin embargo, es posible decir que un animal se encuentra en un estado de ansiedad cuando está esperando una sensación no placentera esperando de manera más o menos consciente la repetición que le es desagradable (Hamon, 1994; RIVAPLAMED, 1996).

El animal puede expresar la ansiedad esencialmente por dos vías diferentes; una de ellas es actividad incesante y la otra forma se presenta como inmovilidad. En ratas el patrón predominante para evidenciar la ansiedad es la inmovilidad (Boissier y Simon, 1969; RIVAPLAMED, 1996; Ruarte y Álvarez, 1999). Es una respuesta específica de temor frente a un depredador, en la que adopta una posición que les otorga el máximo efecto de ocultamiento (Tinbergen, 1975).

Las benzodiazepinas son los fármacos más utilizados en el tratamiento de la ansiedad (Hamon, 1994; Hardman y col., 2003). Siendo el diazepam uno de los fármacos de tipo benzodiazepínicos más utilizados, y posee efectos sedantes, hipnóticos, ansiolíticos, amnésico anterógrado, anticonvulsivos y también es relajante muscular (Adams, 1995). Para la administración del diazepam la vía de elección es la oral, siendo su absorción muy rápida y casi completa, presentando niveles máximos en el plasma a los 30-120 minutos post administración (Botana y col., 2002). Las benzodiazepinas ejercen la mayor parte de sus efectos al interactuar con receptores de neurotransmisores inhibidores, activados de manera directa por GABA, potenciando su acción inhibitoria sobre el sistema nervioso central. Datos recientes proporcionan pruebas de que las subunidades específicas de receptor GABA<sub>A</sub> son la causa de propiedades farmacológicas específicas de las benzodiazepinas y causan la mayor parte de la neurotransmisión inhibitoria en el SNC. El reciente descubrimiento de una base molecular para múltiples subtipos de receptores de la benzodiazepina brinda justificación para intentar separar las acciones ansiolíticas de estos fármacos, de sus efectos sedantes e hipnóticos (Page y col., 1998; Hardman y col., 2003).

La mayoría de las benzodiazepinas reduce la latencia del sueño, en especial cuando se utiliza por primera vez (Hardman y col., 2003).

El Laberinto en Cruz Elevado (LCE), es una prueba etológica válida y segura para medir ansiedad en ratas (Dawson y Tricklebank, 1995; Morato y Brandao, 1997). En este estudio se utiliza un Laberinto en Cruz Elevado de brazos asimétricos, el cual es una adaptación de Álvarez y col., (1999) al Laberinto en Cruz Elevado de brazos simétricos.

Esta prueba ha sido ampliamente utilizada en el estudio de ansiedad en animales, es fácil de implementar y utilizar, obteniendo resultados de gran valor. Las ventajas del uso de modelos etológicos de estudio además del costo y facilidad de implementación son: el empleo del estímulo de tipo natural y no requieren de entrenamiento de los animales (Dawson y Tricklebank, 1995; RIVAPLAMED, 1998).

En el Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico (LCEA) el factor geométrico sería capaz de inducir por un lado una reacción de incentivo exploratorio y por otro lado una reacción adversa o de temor. En este modelo se considera que la exploración activa del animal en cada brazo es un índice aproximado de los procesos motivacionales que ocurren en el cerebro. Como índice de la emoción o miedo, se toma en cuenta la propiedad etológica que los animales muestran en un determinado grupo de conductas no exploratorias cuando están en un sitio donde se sienten seguros y por lo tanto no tienen miedo (Álvarez y col., 1999). El hecho que los animales muestran menos preferencias por los brazos abiertos parece descansar además en la imposibilidad de efectuar tigmotaxis, o sea avanzar o permanecer al lado de superficies verticales (Treit y col., 1993).

Otro parámetro a evaluar en el Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico es el head-dipping, el cual es un patrón de comportamiento, emitido en plataformas abiertas elevadas y caracterizado por una investigación visual hacia abajo, se puede considerar una manifestación del gravamen de riesgo relacionada con la ansiedad o con una conducta exploratoria (Hoshino y col., 2004).

Head-dipping es asociado a los comportamientos repetitivos de los desórdenes de ansiedad. Los lugares abiertos elevados son considerados ansiogénicos y/o aversivos a las ratas y sugiere que el caminar hacia abajo es la respuesta de escape de tal situación. El caminar generalmente precedido de head-dipping es relacionado con la evaluación de la profundidad. Esta idea es apoyada por el realce de la emisión de head-dipping cuando la distancia vertical es aumentada. En tal situación, la rata percibe el riesgo de una potencial caída peligrosa y repite head-dipping para mejorar el chequeo de la profundidad y para encontrar una manera segura de escaparse. Otra explicación puede ser que el comportamiento de head-dipping no es lineal con el aumento del nivel de la ansiedad. Los aumentos en head-dipping pueden resultar de la curiosidad exploratoria, que requiere niveles bajos de ansiedad. Es paradójico, ya que resultados iguales pueden ocurrir cuando el animal tiene altos niveles de ansiedad y busca un escape de condiciones aversivas y/o cuando predominan niveles bajos de ansiedad, donde head-dipping y la permanencia en los brazos abiertos del laberinto pueden aumentar (Hoshino y col., 2004).

Dentro de las desventajas del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, está el que no permite investigar la administración crónica de un fármaco, debido al hábito exploratorio que se desarrolla en los animales, lo que no hace posible su reutilización (Dawson y Tricklebank, 1995).

Para la Prueba de Sueño Inducido se requiere el uso de un fármaco. Uno de los barbitúricos de uso más frecuentes en la elaboración de esta prueba biológica, es el Pentobarbital Sódico. La administración paralela de la sustancia con acción sobre el sistema nervioso central, potencia o disminuye la hipnosis o narcosis inducida por el Pentobarbital Sódico (Guillemain y Tetau, 1980). El Pentobarbital Sódico es utilizado intraperitonealmente en animales de laboratorio, sus dosis oscilan entre los 15 y 30 mg/kg, apareciendo la anestesia a los 15 minutos (Botana y col., 2002).

El Pentobarbital Sódico es un oxibarbítico de origen sintético, de corta acción que produce depresión no selectiva del Sistema Nervioso Central, su modo de acción es interferir con el paso de los impulsos a la corteza cerebral y probablemente al tálamo (Botana y col., 2002). Los barbitúricos deprimen con carácter reversible la actividad de todos los tejidos excitables, siendo particularmente sensible el SNC, estos pueden producir todos los grados de depresión del SNC, que varían entre sedación leve y anestesia general (Hardman y col., 2003). En dosis anestésicas, los barbitúricos inhiben la acumulación de calcio en el tejido nervioso, por lo que cabe esperar que inhiban o prevengan la liberación de neurotransmisores (Botana y col., 2002).

Al igual que las benzodiazepinas, estos fármacos disminuyen la latencia del sueño y el número de despertares. Las dosis hipnóticas de barbitúricos incrementan el tiempo total de sueño y alteran las etapas de éste dependiendo de la dosis (Hall y Clarke, 1983; Hardman y col., 2003).

En general los animales de laboratorio metabolizan estos fármacos más rápidamente que los seres humanos. (Botana y col., 2002).

### **3.3. OBJETIVOS DEL TRABAJO**

3.3.1. Determinar el efecto del extracto de *Justicia pectoralis* sobre el sistema nervioso central de la rata, mediante pruebas de comportamiento en Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, y la Prueba de Tiempo de Sueño inducido por Pentobarbital Sódico.

### **3.4. HIPÓTESIS**

El extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* condiciona depresión sobre el Sistema Nervioso Central.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS.

### 4.1. MATERIAL.

#### 4.1.1. Material Biológico:

Se utilizarán 45 ratas blancas, machos, cepa Sprage- Dawley, con un peso que oscila entre 180 y 342 gramos (Anexo 2), procedentes del Bioterio de Animales de Experimentación del Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile.

#### 4.1.2. Material Farmacológico:

- Extracto hidroalcohólico al 2% de *Justicia pectoralis*\*
- Diazepam al 0,02%\*\*.
- Pentobarbital Sódico al 0,15%\*\*\*.

#### 4.1.3. Material de Laboratorio:

- Agua destilada.
- Balanza electrónica (margen de error equivalente a +/- 0,1 g).
- Guantes de goma anticorte.
- Lápices de tinta indeleble.
- Etanol 96%.
- Toalla de papel absorbente.
- Sondas Bucoesofágicas de polietileno.
- Jeringas de 3 ml. rotuladas.
- Agujas 26G½.
- Cronómetro.
- Cámara de video.
- Jaulas colectivas.

#### 4.1.4. Material de Experimentación:

- Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico: es una estructura de madera ubicada a 80 cm. del suelo, que consta de dos pares de brazos formando una cruz, con una superficie lavable de color negro. Los brazos miden 40 cm. de largo y 10 cm. de ancho. La plataforma central es un cuadrado, donde cada lado mide 20 cm. de largo. (Ruarte y col., 1997).

\*Proporcionado por Sra. Anoland Garateix, Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, Cuba.

\*\*Laboratorio Chile.

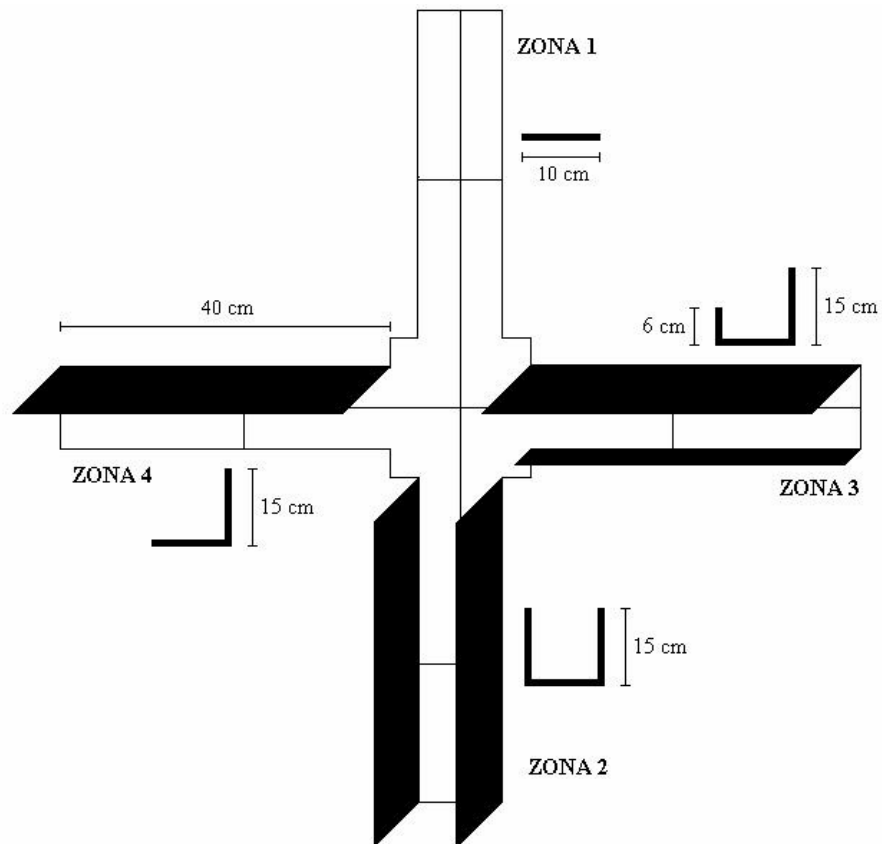
\*\*\*Laboratorio Sigma.

El grado de asimetría de cada brazo es el siguiente:

- Zona 1: No presenta pared.
- Zona 2: Presenta dos paredes (ambas de 15 cm. de alto).
- Zona 3: Presenta dos paredes (una de 15 cm. de alto y otra de 6 cm. de alto).
- Zona 4: Presenta una pared (de 15 cm. de alto).



**Figura 1:** Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico.



- Mesa de observación para la prueba de sueño inducido: para realizar esta prueba se adaptó una mesa de superficie lavable de 50 cm. de ancho, 100 cm. de largo y 75 cm. de alto, la que fue cerrada con paredes de cartón de 25 cm. de alto.

**4.1.5. Condiciones del trabajo experimental y manejo realizado:**

- Manipulación y alimentación: Los animales se mantuvieron y trabajaron en una sala del bioterio del Instituto de Farmacología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, para evitar condiciones que les pudieran generar temor y disminución de la capacidad exploratoria. El alimento utilizado fue pelet estándar para ratas y agua. El día anterior al experimento se les

sometió a ayuno, con agua ad-libitum, para eliminar la interferencia de los alimentos sobre la biodisponibilidad de las sustancias estudiadas.

- **Condiciones ambientales:** Los animales fueron mantenidos en ciclos alternados de luz/oscuridad de 12 horas, encendiéndose la luz a las 08:00 hrs. AM. La temperatura fue de 22 a 24 °C. Intentando evitar olores y ruidos extraños que pudieran alterar su comportamiento.
- **Momento de Medición:** Las ratas son animales de hábitos nocturnos, que presentan ritmo circadiano con gran actividad al inicio de la mañana y al final de la tarde. Es por este motivo que el horario de medición de las pruebas fue constante, entre las 14:00 y las 18:30 hrs.
- **Animales:** Se utilizaron sólo machos para evitar la influencia que los ciclos estrales tienen sobre la conducta exploratoria de las hembras. Los animales no fueron reutilizados ni sometidos a ningún tipo de estrés físico.
- **Peso:** Los machos utilizados tenían un peso de 180 a 342 g. El peso es importante ya que influye disminuyendo la biodisponibilidad del fármaco, ya que el grado de fijación se relaciona con su solubilidad en lípidos, que es cercano al 99% en el diazepam. La redistribución es más rápida para los fármacos con solubilidad más alta en lípidos (Hardman y col., 2003).
- **Ayuno:** Se adoptó una condición de ayuno de 24 hrs., para eliminar la interferencia de los alimentos sobre la biodisponibilidad de los productos estudiados, y también permite observar mejor el posible efecto ansiolítico de la planta, al verse aumentadas tanto la actividad motora como exploratoria por una condición de estrés por hambre. El ayuno prolongado deprime también significativamente la actividad de los microsomas hepáticos que metabolizan estos fármacos (Botana y col., 2002).
- **Dosis y Volumen a administrar:** Las dosis de Diazepam y *Justicia pectoralis* fueron establecidas en relación a la literatura revisada y en forma pre-experimental. Ruarte y Álvarez, (1999) establecieron que la dosis de 1 mg/kg presenta aumento en la actividad locomotora en las ratas. Para la administración de cada una de las soluciones correspondientes a cada grupo, se utilizó un volumen de 0.5 ml/100g de peso, vía oral.

## 4.2. MÉTODOS.

### 4.2.1. Diseño Experimental:

Los 45 animales de experimentación fueron distribuidos al azar, en 3 series de 15 ratas cada una. Previo al experimento fueron sometidas a un ayuno de 24 horas y mantenidas en una habitación temperada y en silencio. El día del estudio las ratas fueron pesadas y filiadas con un

lápiz de color permanente, se les administró por vía bucofaríngea (mediante sonda) la dosis correspondiente para cada serie, y posteriormente fueron realizadas las pruebas.

Existió un periodo de latencia desde la administración de la dosis hasta el inicio del experimento, que consistió en 45 minutos en el caso del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico y 50 minutos en la Prueba de Sueño Inducido para todas las series, lo cual fue definido en forma pre-experimental.

La primera prueba que se realizó fue en el Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, (previo a su utilización fue cuidadosamente aseado y desodorizado con alcohol) la rata fue situada en la plataforma central y se observó su conducta durante 5 minutos, lo cual se hizo mediante un registro videográfico. Posteriormente se realizó la prueba Tiempo de Sueño Inducido, para lo cual se le administró Pentobarbital Sódico por vía intraperitoneal (dosis de 15 mg/kg).

Una vez terminadas las pruebas, a la rata se le aplicó eutanasia con una sobredosis de Pentobarbital Sódico (80mg/kg).

#### **Distribución de las series:**

**Grupo 1:** Control negativo, Agua destilada, vía oral.

**Grupo 2:** Control positivo, Diazepam al 0,02 %, en dosis de 1 mg/kg, vía oral.

**Grupo 3:** Extracto hidroalcohólico al 2 % de *Justicia pectoralis*, en dosis de 100 mg/kg, vía oral.

#### **4.2.2. Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico:**

Se midieron las siguientes variables:

- La cantidad de intromisiones y el tiempo de permanencia en los brazos abiertos, tanto proximal como distal (Zona 1).
- La cantidad de intromisiones y el tiempo de permanencia en los brazos cerrados, tanto proximal como distal (Zona 2).
- La cantidad de intromisiones y el tiempo de permanencia en brazo con dos paredes asimétricas, tanto proximal como distal (Zona 3).
- La cantidad de intromisiones y el tiempo de permanencia en brazo con una pared, tanto proximal como distal (Zona 4).
- El tiempo de permanencia en plataforma central.
- La cantidad de head-dipping en el laberinto.

El tiempo de permanencia en las distintas zonas del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico fue expresado en minutos. El criterio adoptado para el registro de las intromisiones en los brazos, en la zona proximal como distal, del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico fue como condición para considerar una intromisión, que el animal introduzca hasta la inserción de la cola.

Head-dipping fue registrado cuando el animal se paró en el borde de la plataforma, con la cabeza doblada hacia abajo y realizando una investigación visual hacia abajo (nivel del ojo debajo de la superficie de la plataforma).

#### 4.2.3. Prueba de Sueño inducido por Pentobarbital Sódico:

Se midieron las siguientes variables:

- **Período de Latencia para Hipnosis:** Fue registrado en minutos el tiempo transcurrido desde la administración de Pentobarbital Sódico vía intraperitoneal, hasta que la rata dejó de deambular y apoyó toda su región ventral, incluyendo el mentón, sobre la mesa de observación.
- **Duración de la hipnosis:** Se midió en minutos el tiempo transcurrido desde que la rata dejó de deambular y apoyó toda su región ventral, incluyendo el mentón, sobre la mesa de observación, hasta que perdió el reflejo de enderezamiento o se recuperó totalmente y volvió a deambular.
- **Duración de narcosis:** Fue registrado en minutos, el tiempo transcurrido desde que perdió el reflejo de enderezamiento, hasta que recuperó el reflejo de enderezamiento.
- **Duración de Depresión Total:** Se midió en minutos, el tiempo transcurrido desde que la rata dejó de deambular y apoyó toda su región ventral, incluido el mentón, sobre la mesa de observación, hasta que se recuperó totalmente y volvió a deambular.

Las observaciones realizadas en la Prueba Tiempo de Sueño inducido fueron efectuadas cada 30 segundos.

Para las pruebas de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico y Tiempo de Sueño inducido se utilizó una pauta de observación (Anexo 3).

### 4.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los resultados obtenidos en este estudio fueron procesados mediante el programa estadístico “Graph Pad Prism TM” versión 4.0, 2003. Los resultados obtenidos, se expresaron como medias aritméticas y su error típico. Se utilizó como nivel de significancia 0,05, siendo significativo un  $p \leq 0,05$  (Naranjo y Bustos, 1992). Además, se realizaron pruebas

inferenciales intergrupos, paramétricas y no paramétricas. La metodología estadística aplicada en el análisis de los valores obtenidos fue la siguiente:

- Al cumplirse los requisitos de normalidad y homocedasticidad se recurrió al análisis de varianza paramétrico (Anova) de una vía, cuyo objetivo fue comparar promedios de tres o más grupos de datos (Hernández y col., 1996; Zar, 1999).
- Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, usando en los casos en que el Anova paramétrico resultó significativo (Zar, 1999).
- Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal–Wallis, que fue utilizado en casos de no cumplirse los requisitos de normalidad y/o homocedasticidad de los datos (Siegel, 1996).
- Prueba de comparaciones múltiples no paramétrico de Dunn, esta prueba fue aplicada en los casos en que la prueba de Kruskal–Wallis resultó significativa (Hollander y Wolfe, 1973)
- Se utilizó la prueba de t Student de datos pareados, para realizar las comparaciones intergrupo de las variables.

## **5. RESULTADOS.**

### **5.1. PRUEBA DEL LABERINTO EN CRUZ ELEVADO ASIMÉTRICO (LCEA).**

Se procedió a realizar un **Análisis Estadístico Intergrupo** en el cual se analizaron los siguientes grupos entre sí; considerando tanto la parte proximal como distal de cada zona, y cada una por separado.

**5.1.1. Número de intromisiones en zona abierta (zona 1):**

- Número de intromisiones totales.
- Número de intromisiones; proximal y distal.

En el análisis estadístico intergrupo de estas variables no se presentaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos en estudio (Anexo 4).

**5.1.2. Número de intromisiones en zona cerrada simétrica (zona 2):**

- Número de intromisiones totales.
- Número de intromisiones; proximal y distal.

En el análisis estadístico intergrupo de estas variables no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos en estudio (Anexo 5).

**5.1.3. Número de intromisiones en zona con dos paredes asimétricas (zona 3):**

- Número de intromisiones totales.
- Número de intromisiones; proximal y distal.

En el análisis estadístico intergrupo de estas variables no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos en estudio (Anexo 6).

**5.1.4. Número de intromisiones en la zona con una pared (zona 4):**

- Número de intromisiones totales.
- Número de intromisiones; proximal y distal.

En el análisis estadístico intergrupo de estas variables no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos estudiados (Anexo 7).

**5.1.5. Tiempo de permanencia en zona abierta (zona 1):**

- Tiempo de permanencia total.
- Tiempo de permanencia; proximal y distal.

En el análisis estadístico intergrupo de estas variables no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos en estudio (Anexo 8).

**5.1.6. Tiempo de permanencia en zona cerrada simétrica (zona 2):**

- Tiempo de permanencia total.
- Tiempo de permanencia; proximal y distal.

En el análisis estadístico intergrupo de éstas variables no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos estudiados (Anexo 9).

**5.1.7. Tiempo de permanencia en zona con dos paredes asimétricas (zona 3):**

- Tiempo de permanencia total.
- Tiempo de permanencia; proximal y distal.

En el análisis estadístico intergrupo de estas variables no se observaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre los grupos en estudio (Anexo 10).

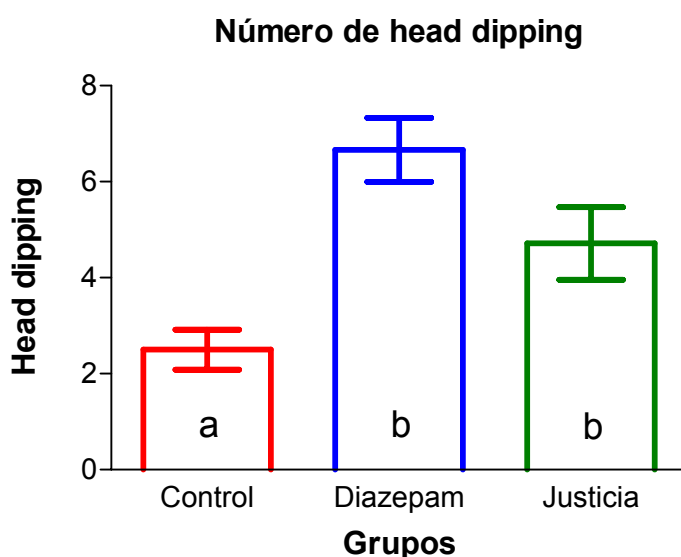
#### 5.1.8. Tiempo de permanencia en zona con una pared (zona 4):

- Tiempo de permanencia total.
- Tiempo de permanencia; proximal y distal.

En el análisis estadístico intergrupo de estas variables no se observaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre los grupos en estudio (Anexo 11).

**5.1.9. Tiempo de permanencia en la plataforma central:** En el análisis estadístico de esta variable no se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre los grupos en estudio (Anexo 12).

**5.1.10. Número de head-dipping:** En el análisis estadístico de esta variable se encontraron diferencias significativas ( $p<0,05$ ) entre el grupo Control y los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis* (Gráfico 1) (Anexo 13).



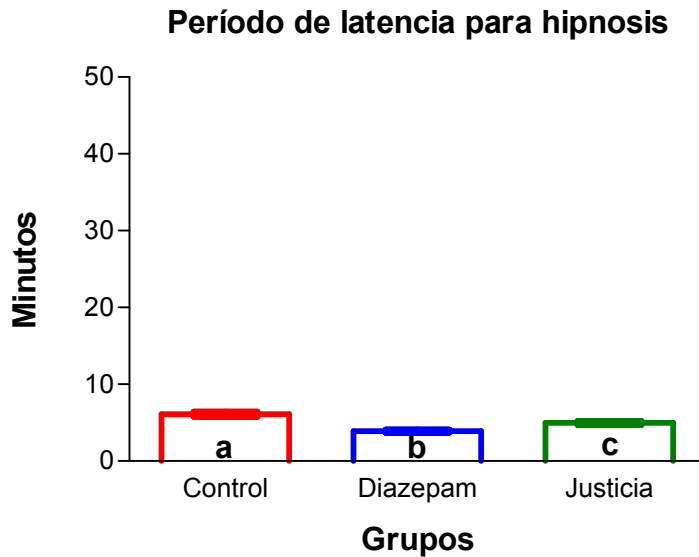
**Gráfico 26:** Número de head-dipping en el LCEA de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*. Resultados expresados como medias  $\pm$  EE.\*

\* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ).

## 5.2. PRUEBA DE TIEMPO DE SUEÑO INDUCIDO POR PENTOBARBITAL SÓDICO.

### 5.2.1. Período de Latencia para Hipnosis.

El análisis intergrupos de los resultados del periodo de latencia para hipnosis presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*. (Gráfico 2) (Anexo 14).



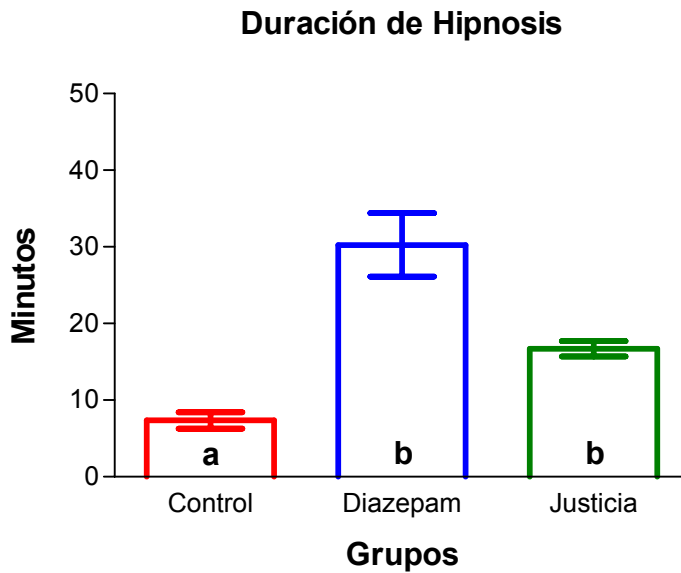
**Gráfico 27:** Período de latencia para hipnosis de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*. Resultados expresados como medias  $\pm$  EE.\*

\* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

### 5.2.2. Duración de Hipnosis.



El análisis intergrupos de los resultados de la duración de hipnosis presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre el grupo Control y los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis*. (Gráfico 3) (Anexo 14).

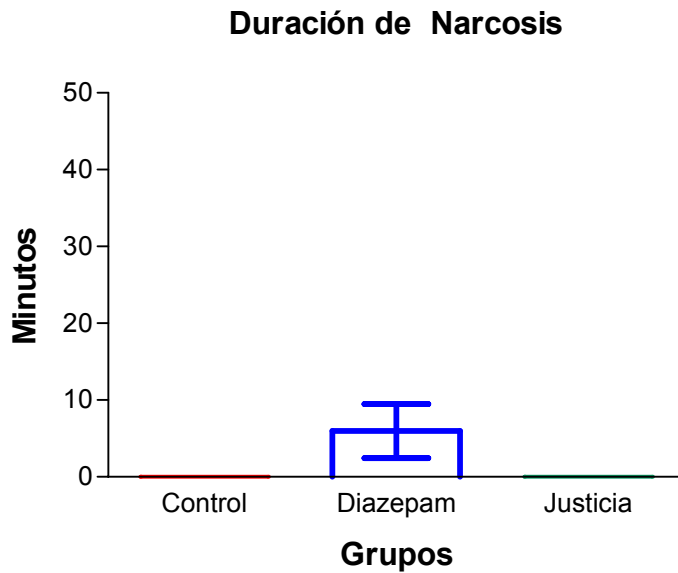


**Gráfico 28:** Duración de hipnosis de las ratas de los grupos Control, el Diazepam y *Justicia pectoralis*. Resultados expresados como medias medias  $\pm$  EE.\*

\* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

### 5.2.3. Duración de Narcosis

El análisis intergrupos de los resultados de duración de narcosis, se observó que sólo el grupo Diazepam presentó narcosis (Gráfico 4) (Anexo 14).

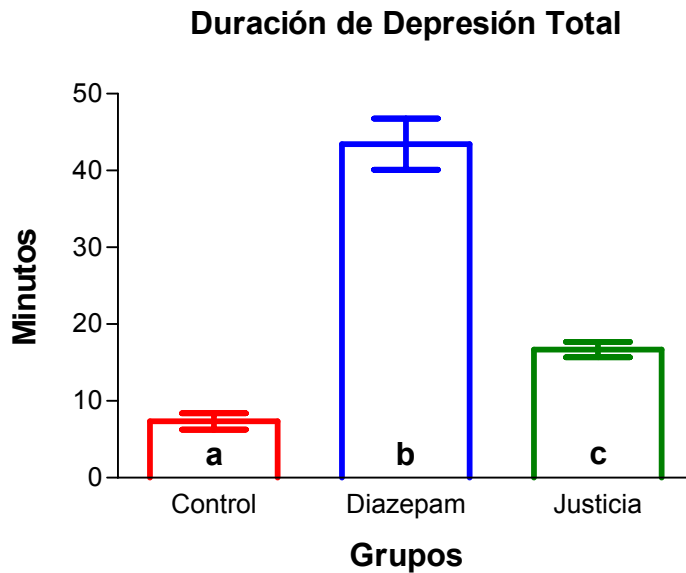


**Gráfico 29:** Duración de narcosis de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*. Resultados expresados como medias medias  $\pm$  EE.\*

\* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

#### 5.2.4. Duración de Depresión Total.

El análisis intergrupos de los resultados de la duración de depresión total, presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*. (Gráfico 5) (Anexo 14).



**Gráfico 30:** Duración de depresión total de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*. Resultados expresados como medias  $\pm$  EE.\*

\* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

## 6. DISCUSIÓN.

### 6.1. PRUEBA DEL LABERINTO EN CRUZ ELEVADO ASIMÉTRICO (LCEA).

Esta Prueba tiene por finalidad poder evaluar el efecto ansiolítico de la en planta estudio (RIVAPLAMED, 1996). El LCEA se usa para investigar agentes ansiolíticos y ansiogénicos, y para estudiar la implicancia de los neurotransmisores en la ansiedad (Morato y Brandao, 1997).

Cada brazo ofrece un estímulo de diferente magnitud para la rata, aún cuando con esta evidencia no es posible afirmar en forma concluyente que cada brazo es en mayor o menor grado un factor motivador o inductor de ansiedad (Álvarez y col., 1999). En este estudio se manifiesta una marcada graduación en la magnitud del estímulo entre brazo cerrados y brazos abiertos.

#### 6.1.1. Número de intromisiones y tiempo de permanencia en el brazo abierto (zona 1).

La conducta exploratoria de los animales está fuertemente influenciada por las características inductoras de miedo o atemorizantes del laberinto, la rata tiene miedo a los espacios abiertos, desconocidos, intensamente iluminados y además del temor a desplazarse por una plataforma relativamente estrecha y elevada (Dawson y Tricklebank, 1995; Ruarte y Álvarez, 1999). Resultando el brazo abierto al no tener pared potencialmente ansiogénico para el animal. El hecho que los animales muestran menos preferencias por los brazos abiertos también descansa en la imposibilidad de efectuar tigmotaxis, avanzar o permanecer al lado de superficies verticales, lo cual le proporciona más seguridad (Treit y col., 1993).

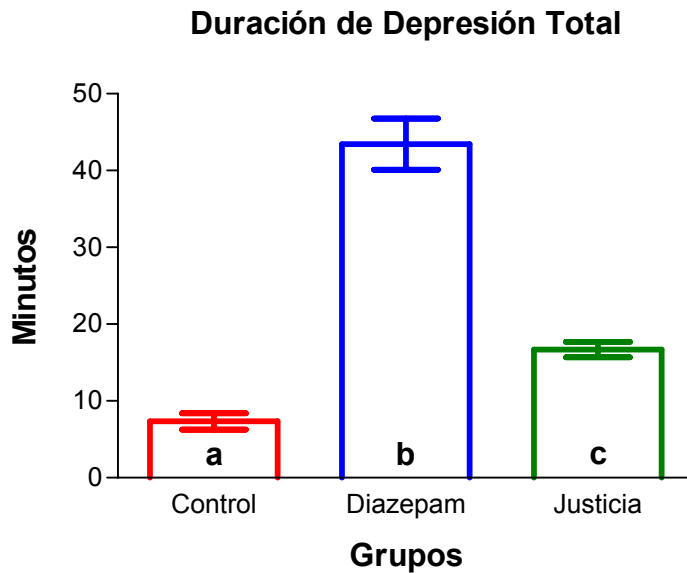
En relación al número de intromisiones totales en la zona abierta (zona 1) esta fue menor que la observada en las otras zonas, esto se debe a que el animal evita la zona abierta porque la sensación de miedo que le provoca es más fuerte que en el brazo de paredes simétricas (zona 2) (RIVAPLAMED, 1998; Álvarez y col., 1999).

El tiempo de permanencia se presenta bajo en esta zona, similar a lo que ocurre en la zona con una sola pared (zona 4) de acuerdo a lo descrito por Ruarte y Álvarez (1999) las ratas presentan mayor afinidad por la zona cerrada simétrica (zona 2) y por la zona de dos paredes asimétricas (zona 3) lo cual le da mayor seguridad.

En el análisis del número de intromisiones totales no se observa diferencia estadísticamente significativa, entre los grupos en estudio. Sin embargo el grupo Diazepam presenta una tendencia mayor en el número de intromisiones, sin lograr diferencias significativas debido a la dispersión de los valores, en razón a la gran actividad motora de unos pocos individuos con respecto al total de las ratas.

También para el número de intromisiones se realizó un análisis entre porción proximal y distal del brazo no presentando diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en estudio. Según Álvarez y col. (1999), el temor de las ratas de explorar la porción proximal

El análisis intergrupos de los resultados de la duración de depresión total, presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*. (Gráfico 5) (Anexo 14).



**Gráfico 30:** Duración de depresión total de las ratas de los grupos Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*. Resultados expresados como medias  $\pm$  EE.\*

\* Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

la porción proximal y una tendencia a un mayor tiempo de permanencia del grupo Control y Diazepam en la porción distal.

Ruarte y Álvarez (1999) mencionan que los brazos cerrado al tener paredes simétricas y altas le da una mayor seguridad a la rata ingresando más veces y permaneciendo más tiempo en estos brazos produciendo un efecto ansiolítico.

### **6.1.3. Número de intromisiones y tiempo de permanencia en el brazo con dos paredes asimétricas (zona 3).**

Los brazos que tienen paredes forman un estrecho callejón, que les brinda buena protección de los supuestos predadores (Dawson y Tricklebank, 1995), es por esto que las ratas ingresan mayor cantidad de veces y permanecen más tiempo en estos brazos (Pellow y col., 1985; Morato y Brandao, 1997). Siendo potencialmente ansiolíticos, y como consecuencia en ellos, la actividad exploratoria es mayor (Ruarte y col., 1997; Ruarte y Álvarez, 1999).

En esta zona según Álvarez y col. (1999) el número de intromisiones es levemente menor que en el brazo cerrado con dos paredes simétricas (zona 2). Los resultados de este estudio con respecto a esta variable concuerdan con lo expuesto por el autor antes citado.

En relación al tiempo de permanencia en la zona 3, se observó una disminución en comparación a la zona 2 (paredes simétricas), lo cual se debería a que el animal entra a esta zona con cierto miedo por la presencia paredes asimétricas. En este brazo se observa tigmotaxis, la rata al entrar en esta zona permanecía apegada a la pared más alta, lo que le daba mayor seguridad (Treit y col., 1993)

El número de intromisiones totales fue mayor para el grupo *Justicia pectoralis*, no presentándose una diferencia estadísticamente significativa. Además de un número similar de intromisiones en la porción proximal en comparación con la porción distal del brazo.

El tiempo de permanencia para los grupos estudiados reflejó un leve aumento del grupo *Justicia pectoralis*, sin presentar diferencias significativas. En el análisis del tiempo de permanencia de la porción proximal y distal de este brazo no se presentaron diferencias significativas, observando en el grupo Control y *Justicia pectoralis* una tendencia mayor a permanecer en porción proximal y en la porción distal los resultados fueron similares, no observándose tendencia.

### **6.1.4. Número de intromisiones y tiempo de permanencia en el brazo con una pared (zona 4).**

En el brazo con una pared el número de intromisiones y tiempo de permanencia fue mayor que en el brazo abierto (zona 1), pero menor que en el brazo cerrado con paredes simétricas (zona 2) y que en el brazo con dos paredes asimétricas (zona 3) lo cual concuerda con lo descrito por Alvarez y col. (1999) en el estudio de ésta prueba.

En relación con el número de intromisiones totales es levemente mayor el grupo Diazepam, sin evidenciar diferencias significativas estadísticamente. Mientras que en el análisis de las intromisiones proximal y distal tampoco hubo diferencias significativas.

En el tiempo de permanencia total no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados, presentando los grupos Control y *Justicia pectoralis* resultados similares en este brazo. En el análisis del tiempo de permanencia de la porción proximal y distal de este brazo no se presentaron diferencias significativas, observando en el grupo Control una tendencia mayor a permanecer en porción proximal y en el grupo *Justicia pectoralis* una tendencia mayor a permanecer en la porción distal.

#### **6.1.5. Tiempo de permanencia en plataforma central.**

Cuando los animales son colocados en la plataforma central, comienza la exploración hacia los distintos brazos del laberinto, que son medidos en número de intromisiones y tiempo de permanencia. El tiempo de permanencia en la zona intermedia, es considerado como un tiempo en que la rata se encuentra en una zona de conflicto donde toma la decisión de dirigirse a uno de los cuatro brazos (Morato y Brandao, 1997; RIVAPLAMED, 1998; Ruarte y Álvarez, 1999). El tiempo de permanencia en esta zona no presentó diferencias significativas entre los grupos en estudio.

#### **6.1.6. Número de head-dipping.**

El head-dipping, es un patrón de comportamiento, emitido en plataformas abiertas elevadas y caracterizado por una investigación visual hacia abajo, se puede considerar una manifestación del gravamen de riesgo relacionada con la ansiedad o con una conducta exploratoria (Hoshino y col., 2004).

Head-dipping fue registrado cuando el animal se paró en el borde de la plataforma, con la cabeza doblada hacia abajo y realizando una investigación visual hacia abajo (nivel del ojo debajo de la superficie de la plataforma).

El número de head-dipping fue mayor en los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis*, habiendo diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo Control. Esto concuerda si asociamos al head-dipping con la curiosidad exploratoria cuando existen bajos niveles de ansiedad.

Según Hoshino y col., (2004) head-dipping es una conducta paradójica, ya que aumenta cuando el animal tiene altos niveles de ansiedad y busca un escape de condiciones aversivas o cuando predominan niveles bajos de ansiedad se relaciona con una conducta exploratoria. Una manera de complementar head-dipping como una conducta que permite evaluar niveles bajos de ansiedad es asociándola con un mayor tiempo de permanencia de los animales en los brazos abiertos del laberinto.

## **6.2. PRUEBA DE TIEMPO DE SUEÑO INDUCIDO POR PENTOBARBITAL SÓDICO.**

### 6.2.1. Período de Latencia para Hipnosis.

El tiempo transcurrido desde la administración de Pentobarbital sódico intraperitoneal hasta que la rata deja de deambular y apoya toda su región ventral, incluyendo el mentón en la mesa de observación, presentó diferencias estadísticamente significativas para los tres grupos en estudio presentando valores de  $6,1 \pm 0,3$  minutos para el grupo Control;  $3,9 \pm 0,2$  minutos para el grupo Diazepam;  $5,0 \pm 0,3$  minutos para el grupo *Justicia pectoralis*. En relación al valor obtenido para este periodo para el grupo Control, referencias bibliográficas mencionan un periodo de latencia para hipnosis en ratas con administración intraperitoneal de Pentobarbital sódico en dosis de 15mg/kg, de 5,4 minutos Ahumada (2000), 5,9 minutos Caroca (2002). Botana y col. (2002) mencionan que los efectos del pentobarbital en dosis anestésica se establecen en 3-5 minutos.

El hecho que el grupo control presentara un período de latencia para hipnosis mayor que los otros grupos se debería a que tanto Diazepam como *Justicia pectoralis* producen depresión del SNC, siendo mas leve el efecto de *Justicia pectoralis*.

### 6.2.2. Duración de Hipnosis.

El tiempo transcurrido desde que la rata deja de deambular y apoya su región ventral incluido el mentón sobre la superficie de la mesa, hasta que pierde el reflejo de enderezamiento o se recupera totalmente y vuelve a deambular, fue de  $7,3 \pm 1,0$  minutos para el grupo Control;  $30,0 \pm 4,1$  minutos para el grupo Diazepam;  $17,0 \pm 1,0$  minutos para el grupo *Justicia pectoralis*.

Los grupos Diazepam y justicia no presentar diferencias estadísticamente significativas entre ellos, pero son diferentes con respecto al control. El mayor tiempo de hipnosis para los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis* puede ser atribuible a un sinergismo del efecto depresor del Pentobarbital sódico con Diazepam (Harman y col., 2003) efecto que también podría ser atribuible a *Justicia pectoralis*.

### 6.2.3. Duración de narcosis.

Narcosis es el tiempo transcurrido desde que la rata pierde el reflejo de enderezamiento hasta que lo recupera. Efecto que sólo se presentó en el grupo Diazepam, en las ratas con menor peso (180 a 200 g), mostrando valores de  $6,0 \pm 3,5$  minutos, lo cual indica que se produce un efecto sinérgico con Pentobarbital sódico, ya que al mismo tiempo diazepam está produciendo un efecto de depresor selectivo del Sistema Nervioso Central.

El diazepam debido a su liposolubilidad se distribuye ampliamente en todo el organismo, y se facilita su paso por la barrera hematoencefálica. El grado de fijación se relaciona con su solubilidad en lípidos, que en el caso de diazepam es cercano al 99%. El efecto del diazepam puede desaparecer debido a su liposolubilidad que le permite redistribuirse desde el compartimento diana hasta un compartimento inerte, que normalmente es el tejido adiposo. Su unión a proteínas plasmáticas es relativamente baja, facilitando su paso al Sistema Nervioso Central (Botana y col., 2002; Hardman y col., 2003).



En el caso de los barbitúricos, depresores generales del Sistema Nervioso Central, pueden ser depositados en tejidos menos vascularizados que el SNC, pero muy ricos en lípidos, especialmente en el músculo y la grasa, lo que condiciona que disminuya su concentración plasmática y encefálica (Hardman y col., 2003). El hecho que las ratas más pesadas y por ende las con mayor depósito de grasa, no entraran en narcosis podría explicarse por la mayor captación y depósito de Pentobarbital por los lípidos constituyentes de estos animales. Para que se produzca un efecto observable es necesario que la concentración del fármaco sobrepase cierto nivel denominado umbral.

#### **6.3.4. Duración de depresión máxima.**

El tiempo transcurrido desde que la rata deja de deambular y apoya toda su región ventral en la mesa de observación hasta que levanta el mentón y vuelve a deambular, en los distintos grupos fue: Grupo Control  $7,3 \pm 1,0$  minutos; Grupo Diazepam  $43,0 \pm 3,3$  minutos; Grupo *Justicia pectoralis*  $17,0 \pm 1,0$  minutos. El grupo *Justicia pectoralis* presenta una mayor duración con relación al grupo Control encontrándose diferencias estadísticamente significativas, lo que indicaría una depresión sobre el SNC.

Es importante considerar para estudios futuros, que para lograr mayor información del LCEA como modelo de ansiedad, además del empleo de las variables ya evaluadas en esta prueba, sería aconsejable observar otras variables como: stretch attend postures, u otras medidas relacionadas con ansiedad como número de bolos fecales y tiempo de inmovilidad, que son variables conductuales de origen más etológico que permitirían un análisis más detallado del comportamiento con el fin de mejorar la sensibilidad de esta prueba (Pellow y col., 1985; Dawson y Tricklebank, 1995; RIVAPLAMED, 1998).

Además sería interesante, el empleo de distintas dosis del extracto de *Justicia pectoralis* en otras investigaciones, con modelos animales similares a los utilizados en este trabajo, para así estudiar mejor los efectos de este extracto.

## 7. CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos en las pruebas realizadas con ratas machos en el presente trabajo, en que se administró oralmente el extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* en dosis de 100mg/kg. es posible concluir que:

- En la prueba de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, excepto head-dipping, no se evidenció una acción ansiolítica.
- En la prueba de Tiempo de Sueño Inducido el extracto alcohólico de *Justicia pectoralis*, condiciona depresión del Sistema Nervioso Central.

Considerando las pruebas de head-dipping en el Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico y Tiempo de Sueño Inducido con pentobarbital sódico, se valida la hipótesis de este trabajo: El extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* en la dosis utilizada, condiciona depresión del Sistema Nervioso Central.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, R. 1995. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 7<sup>th</sup> edition, Iowa. State University Press, Iowa. United States of America.
- AHUMADA, A. 2000. Efecto de la administración de extracto de *hypericum perforatum* sobre la conducta de ratas, en la prueba de campo abierto con agujeros y tiempo de sueño inducido por pentobarbital sódico. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia. Chile.
- ALVAREZ, E. O., M. B. RUARTE, P. A. GARGIULO. 1999. Neurofarmacología de los procesos cerebrales de la motivación y la emocionalidad. *Revista Neuropsicofarmacología Clínica*, 4: 5-11.
- BOISSIER, J., P. SIMON. 1969. Evaluation of experimental techniques in the psychopharmacology of emotion. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 159: 899-912.
- BOOTH, N. y L. MCDONALD. 1988. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Vol. I. 1<sup>a</sup> edición. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
- BOTANA, L. M., F. LANDONI, T. MARTÍN-JIMÉNEZ. 2002. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. 2<sup>a</sup> edición. Editorial Interamericana McGraw-Hill. Madrid. España.
- BRIONES, F. 1990. *Manual de Medicina Veterinaria Homeopática*. Editorial Hochstetter Ltda. Santiago. Chile.
- CAROCA, A. 2002. Efecto de la administración de extracto de *Valeriana officinalis* sobre la conducta en ratas, en la prueba de laberinto en cruz elevado asimétrico y tiempo de sueño inducido por pentobarbital sódico. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia. Chile.
- CETAL. 1993. CENTRO DE ESTUDIOS EN TECNOLOGÍAS APROPIADAS PARA AMERICA LATINA. *Plantas medicinales, cuadernos populares* 5<sup>a</sup> edición N° 7. Editorial CETAL, Valparaíso. Chile.
- CHARIANDY C., C. E. DE SEAFORTH. 1999. Investigación de plantas medicinales de Trinidad y Tobago como antimicrobiano y características insecticidas. *J. Ethnopharmacol*, 64: 265-270.
- CYTED. 2001. PROGRAMA IBEROAMERICANO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA EL DESARROLLO. *Métodos de validación de la actividad farmacológica de plantas medicinales*. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. El Salvador.
- DAWSON, G., M. TRICKLEBANK. 1995. Use of the Elevated Plus Maze in the search for the novel anxiolytic agents. *Trends in Pharmacol Sci.*, 16: 33-36.

- DE VRIES, J. X., B. TAUSCHER, G. WURZEL. 1988. Constituents of *Justicia pectoralis* Jacq. 2. Gas chromatography/mass spectrometry of simple coumarins, 3-phenylpropionic acids and their hydroxy and methoxy derivatives. *Biomedical and environmental mass spectrometry*, 15: 413-417.
- EVANS, R. 1990. De Plantis Toxicariis o Mundo Novo Tropicales Commentationes XXXVI. *Justicia* (Acanthaceae) as a Source of an Hallucinogenic Snuff. *Economic Botany*, 44 : 61-70.
- GUILLEMAIN, J., M. TETAU. 1980. Contribution á l' etude d'un tranquillisant végétal: tilia tomenrosa bourgeons. *Cah. Biothérapie*, 72: 41-49.
- HALL, L., K. CLARKE. 1983. Veterinary Anesthesia. 8<sup>th</sup> edition, Bailliere Tindal. London. England.
- HAMON, M. 1994. Neuropharmacology of anxiety: perspectives and prospects. *Trends in Pharmacol Sci.*, 15: 36-39.
- HARDMAN, J. G., L. E. LIMBIRD, P. B. MOLINOFF, A. GOODMAN. 2003. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Vol. II, 10<sup>a</sup> edición. Editorial Interamericana McGraw-Hill. Ciudad de México. México.
- HERNÁNDEZ, R., C. FERNÁNDEZ, P. BAPTISTA. 1996. Metodología de la Investigación. Editorial Interamericana McGraw-Hill. Ciudad de México. México.
- HOFFMAN, A., C. FARGA, J. LASTRA, E. VEGHAZI. 1992. Plantas medicinales de uso común en Chile. Ediciones Fundación Claudio Gay. Santiago. Chile.
- HOLLANDER, M., D. WOLFE. 1973. Nonparametric Statistical Methods. 2<sup>th</sup> edition, Jhon Wiley and Sons. New York. United States of America.
- HOSHINO, K., D. A. UGA., H. G. DE PAULA. 2004. The compulsive-like aspect of the head dipping emission in rats with chronic electrolytic lesion in the area of the median raphe nucleus. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 37: 245-250.
- JOSEPH, H., J. GLEYE, C. MOULIS. 1988 a. Justicidin B, a cytotoxic principle from *Justicia pectoralis*. *Journal of Natural Products*, 51: 599-600.
- JOSEPH, H., J. GLEYE, C. MOULIS. 1988 b. O-methoxylated C-glycosylflavones from *Justicia pectoralis*. *Journal of Natural Products*, 51: 804-805.
- LINO, M. L., G. TAVEIRA, G. S. VIANA, F. J. MATOS. 1997. Analgesic and antiinflammatory activities of *Justicia pectoralis* Jacq. And its main constituents: coumarin and umbelliferone. *Phytotherapy Research*, 11: 211-215.

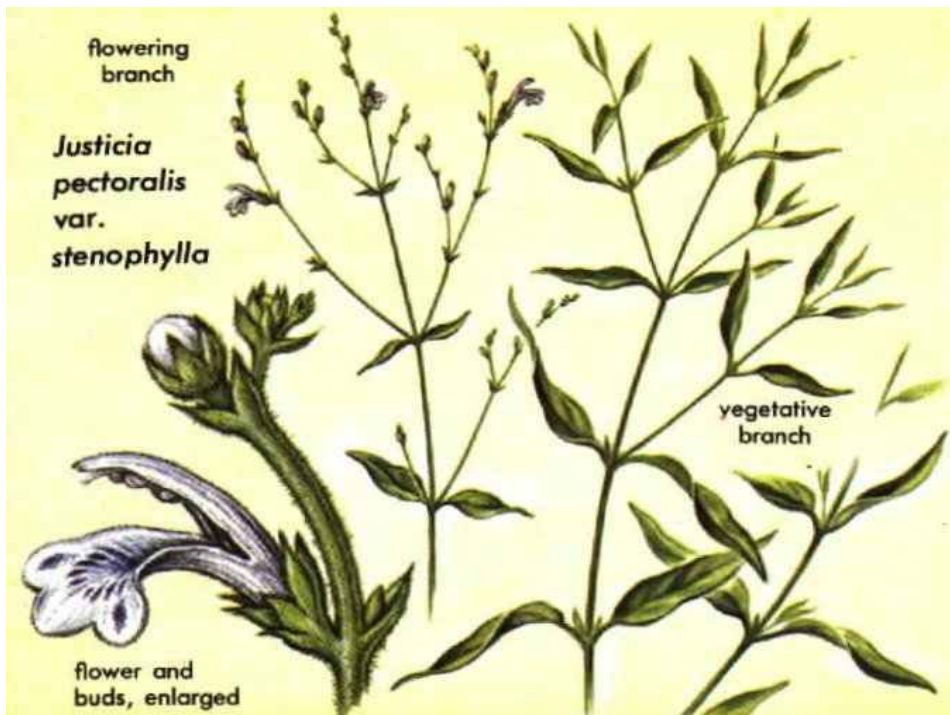
- MACRAE, W. D., G. TOWERS. 1984. *Justicia pectoralis*: un estudio de la base para su uso como ingrediente del rapé hallucinogenic. *J. Ethnopharmacol*, 12: 93-111.
- MEDINA, E. 1998. Perspectiva del Ministerio de Salud sobre Plantas Medicinales. Presentación al taller "Avances en la investigación de Plantas Medicinales". XX Reunión anual de la Sociedad de Farmacología de Chile, 27 de Agosto, Santiago. Chile.
- MONTES, M. T., L. WILKOMIRSKY. 1985. Medicina Tradicional Chilena Editorial Universitaria Concepción. Concepción. Chile.
- MONTES, M. T, L. WILKOMIRSKY, L. VALENZUELA. 1992. Plantas Medicinales. Edición de la Universidad de Concepción. Concepción. Chile.
- MORATO, S., M. BRANDAO. 1997. Paradoxical increase of exploratory behavior in the elevated plus maze by rats exposed to two kinds of aversive stimuli. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 30: 1113-1120.
- NARANJO, C., U. BUSTOS. 1992. Métodos en farmacología clínica. Métodos de ensayos clínicos de medicamentos. Editorial OPS. Washington. Estados Unidos de América.
- OLIVEIRA, A., C. ANDRADE. 2000. Caracterização morfológica de *Justicia pectoralis* Jacq. e *gendarussa* Burm. F. (Acanthaceae). *Acta amazónica*, 30: 569-578.
- PAGE, C., M. CURTIS, M. SUTTER, M. WALKER, B. HOFFMAN. 1998. Farmacología Integrada. Ediciones Harcourt, Madrid. España.
- PASTENE, E. 1998. Fitofármacos de acción ansiolítico-sedante: estudios de *Pasiflora coerulea*. Tesis, Magister de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. Concepción. Chile.
- PELLOW, S., P. CHOPIN, S. E. FILE, M. BRILEY. 1985. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods*, 14: 149-167.
- PÉREZ, G.T., R.M. RIVERO, Z.R. PARDO, J.R. CHANFRAU. 2001. Evaluación de la actividad antioxidante de *Justicia pectoralis* Jacq. *Revista Cubana Invest Biomed*, 20: 30-33.
- RANG, H. P., M. M. DALE. 1995. Farmacología. 2ª edición, Churchill Livingstone. Madrid. España.
- REMIGIO, M. A., G. PÉREZ, N. FERNÁNDEZ, A. M. BADA. 2001. Estudio genotóxico in vivo de 6 extractos de plantas medicinales en células de la médula ósea de roedores. *Revista de Toxicología*, 18: 75-78.

- RIVAPLAMED. REDE IBEROAMERICANA DE VALIDAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS. 1996. I curso iberoamericano de Validação de plantas medicinais com actividade sedativa/tranquilizante 8-19 julho, Universidad de Coimbra. Coimbra. Portugal.
- RIVAPLAMED. REDE IBEROAMERICANA DE VALIDAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS. 1998. I curso iberoamericano de Validação de plantas medicinais com actividade no Sistema Nervoso Central. 6-17 de Outubro, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. Brasil.
- RODRIGUEZ, C. A., I. HECHEVARRIA, V. R. FUENTES. 2003. Fecha y distancia de plantación en el cultivo del tilo (*Justicia pectoralis* Jacq. var. *stenophylla* Leonard). *Rev Cubana Plant Med*, vol.8, s./p. ISSN 1028-4796.\*
- RUARTE, M. B., A. G. OROFINO, E. O. ALVAREZ. 1997. Hippocampal histaminereceptors and conflictive exploration in the rat: studies using the elevated asymmetric plus-maze. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 30: 1451-1461.
- RUARTE, M. B., E. O. ALVAREZ. 1999. Behavioral profiles displayed by rats in an Elevated Asymmetric Plus Maze: effects of diazepam. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 32: 99-106.
- SANCHEZ, G. E., L. H. FUENTES, D. C. FIGUEREDO. 2003. Estudio farmacognóstico de *Justicia pectoralis* Jacq. var. *stenophylla* Leonard. *Revista Cubana Plant Med*, 8: 3-12.
- SHARAPIN, N. 2000. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Coordinación editorial Yesid Bernal, Mahabir P. Gupta y Álvaro Campo. Santa Fé de Bogotá. Colombia.
- SIEGEL, S. 1996. Metodología de la Investigación. Editorial Interamericana McGraw-Hill. New York. Estados Unidos de América.
- TINBERGEN, N. 1975. Estudio de Etología. Editorial Alianza. Madrid. España.
- TRIET, D., J. MENARD, C. ROYAL. 1993. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 44: 463-469.
- THOMPSON, W. 1981. Las plantas medicinales, Editorial Blume, Barcelona. España.
- \*[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962003000100004&lng=es&nrm=iso&tling=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962003000100004&lng=es&nrm=iso&tling=es) (Revisado: 6 de diciembre, 2004).
- VIOLA, H., C. WOLFMAN, M. LEVI de STEIN, C. WASOWSKI, C. PEÑA, J. MEDINA, A. PALADINI. 1994. Isolation of pharmacologically active benzodiazepine receptor ligand from *Tilia tormentosa* (Tiliaceae). *J. Ethnopharmacol*, 44: 47-53.

ZAR, H. 1999. Biostatistical Analysis. 4<sup>th</sup> edition. Upper Saddle River: Plentice–Hall. New York. United States of America.

## 9. ANEXOS.

**Anexo 1:** Figura de *Justicia pectoralis* var. *stenophylla*.



**Anexo 2:** Valores media y errores típicos para la variable Peso corporal de las ratas, expresados en gramos.

	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
Peso	272,9 ± 16,9	244,1 ± 13,8	252,0 ± 10,3

**Anexo 3:** Pauta de Observación Programada.



Fecha			
Examinador		Rata N°	
Grupo		Peso	
Dosis de Solución		Vol. Adm.	
Dosis de Pentobarbital		Vol. Adm.	

### 1. Prueba de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico:

	Número de Entradas	Tiempo de permanencia
Zona 1		
Zona 2		
Zona 3		
Zona 4		
Plataforma central		

### 2. Tiempo de Sueño Inducido:

	Inicio	Término	Duración
Latencia para Hipnosis			
Hipnosis			
Narcosis			
Depresión Total			

**Anexo 4:** Valores media y errores típicos para la variable en número de intromisiones en el brazo abierto (zona 1) total, proximal y distal del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico.

Zona 1	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
Total	0,92 ± 0,39	1,33 ± 0,53	1,07 ± 0,39
Proximal	0,50 ± 0,20	0,73 ± 0,26	0,57 ± 0,20
Distal	0,42 ± 0,20	0,60 ± 0,27	0,50 ± 0,20

**Anexo 5:** Valores media y errores típicos para la variable en número de intromisiones en el brazo cerrado simétrico (zona 2) total, proximal y distal del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico.

	Grupos		
Zona 2	Control	Diazepam	Justicia
Total	4,00 ± 0,68	4,73 ± 0,62	4,57 ± 0,65
Proximal	2,07 ± 0,37	2,40 ± 0,32	2,35 ± 0,34
Distal	1,92 ± 0,32	2,33 ± 0,30	2,21 ± 0,31

**Anexo 6:** Valores media y errores típicos para la variable en número de intromisiones en el brazo con dos paredes asimétricas (zona 3) total, proximal y distal del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico.

	Grupos		
Zona 3	Control	Diazepam	Justicia
Total	3,57 ± 0,73	3,53 ± 0,80	4,21 ± 0,89
Proximal	1,78 ± 0,36	1,80 ± 0,40	2,14 ± 0,44
Distal	1,78 ± 0,36	1,73 ± 0,40	2,07 ± 0,45

**Anexo 7:** Valores media y errores típicos para la variable en número de intromisiones en el brazo con una pared (zona 4) total, proximal y distal del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico.

	Grupos		
Zona 4	Control	Diazepam	Justicia
Total	2,57 ± 0,56	2,73 ± 0,57	2,14 ± 0,32
Proximal	1,40 ± 0,29	1,40 ± 0,29	1,10 ± 0,16
Distal	1,21 ± 0,28	1,33 ± 0,28	2,14 ± 0,32

**Anexo 8:** Valores media y errores típicos para la variable Tiempo de permanencia en el brazo abierto (zona 1) total, proximal y distal del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, expresado en minutos.

	Grupos		
Zona 1	Control	Diazepam	Justicia
Total	0,20 ± 0,11	0,25 ± 0,10	0,24 ± 0,12
Proximal	0,06 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,05 ± 0,02
Distal	0,13 ± 0,07	0,17 ± 0,07	0,19 ± 0,10

**Anexo 9:** Valores media y errores típicos para la variable Tiempo de permanencia en el brazo cerrado simétrico (zona 2) total, proximal y distal del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, expresado en minutos.

	Grupos		
Zona 2	Control	Diazepam	Justicia
Total	1,85 ± 0,46	2,44 ± 0,42	1,74 ± 0,38
Proximal	0,45 ± 0,13	1,10 ± 0,26	0,83 ± 0,28
Distal	1,40 ± 0,44	1,35 ± 0,31	0,89 ± 0,18

**Anexo 10:** Valores media y errores típicos para la variable Tiempo de permanencia en el brazo con dos paredes asimétricas (zona 3) total, proximal y distal del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, expresado en minutos.

	Grupos		
Zona 3	Control	Diazepam	Justicia
Total	1,29 ± 0,33	1,04 ± 0,35	1,44 ± 0,30
Proximal	0,50 ± 0,13	0,20 ± 0,06	0,52 ± 0,16
Distal	0,79 ± 0,24	0,84 ± 0,32	0,90 ± 0,20

**Anexo 11:** Valores media y errores típicos para la variable Tiempo de permanencia en el brazo con una pared (zona 4) total, proximal y distal del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, expresado en minutos.

	Grupos		
Zona 4	Control	Diazepam	Justicia
Total	0,87 ± 0,31	0,43 ± 0,11	0,87 ± 0,36
Proximal	0,43 ± 0,26	0,10 ± 0,02	0,14 ± 0,04
Distal	0,43 ± 0,17	0,35 ± 0,09	0,75 ± 0,32

**Anexo 12:** Valores media y errores típicos para la variable Tiempo de permanencia en la plataforma central (zona 5) del Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico, expresado en minutos.

	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
Zona 5	0,81 ± 0,16	0,84 ± 0,22	0,72 ± 0,13

**Anexo 13:** Valores media y errores típicos para la variable número de head dipping en el Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico.

	Grupos

	Control	Diazepam	Justicia
Head dipping	2,50 ± 0,41	6,66 ± 0,66	4,71 ± 0,75

**Anexo 14:** Valor de media y error típico para cada variable en estudio de la Prueba de Sueño Inducido, expresado en minutos.

Variables	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
Período de Latencia Hipnosis	6,1 ± 0,3	3,9 ± 0,2	5,0 ± 0,3
Duración de Hipnosis	7,3 ± 1,0	30,0 ± 4,1	17,0 ± 1,0
Duración de Narcosis	0,0 ± 0,0	6,0 ± 3,5	0,0 ± 0,0
Duración Depresión Total	7,3 ± 1,0	43,0 ± 3,3	17,0 ± 1,0

## 10. AGRADECIMIENTOS.

- Dr. Marcos Moreira E., profesor patrocinante, por su buena disposición, orientación, paciencia y revisión de este trabajo.
- Dr. Frédérick Ahumada M., profesor colaborador, por su buena disposición, orientación y sugerencias brindada en la realización de esta tesis.
- Dra. Viviana Bustos por su buena disposición.
- Sra. Nury Sánchez, por su ayuda en la preparación de los extractos y fármacos.
- Sra. Juanita Vargas, por su ayuda y buena disposición en todo momento.
- Sr. Darío Salazar, por su colaboración y orientación en el manejo de los animales.
- Srta. Silvia Fica, por la ayuda otorgada en la parte práctica de esta tesis.
- Sra. Anoland Garateix, por enviar el extracto desde Cuba.
- Sr. Sergio Mora, por enviar el extracto desde Santiago.
- A todas las personas que de una u otra manera ayudaron a la realización de este trabajo.