

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE FARMACOLOGÍA

**EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DE *Justicia pectoralis*
SOBRE LA CONDUCTA DE RATAS SOMETIDAS A PRUEBAS DE
COMPORTAMIENTO.**

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

SILVIA ELIANA FICA BURGOS
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 : **Rafael Burgos A.**
Nombre Firma

Roberto Murua B.
Nombre Firma

FECHA DE APROBACIÓN : 11 de Marzo de 2005

A mis padres, abuelita Lua y tía Herta.

INDICE

	Página.
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
RESULTADOS.....	15
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES.....	40
BIBLIOGRAFÍA.....	41
ANEXOS.....	45

1. RESUMEN

“EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DE *Justicia pectoralis* SOBRE LA CONDUCTA DE RATAS SOMETIDAS A PRUEBAS DE COMPORTAMIENTO”.

Justicia pectoralis es una planta perteneciente a la familia Acanthaceae, que crecen naturalmente o pueden ser cultivadas en regiones amazónicas o de América Central, y se le ha atribuido durante mucho tiempo participación en preparados alucinógenos de indios sudamericanos.

Se evaluó el efecto depresor del extracto de *Justicia pectoralis* sobre el Sistema Nervioso Central en ratas, mediante Observación en caja porta-rata y Tablero de campo abierto con agujeros.

Se utilizaron 45 ratas machos de la cepa Sprague Dawley, distribuidas al azar en 3 grupos de 15 animales: Grupo 1: Control (agua destilada); Grupo 2: Diazepam 1mg/kg; Grupo 3: Extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* al 2% en dosis de 100mg/kg. Todas las soluciones fueron administradas por vía oral en dosis isovolumétricas de 0,5ml por 100g de peso. Previo al experimento, los animales se mantuvieron en ayuno por 24 horas. El experimento consistió en administrar la dosis correspondiente a cada grupo en estudio, después de 30 minutos fueron colocados individualmente en una caja porta-rata por un tiempo de 5 minutos para evaluar acción depresora sobre el Sistema Nervioso Central, procediendo a medir las variables según la pauta de observación para caja porta-rata. Posteriormente la rata fue situada sobre el cuadrado central del Tablero de campo abierto con agujeros por 10 minutos procediéndose a medir las siguientes variables: número de cuadrados avanzados, número de posiciones bípedas, número de intromisiones en los agujeros, número de crotines, número y duración de aseos.

Se puede concluir que: el extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* no produce acción depresora sobre el Sistema Nervioso Central en ratas, pero se evidenció el efecto analgésico de la planta. En la prueba de campo abierto con agujeros el grupo *Justicia pectoralis* no demostró efecto depresor sobre el Sistema Nervioso Central, ya que no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) con respecto al grupo Control. Por lo tanto, es posible concluir que *Justicia pectoralis* en la dosis usada no ejerce depresión selectiva sobre el Sistema Nervioso Central, al usar las dos pruebas de comportamiento.

Palabras clave: *Justicia pectoralis*, Observación en caja porta-rata, Tablero de campo abierto con agujeros, ratas.

2. SUMMARY

“EFFECT OF THE ADMINISTRATION OF *Justicia pectoralis* EXTRACT ON BEHAVIOUR OF RATS”.

Justicia pectoralis is a plant belonging to the Acanthaceae family, that grows naturally or can be cultivated in Amazonian regions or Central America, and is prepared for hallucinogenic purposes by South American Indians.

The depressing effect of the extract of *Justicia pectoralis* on the Central Nervous System in rats was evaluated, by means of a Home cage observation and the Open field test with holes.

45 male Sprague Dawley rats were used randomly, distributed in 3 groups of 15 animals each: Group 1: Control (distilled water); Group 2: Diazepam 1mg/kg; Group 3: Hidroalcoholic extract of 2% *Justicia pectoralis* at a dose of 100mg/Kg. All solutions were administered in isovolumetrical doses of 0,5 ml/100 g of body weight. Prior to the experiment, the animals were fasted for 24 hours. The experiment consisted in administering the dose corresponding to each group of study, after 30 minutes they were individually placed in a home cage for 5 minutes to evaluate the depressing action on the Central Nervous System, the variables were measured according to the guideline of Home cage observation. Later the rats were placed on the central square of the Open field with holes for 10 minutes and the following variables were measured: number of squares advanced, number of rearings, number of head-dipping, number of faecal boli, number and duration of grooming.

It can be concluded that: the hidroalcoholic extract of *Justicia pectoralis* does not produce a depressing action on the Central Nervous System in rats, but the analgesic effect of the plant was demonstrated. In the Open field test with holes the group receiving *Justicia pectoralis* did not show depressing effect on the Central Nervous System, since there was no statistically significant difference ($p>0,05$) with respect to the Control group. Therefore, it is possible to conclude that *Justicia pectoralis* in the used dose did not exert a selective depressing effect on the Central Nervous System, using to the two behavioral tests.

Key words: *Justicia pectoralis*, Home cage observation, Open field test, rats.

3.- INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemoriales el ser humano ha utilizado las plantas como medicamentos naturales. Las civilizaciones antiguas (Egipto, India, China) poseían verdaderos compendios en los que las hierbas constituyen el cuerpo terapéutico para el tratamiento de las enfermedades (Botana y col., 2002).

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).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define planta medicinal como un vegetal que contiene en uno o más de sus órganos sustancias que puedan ser utilizadas con fines terapéuticos, o que son precursores de hemisíntesis química farmacéutica (Montes y Wilkomirsky, 1985).

El valor medicinal de la planta curativa se debe a la presencia en el tejido vegetal de una sustancia química -el principio activo- que produce un efecto fisiológico. Muchos principios activos son sumamente complejos y, ocasionalmente, 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).

Los fármacos con acción en el sistema nervioso central actúan de manera selectiva para aliviar el dolor, reducir la fiebre, suprimir los trastornos del sueño o el estado de vigilia. Los fármacos de acción selectiva se emplean para tratar ansiedad, manía, depresión, esquizofrenia y lo hacen sin alterar el estado de conciencia (Harman y col., 2003).

El animal puede expresar la ansiedad esencialmente por dos vías diferentes, una de ellas es la actividad incesante y la otra forma se presenta como inmovilidad. En las ratas el patrón preponderante para evidenciar ansiedad es la inmovilidad (Álvarez, 2000).

Un sedante (ansiolítico) eficaz debe reducir la ansiedad y ejercer un efecto calmante con poco o ningún efecto en las funciones motoras y mentales. El grado de depresión del Sistema Nervioso Central causado por un sedante debe ser el mínimo consistente con la eficacia terapéutica. Un hipnótico debe producir somnolencia e incitar el inicio y mantenimiento de un estado de sueño que, en la medida de lo posible, se asemeje al estado de sueño natural. Los efectos hipnóticos implican una depresión más pronunciada del SNC que con la sedación, y

esto puede lograrse con la mayoría de los sedantes simplemente elevando la dosis (Katzung, 1999).

El término benzodiazepina se refiere a la parte de la estructura, compuesta por un anillo benceno fusionado con un anillo de diazepina de siete miembros. Todos los efectos de las benzodiazepinas se producen, virtualmente, por acciones de estos fármacos en el sistema nervioso central. Los más relevantes son sedación, hipnosis, disminución de la ansiedad, relajación muscular, amnesia anterógrada y actividad anticonvulsiva. Conforme se incrementa la dosis de una benzodiazepina, la sedación progresa hasta hipnosis y, a continuación, a estupor (Harman y col., 2003).

Las benzodiazepinas ejercerían la mayor parte de sus efectos al interactuar con receptores a neurotransmisores inhibidores activados de manera directa por GABA. Los receptores GABA son proteínas unidas a membrana que pueden dividirse en dos subtipos principales: GABA_A y GABA_B. Los receptores GABA_A ionotrópicos están compuestos de cinco subunidades que se coensamblan para formar un canal de cloruro integral; estos receptores causan la mayor parte de la neurotransmisión inhibitoria en el Sistema Nervioso Central. Las benzodiazepinas actúan en receptores GABA_A, pero no en los GABA_B al unirse de manera directa a un sitio específico que difiere del que se utiliza para unión de GABA sobre el complejo de receptor/canal de ion. Al contrario de los barbitúricos, las benzodiazepinas no activan de manera directa a receptores GABA_A, pero requieren GABA para expresar sus efectos; esto es, sólo regulan los efectos del GABA. Las benzodiazepinas y los análogos del GABA se unen a sus sitios respectivos sobre membranas cerebrales, con afinidad nanomolar. Las benzodiazepinas regulan la unión a GABA, y este último altera la fijación de benzodiazepinas de una manera alostérica (Harman y col., 2003).

El grupo de benzodiazepinas incluye al *alprazolam*, *clobazam*, *clonazepam*, *clorazepato*, *diazepam*, *midazolam* y *zolazepam*, entre otros. Potencian la acción del ácido γ -aminobutírico (GABA) sobre los receptores GABA_A, al unirse al sitio aceptor de benzodiazepinas de este receptor produciendo un mayor ingreso de ión cloruro intracelular, lo que se traduce en una hiperpolarización neuronal. Producen una depresión de la corteza cerebral, del diencéfalo y del sistema límbico, induciéndose amnesia, tranquilidad y aumento del apetito. Sus efectos pueden revertirse mediante el uso del antagonista flumazenil. Como reacciones adversas está el hecho de que son depresores cardiorrespiratorios potenciales, pero estos efectos son infrecuentes cuando se usan a dosis terapéuticas y en asociaciones farmacológicas adecuadas (Álvarez y García, 2003).

El descubrimiento reciente de una base molecular para múltiples subtipos de receptores de benzodiazepina brinda justificación para intentar separar las acciones ansiolíticas de estos fármacos, de sus efectos sedantes e hipnóticos. Sin embargo, sigue siendo un problema distinguir entre estas propiedades. Las mediciones de ansiedad y sedación son difíciles en el ser humano, y no está clara la validez de los modelos animales de ansiedad y sedación. La existencia de múltiples receptores para las benzodiazepinas explica en parte la diversidad de las reacciones farmacológicas en las diferentes especies (Harman y col., 2003). La vía de elección para la administración del *Diazepam* es la vía oral, siendo su absorción muy rápida y

casi completa, con niveles máximos en el plasma a los 30-120 minutos post administración. Debido a su liposolubilidad, el *Diazepam* se distribuye ampliamente en todo el organismo y atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica, siendo su unión a proteínas relativamente baja. El *Diazepam* puede sufrir el proceso de redistribución (desaparición del efecto del fármaco por su cambio desde el compartimento diana hasta un compartimento inerte, normalmente el tejido adiposo). Su metabolismo se lleva a cabo en el hígado, fundamentalmente por oxidación y da origen a numerosos metabolitos desmetilados (Botana y col., 2002).

El principal fundamento del empleo de las plantas medicinales lo encontramos en su baja toxicidad, que permite tratamientos prolongados sin producir hábitos. No obstante debe tenerse presente que el uso inadecuado de ellos puede provocar efectos secundarios (Pastene, 1998). 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. Actualmente, RIVAPLAMED estimula la investigación en áreas de mayor demanda de medicamentos: cardiovascular, gastrointestinal, analgésicos/antiinflamatorios y aquellos con acción en Sistema Nervioso Central (CYTED, 2001).

Justicia pectoralis (Foto 1 y 2) pertenece al phylum Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, orden Scrophulariales, familia Acanthaceae, es también llamada tilo cubano, curia, angel of death, bole hena. Es una hierba de ramas delgadas, rastreras y ligeramente engrosadas en los nudos. Hojas opuestas, lanceoladas, algo aromáticas. Flores pequeñas, de color morado, dispuestas en panículas terminales. Fruto en cápsula. Se propaga por estacas de tallo. Se puede plantar en cualquier época del año, pero preferentemente, en la época de lluvias y se emplean estacas de tallo con 4 a 5 nudos. 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 follaje¹.

¹ <http://gobiernoenlinea.ve/Miscelaneas/manualdeorganoponicosyhuertosintensivos.doc> Revisado el 15 de mayo de 2004.

Fotos 1 y 2: Flor, hojas y planta de *Justicia pectoralis*.



Mucho tiempo hubo incertidumbre en lo que refiere al papel desempeñado por las hojas del género *Justicia* en preparaciones alucinantes sudamericanas. Quizás la primera referencia de *Justicia* basado en el material botánico identificable como tabaco en polvo contenido en un preparado de Sudamérica fue publicada en 1967. Se ha descrito la posibilidad del empleo de hojas del género *Justicia* como alucinógeno entre los indios venezolanos, pero la mayoría de los estudios tiende a demostrar que las hojas de este género son aromáticas y no poseen ningún efecto embriagador. Esto por el hecho de que las triptaminas –a quienes se les adjudica un potencial alucinógeno- estarían presentes pero en pequeñas cantidades, y solo sería un ingrediente más para plantas como *Viola* o *Anadenanthera* quienes serían los ingredientes activos. También se relató que no existe presencia de ningún alcaloide (Evans, 1990).

Las especies del género *Justicia* se presentan espontáneamente o son cultivadas. *Justicia pectoralis* es frecuentemente encontrada en México, Venezuela, Trinidad, Cuba, Jamaica, Oeste de Ecuador, Norte y nordeste de Brasil. Tiene un uso común en medicina popular contra dolores e inflamaciones (Oliveira y Andrade, 2000). También se describe que su uso medicinal está asociado a afecciones de sistema nervioso².

Químicamente, se compone de 1,2 benzopirona e umbeliferona y pequeñas cantidades de triptaminas. Las cumarinas son los principios activos de *J. Pectoralis* (Oliveira y Andrade, 2000). Según trabajos realizados por De Vries y col. (1988) por cromatografía gaseosa los constituyentes identificados fueron cumarina, 7-hidroxycumarina (umbeliferona), dihidrocumarina y 3-(2-hidroxifenil) ácido propiónico. Lo indicado por estos autores se contradice con la Agricultural Research Service, que da por mayores constituyentes de *Justicia pectoralis* calcio (en la hoja), niacina (hoja), rivo flavina (hoja), triptaminas (planta) y umbeliferota (planta), entre otros químicos que se encuentran en menor cantidad. Por su parte el calcio actúa como ansiolítico, antidepresivo y antiinsomnio, niacina como anticonvulsivante, antiinsomnio, antiparkinsons y sedativo, tiamina es empleada para el tratamiento de neuropatologías³. Por otra parte, Joseph y col. (1988) afirma que las especies de *Justicia* son conocidas por su contenido de lignanos; habiéndose obtenido justicidin B, swertisin, 2''-O-rhamnosylswertisin, O-methoxylated C-glycosyflavones entre otros.

En relación a lo anterior, se realizarán pruebas de comportamiento en ratas utilizando extracto de *Justicia pectoralis*, dichas pruebas serán Caja porta-rata y Campo abierto.

La observación de la Caja porta-rata es una versión modificada de la batería de observación funcional (FOB) que es preconizado y recomendado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) para la detección y regularización de fármacos con posible acción farmacológica. La batería de observación funcional consiste básicamente en procedimientos no invasivos diseñados para detectar y estudiar la totalidad de las deficiencias funcionales y a la vez cuantificar mejor los efectos neurológicos y/o conducta animal anormal, provocadas por residuos o fármacos con acción neurotóxica mostrando una completa descripción de la apariencia, conducta e integridad funcional del animal en estudio, es

² http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol32_1_98/far09198.htm Revisado el 12 de abril de 2004.

³ <http://ars-grin.gov/duke/> Revisado el 1 de septiembre de 2004.

utilizada en combinación con otras pruebas entre ellas Campo Abierto, con el propósito de obtener mayor información relacionada con la investigación neuroconductual en animales.

El Tablero de Campo Abierto se ha utilizado originalmente como instrumento que permite estudiar la emocionalidad, sirviendo como base para las otras pruebas que registran conductas particulares de los animales. Una de las razones para su extendido uso es la comodidad que brinda para colocar animales de varios tamaños en un ambiente en el cual no han tenido experiencia previa, distinto al sitio en que se encuentran habitualmente, de mayores dimensiones y luminosidad, lo cual origina una respuesta por parte del animal. Esta prueba mide básicamente la actividad motora, de exploración y defecación, permitiendo inferir en el estado emocional del animal, como la curiosidad del animal, con lo cual infiere en mayor o menor grado depresión o excitación del sistema nervioso. De esta forma los resultados que se obtendrían con estos dos procedimientos nos brindará una aproximación de las acciones de *Justicia pectoralis* sobre el sistema nervioso central de la rata, debido a que siempre es necesario observar las interacciones periféricas y centrales cuando se evalúa el perfil farmacológico de una droga de origen sintético o vegetal antes de su uso clínico (RIVAPLAMED, 1996).

En relación a los antecedentes previamente descritos se plantea la hipótesis: el extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* condiciona depresión en el sistema nervioso central.

El objetivo del presente trabajo es determinar el efecto del extracto de *Justicia pectoralis* sobre el sistema nervioso central de la rata, mediante pruebas de comportamiento.

4.- MATERIAL Y METODOS

4.1. MATERIAL.

4.1.1. Material Biológico

Se utilizaron 45 ratas blancas, machos, cepa Sprague- Dawley, con un peso entre 180 y 342 g según anexo 3 y 4, procedentes del bioterio de animales de experimentación del Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile.

4.1.2. Material farmacológico

- Extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* al 2%.
- Diazepam al 0,02%.

4.1.3. Material de laboratorio

- Agua destilada.
- Balanza electrónica.
- Cronómetro.
- Lápices tinta indeleble.
- Jeringas de 3 ml rotuladas.
- Guantes de goma anticorte.
- Pinza anatómica.
- Linterna oftálmica.
- Alcohol etílico absoluto 96%.
- Toalla de papel absorbente.

4.1.4. Material de experimentación

Caja porta – ratas: es una jaula de plástico con tapa de alambre y dos manillas, de 29 cm de ancho, 36 cm de largo y 20 cm de alto que permite observar al animal de experimentación (Foto 3).



Foto 3: Caja porta-ratas.

Tablero de campo abierto con agujeros: es un tablero de madera cuadrado recubierto con una superficie acrílica de color blanco, que presenta una superficie de 1m^2 ubicado a 1m de altura del suelo, subdividido en 25 cuadrados los que se encuentran demarcados por trazos de color verde de 20 por 20 cm. cada uno, el cuadrado central en cada vértice tiene 4 orificios de 4 cm. de diámetro, en su perímetro muestra cuatro paredes laterales de 50 cm. de alto cada una, revestidas en su cara interna con acrílico blanco. Es iluminado con una ampolleta blanca de 100 W dispuesta sobre el cuadrado central del tablero a 65 cm. de alto (Foto 4).



Foto 4: Tablero de campo abierto con agujeros.

4.2. MÉTODO.

Las siguientes pruebas fueron realizadas durante las tardes de 14:00 a 18:30 horas, en una sala del Bioterio del Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile.

4.2.1. Observación en caja porta-ratas

Se realizó esta prueba de acuerdo a una pauta de observación programada (Anexo 1), donde se registraron 10 variables de tipo cualitativo:

- a) Lagrimación, mediante inspección visual.
- b) Salivación, mediante inspección visual.
- c) Piloerección, mediante inspección visual.
- d) Respuesta pupilar, se observó la contracción pupilar que se produce al aproximar una linterna oftálmica accionada a 2cm del globo ocular en un ambiente con baja iluminación.
- e) Reacción a la manipulación al retirar el animal de la caja porta-ratas.
- f) Nivel de actividad de la rata sin estimulación durante la observación.
- g) Tono muscular, mediante flexión y extensión de los miembros posteriores y palpación-presión en la zona de los muslos.
- h) Respuesta algésica, al pinzar la cola del animal con pinza anatómica en la porción distal de la cola.
- i) Reacción al ruido, al emitir un sonido fuerte y repentino próximo a la rata, se utilizó el chasquido emitido por un sujetador de papeles.
- j) Acciones repetitivas (estereotipias) o comportamiento anormal de la rata.

La naturaleza de las variables observadas fue definida mediante una escala de reacción a la que se asignó números arábigos, y se estableció dos tipos de puntuación:

- Un puntaje de 1 o 2, que significa ausencia o presencia, respectivamente, en las variables piloerección, respuesta pupilar y acciones repetitivas.
- Una puntuación de 1, 2 o 3 determina ausencia, moderado o manifiesto, respectivamente, en las variables lagrimación, salivación, reacción a la manipulación, nivel de actividad, tono muscular, respuesta algésica y reacción al ruido.

Las observaciones fueron realizadas en un orden de menor a mayor manipulación de las ratas y la secuencia de observación se inicia en la caja porta-rata y le siguen el examen clínico y las acciones manipulativas.

4.2.2. Tablero de campo abierto con agujeros

Para esta prueba se elaboró una pauta de observación programada (Anexo 2) en la cual se consideró como el tiempo total de la observación 10 minutos, dividido en dos intervalos de 5 minutos cada uno para facilitar la interpretación de las variables. Las variables en observación se clasificaron como:

- Motoras de exploración.
- Emotividad.

VARIABLES MOTORAS DE EXPLORACIÓN:

- Cuadrados avanzados: frecuencia que la rata avanzó apoyada en sus cuatro extremidades.
- Posiciones bípedas: frecuencia que la rata adoptó una posición vertical apoyada en sus extremidades posteriores y cola.
- Intromisiones en los agujeros: frecuencia en las cuales la rata introdujo su cabeza en los agujeros del tablero, estableciéndose como parámetro mínimo para la observación las dos orejas del animal.

VARIABLES DE EMOTIVIDAD:

- Crotines: frecuencia de bolos fecales evacuados por el animal en el tablero.
- Aseos: frecuencia que la rata compuso su pelaje, utilizando su lengua y extremidades anteriores.
- Duración de los aseos: tiempo medido en segundos que empleó la rata para acicalarse.

4.2.3. Condiciones experimentales

- Manipulación y alojamiento: Las ratas se mantuvieron y se trabajaron en una sala del bioterio para evitar producir condiciones que les pudieran generar temor y disminución de la capacidad exploratoria. Los animales tuvieron libre disposición de alimento peletizado 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 las luces a las 08:00 horas. La temperatura se mantuvo entre 18-22° C. No existían olores ni ruidos extraños que pudieran alterar su comportamiento.
- Ritmos circadianos: Las ratas son animales nocturnos, que presentan gran actividad durante la mañana y al final de la tarde (RIVAPLAMED, 1996). Es por este motivo que el horario de medición fue siempre constante, entre las 14:00 hrs. y las 18:00 hrs.
- Animales: Fueron utilizados solamente machos para evitar la influencia que los ciclos estrales tienen sobre la conducta de las hembras. Los animales no fueron reutilizados ni sometidos a ningún tipo de estrés físico.

- Edad: Todos los animales utilizados tenían una edad similar debido a que la conducta exploratoria de las ratas aumenta gradualmente desde el día 16 al 84.
- Ayuno: Como ésta condición aumenta tanto la actividad motora como exploratoria, se realizó un ayuno de 24 horas el que además elimina la interferencia de los alimentos sobre la biodisponibilidad de los productos estudiados (Olavarría, 1999).
- Volumen a administrar: 0,5 ml por 100 g de peso.

4.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Los 45 animales de experimentación fueron distribuidos al azar, en 3 series de 15 ratas cada una. Previo al experimento se mantuvieron en una habitación temperada y en silencio. Fueron pesadas y filiadas con lápiz de color permanente, se les sometió a un ayuno de 24 horas, y se les administró la dosis correspondiente de cada serie por vía sonda orogástrica. Posterior a esto se colocaron en jaulas por un período de 30 minutos. Pasado este tiempo se mantuvo al animal en una caja porta-rata por un tiempo de 5 minutos, donde se midieron las variables en estudio. Una vez terminada esta prueba, se procedió a depositar suavemente la rata en el cuadrado central del tablero de campo abierto con agujeros, durante 10 minutos se observó y registró el comportamiento de la rata en la hoja de observación. Este tiempo fue dividido en dos períodos de 5 minutos para efectos de análisis estadísticos.

La superficie del material de experimentación fue cuidadosamente limpiada con alcohol y toalla de papel absorbente posterior a su utilización con cada animal, con el fin de mantener constantes las condiciones experimentales.

Distribución de las series: todas las soluciones se administraron por vía oral en volumen de 0,5 ml/100 g.

Grupo 1: Control negativo, agua destilada.

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

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

4.4 DISEÑO ESTADÍSTICO.

Los resultados obtenidos en la Observación en Caja Porta-rata no fueron sometidos a análisis estadístico, debido a que sólo es de interés su análisis descriptivo, para lo cual fueron expresados como porcentaje.

Los resultados numéricos obtenidos en este estudio fueron procesados mediante el paquete estadístico "Graph Pad Prism™" versión 4.0, 2003 y se expresaron como medias aritméticas y su error típico. También se utilizaron hojas de cálculo Excel.

Se realizaron pruebas inferenciales intra e intergrupos, paramétricas y no paramétricas y se utilizó como nivel de significancia de 0,05, siendo significativo un $p \leq 0,05$ y como no significativo un $p > 0,05$ (Naranjo y Bustos, 1992).

Fueron sometidos a la Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov, utilizada con el fin de comprobar la normalidad de los datos, a la Prueba de homocedasticidad de Bartlett aplicada con el fin de comprobar que las varianzas entre las series fueran homogéneas. Al cumplirse estos requisitos, se recurrió a estadística paramétrica, en el caso de no obtenerse esta condición se utilizó estadística no paramétrica (Domenech, 1980).

Los análisis de estadística paramétrica usados fueron Análisis de varianza paramétrico (One-way) de una vía, cuyo objetivo fue comparar promedios de tres o más grupos de datos (Zar, 1999; Hernández y col., 1996), Anova, y la Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, usada en los casos en que el One-way paramétrico resultó significativo (Zar, 1999).

En caso de no cumplirse los requisitos de normalidad y/o homocedasticidad de los datos se empleó el Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis (Siegel, 1996), la Prueba de comparaciones múltiples no paramétrico de Dunn, en los casos en que la prueba de Kruskal-Wallis resultó significativa (Hollander y Wolfe, 1973).

Cuando las varianzas no cumplieron con la homocedasticidad se utilizó la prueba Mann-Whitney.

5. RESULTADOS

5.1 OBSERVACIÓN DE LA CAJA PORTA RATA.

En esta prueba se evaluó las posibles manifestaciones conductuales y neurovegetativas producidas en el sistema nervioso central de la rata debido a la administración de las soluciones farmacológicas empleadas en este estudio. Se utilizaron variables de tipo cualitativo como indicadores del estado fisiológico y conductual del animal en un ambiente conocido para él, en donde no hubo factores ansiogénicos, salvo la aplicación de los fármacos (Álvarez, 2000) (Anexos 5, 6 y 7).

5.1.1 Lagrimación: no se presentó en ninguno de los grupos en estudio (Gráfico N° 1).

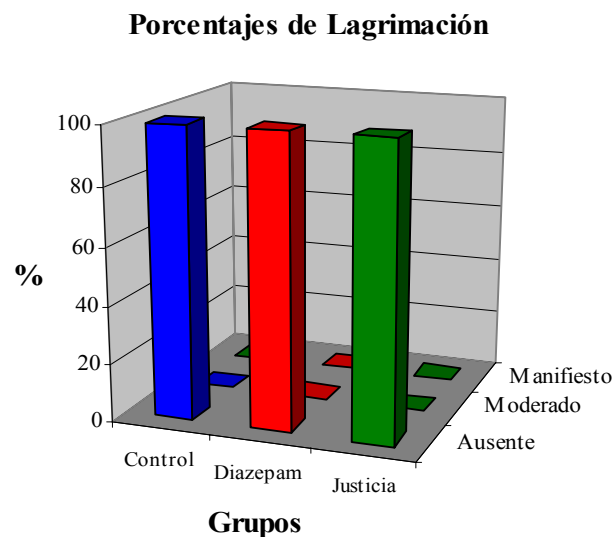


Gráfico 1: Lagrimación en ratas, expresada en porcentajes, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.1.2 Salivación: no fue observada en ninguno de los grupos en estudio (Gráfico N° 2).

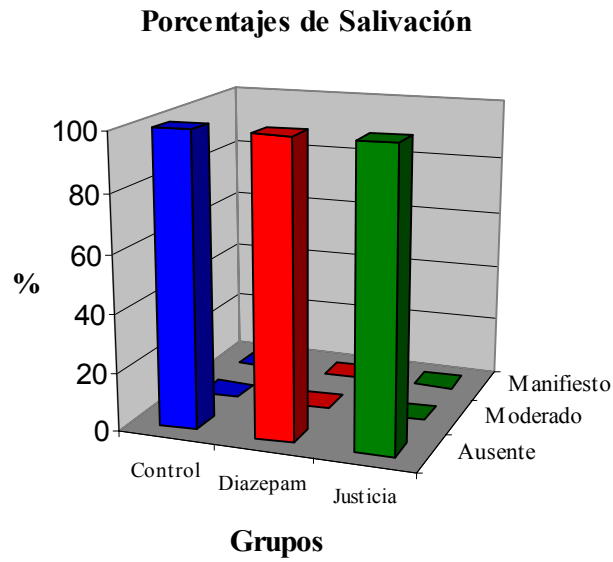


Gráfico 2: Salivación en ratas, expresada en porcentajes, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.1.3 Piloerección: estuvo ausente en todos los grupos en estudio (Gráfico N° 3).

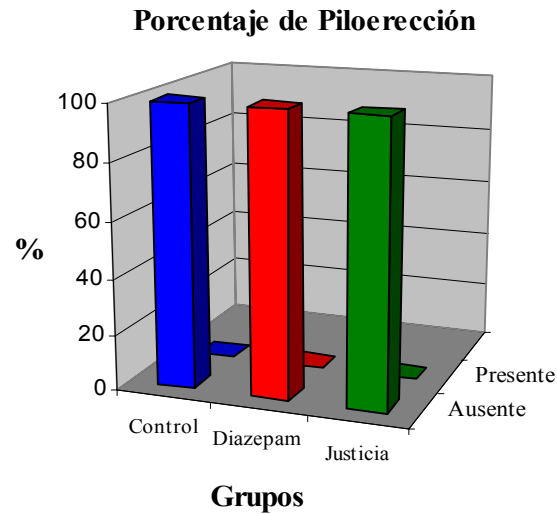


Gráfico 3: Piloerección en ratas, expresada en porcentajes, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.1.4 Respuesta pupilar: se presentó en todos los grupos en estudio (Gráfico 4).

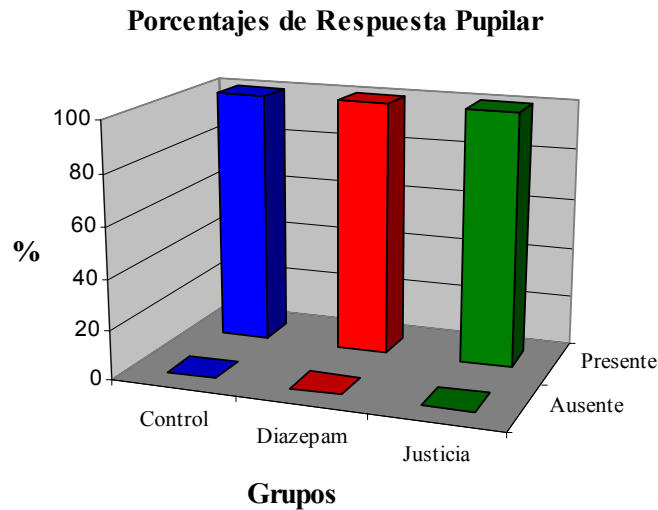


Gráfico 4: Respuesta pupilar en ratas, expresada en porcentajes, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.1.5 Respuesta a la manipulación: fue moderada en todas las ratas del grupo Diazepam y *Justicia pectoralis*, en el grupo Control se presentó en forma moderada en el 80% y en el 20% de los animales estuvo ausente (Gráfico 5).

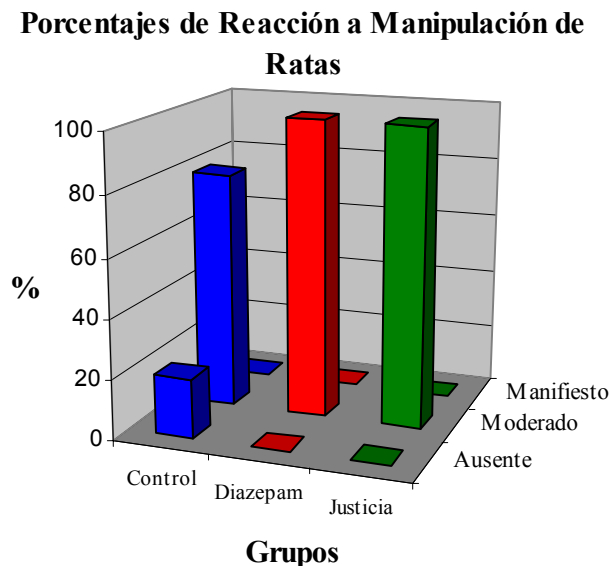


Gráfico 5: Reacción a la manipulación en ratas, expresada en porcentajes, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.1.6 Nivel de actividad: para los grupos tratados con Diazepam y *Justicia pectoralis* está representado por una respuesta de tipo moderado (100%), situación que es similar en el grupo Control (93,3%) (Gráfico 6).

Porcentajes de Nivel de Actividad en Ratas

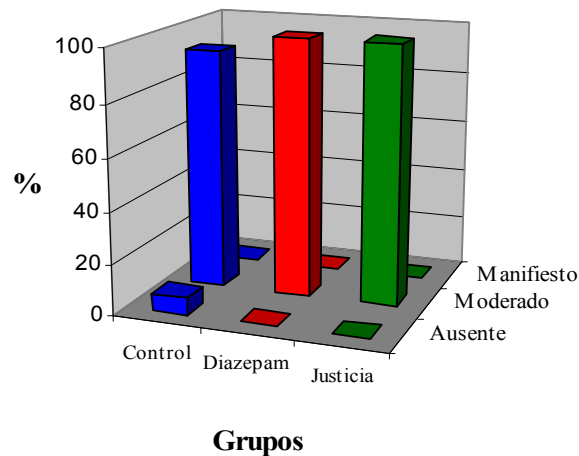


Gráfico 6: Nivel de actividad en ratas, expresada en porcentajes, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.1.7 Tono muscular: en ratas tratadas con el extracto de *Justicia pectoralis* se presentó moderada en un 100%, lo que se asemeja a las respuestas obtenidas del grupo Diazepam (93,3%), mientras que en el grupo Control las respuestas de tipo manifiesta representan el 53,3% y las reacciones moderadas un 46,7% (Gráfico 7).

Porcentajes de Tono Muscular

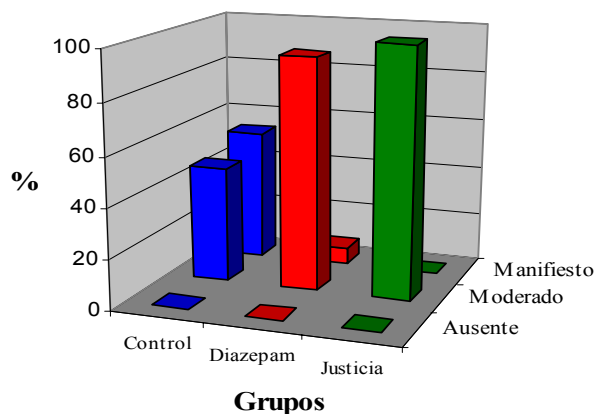


Gráfico 7: Tono muscular en ratas, expresada en porcentajes, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.1.8 Respuesta algésica al pinzar la cola: para el grupo Control fue compartida entre moderada (53,3%) y ausente (46,7%). Para el grupo Diazepam las respuestas fueron en su totalidad de tipo ausente, mientras que para el grupo *Justicia pectoralis* la ausencia de respuesta alcanzó el 93,3% (Gráfico 8).

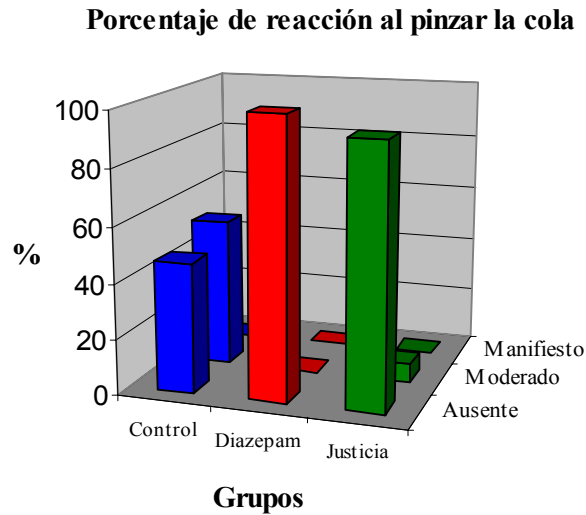


Gráfico 8: Respuesta algésica al pinzar cola de las ratas, expresada en porcentajes, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.1.9 Respuesta al ruido: se presentó en forma moderada en los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis* (100%), y Control (93,3%) (Gráfico 9).

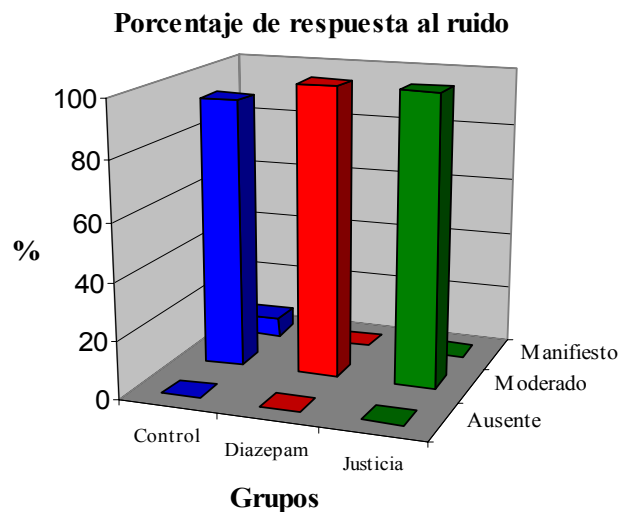


Gráfico 9: Respuesta al ruido en ratas, expresada en porcentajes para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.1.10 Las acciones repetitivas o estereotipadas estuvieron ausentes en los tres grupos de ratas en estudio (Gráfico 10).

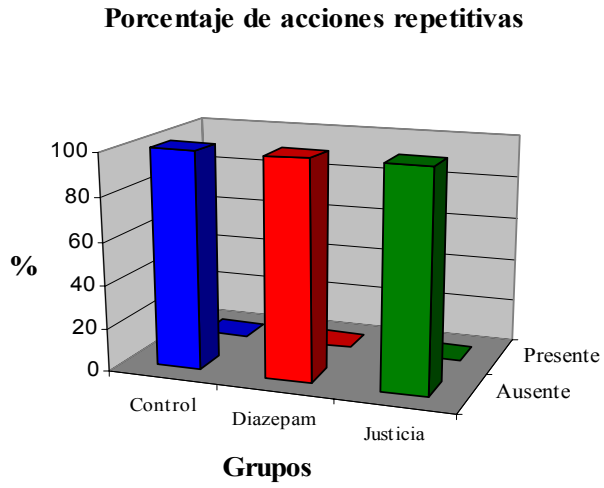


Gráfico 10: Acciones repetitivas en ratas, expresada en porcentajes, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

5.2. CAMPO ABIERTO CON AGUJEROS.

5.2.1 Cuadrados avanzados.

El análisis de los resultados de esta variable durante los primeros 5 minutos no reflejó diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre los tres grupos en estudio. (Gráfico 11, Anexo 8). Durante el segundo período de tiempo (minutos 6 al 10), el grupo Diazepam mostró diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) con los grupos Control y *Justicia pectoralis* (Gráfico 12, Anexo 9). Para los minutos totales, no hubo diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) para todos los grupos en estudio (Gráfico 13, Anexo 10).

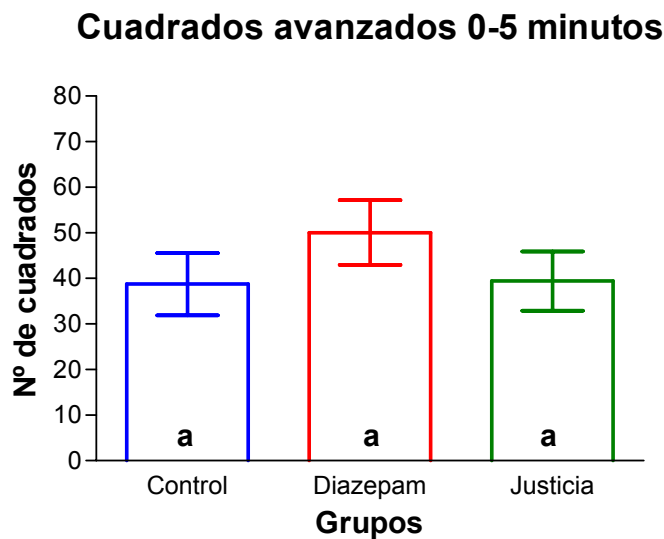


Gráfico 11: Número de cuadrados avanzados por las ratas (medias aritméticas \pm error típico⁴) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 0 a 5 minutos.

⁴ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

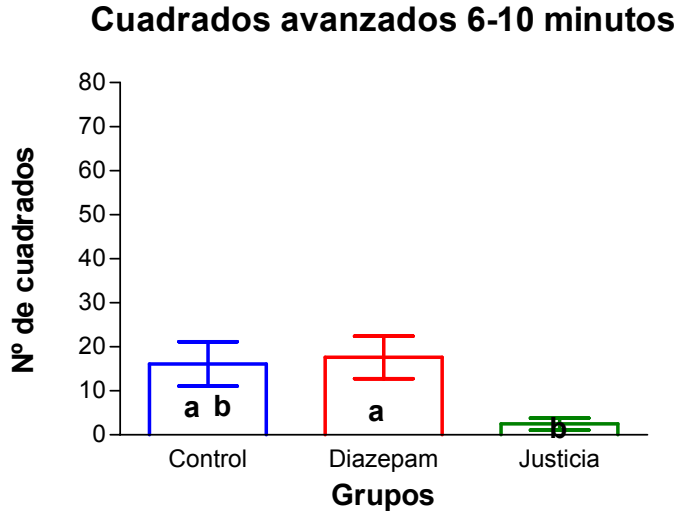


Gráfico 12: Número de cuadrados avanzados por las ratas (medias aritméticas ± error típico⁵) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 6 a 10 minutos.

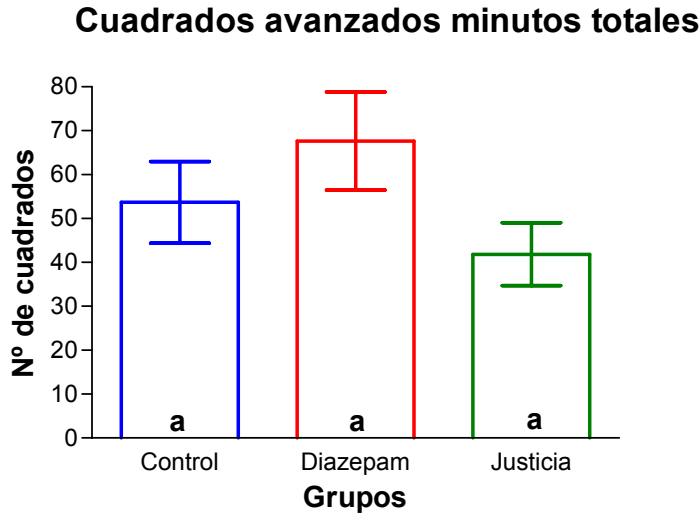


Gráfico 13: Número de cuadrados avanzados por las ratas (medias aritméticas ± error típico*) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los minutos totales.

⁵ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

5.2.2 Posiciones bípedas.

El análisis estadístico de los resultados de esta variable no presentó diferencia estadísticamente significativa durante los 0 a 5 minutos, 6 a 10 minutos y en los minutos totales ($p>0,05$) (Gráfico 14, Anexo 11; Gráfico 15, Anexo 12; Gráfico 16, Anexo 13).

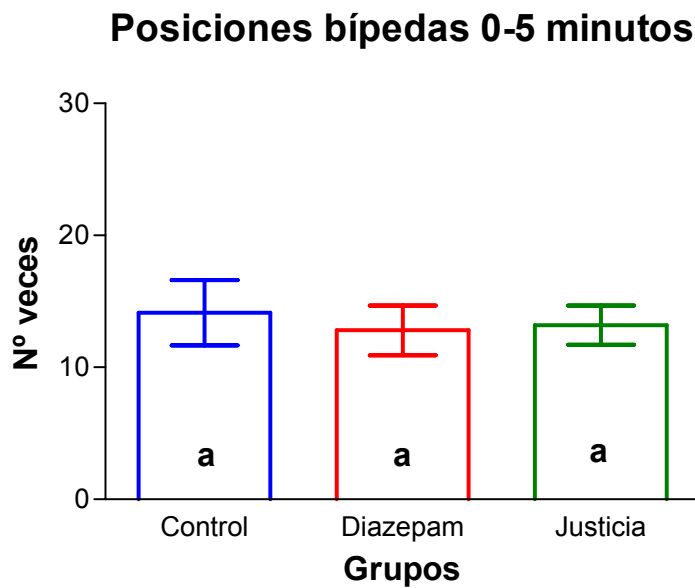


Gráfico 14: Número de posiciones bípedas realizadas por las ratas (medias aritméticas \pm error típico⁶) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 0 a 5 minutos.

⁶ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p>0,05$).

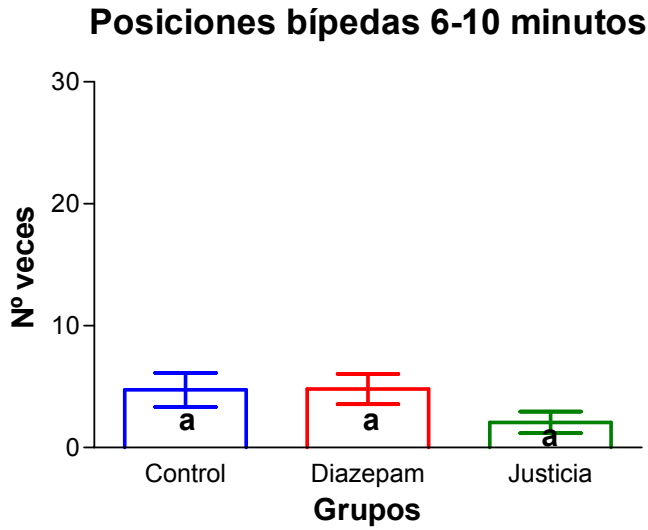


Gráfico 15: Número de posiciones bípedas realizadas por las ratas (medias aritméticas ± error típico⁷) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 6 a 10 minutos.

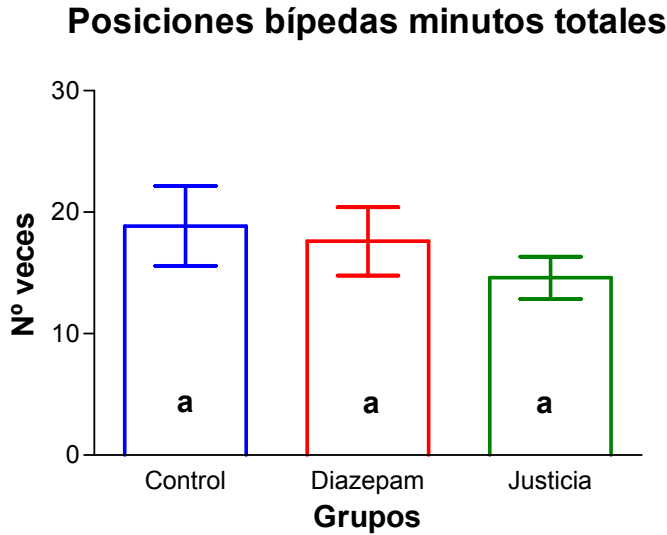


Gráfico 16: Número de posiciones bípedas realizadas por las ratas (medias aritméticas ± error típico*) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los minutos totales.

⁷ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

5.2.3 Intromisiones en agujeros.

El análisis entre grupos de esta variable durante los primeros 5 minutos no demostró diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) (Gráfico 17, Anexo 14).

En el segundo período, en el análisis de los resultados tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) (Gráfico 18, Anexo 15). Por lo tanto, el análisis arrojó los mismos resultados para los minutos totales (Gráfico 19, Anexo 16).

Intromisiones en agujero 0-5 minutos

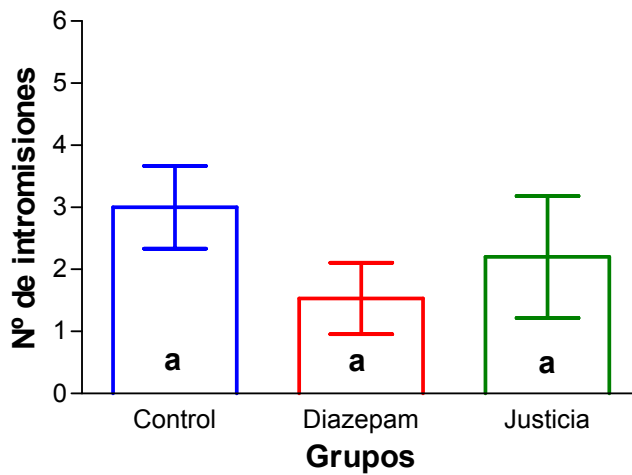


Gráfico 17: Número de intromisiones en los agujeros realizadas por las ratas (medias aritméticas \pm error típico⁸) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 0 a 5 minutos.

⁸ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p>0,05$).

Intromisiones en agujeros 6-10 minutos

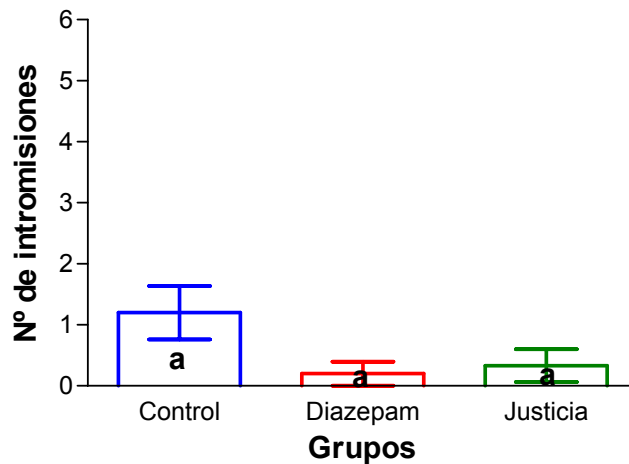


Gráfico 18: Número de intromisiones en los agujeros realizadas por las ratas (medias aritméticas \pm error típico⁹) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 6 a 10 minutos.

Intromisiones en agujeros minutos totales

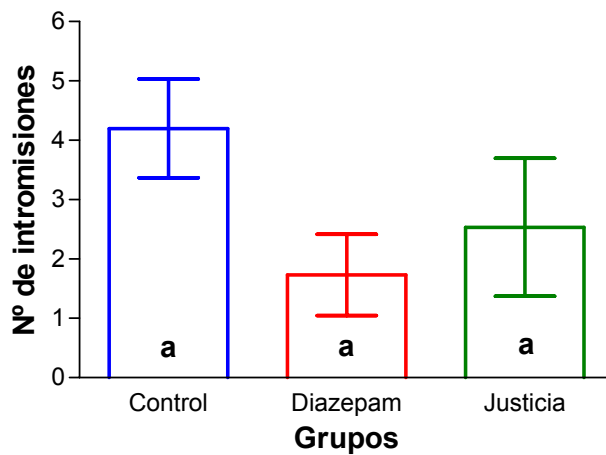


Gráfico 19: Número de intromisiones en los agujeros realizadas por las ratas (medias aritméticas \pm error típico*) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los minutos totales.

⁹ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

5.2.4 Número de crotines.

En el análisis estadístico durante los 0 a 5 minutos no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (Gráfico 20, Anexo 17), lo que se repite en el análisis realizado para los minutos totales (Anexo 19), ya que en el período de 6 a 10 minutos hubo ausencia de crotines en los tres grupos en estudio (Anexo 18).

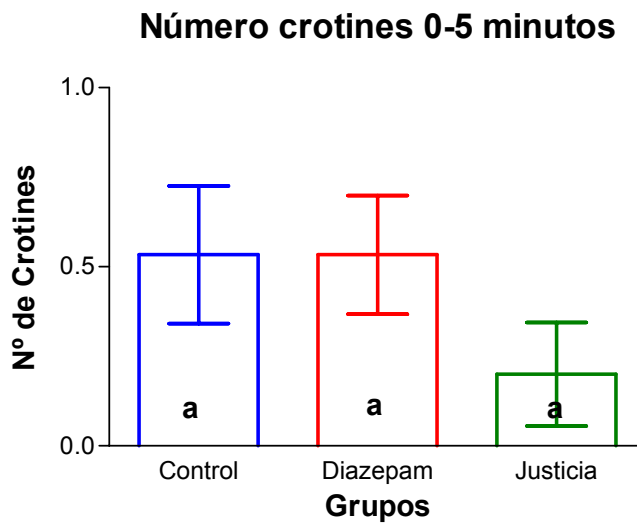


Gráfico 20: Número de crotines eliminados por las ratas (medias aritméticas \pm error típico¹⁰) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 0 a 5 minutos.

¹⁰ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

5.3.5 Número de aseos.

En el análisis de los resultados de esta variable durante los primeros 5 minutos, se observó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis* (Gráfico 21, Anexo 20).

En el segundo período no se manifestaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los tres grupos (Gráfico 22, Anexo 21).

Para el análisis realizado en el total de los minutos, hubo diferencia estadística entre los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis* ($p < 0,05$) (Gráfico 23, Anexo 22).

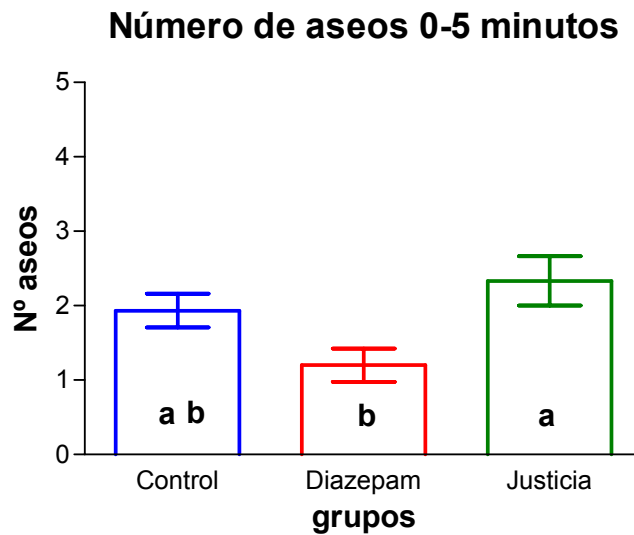


Gráfico 21: Número de aseos realizados por las ratas (medias aritméticas \pm error típico¹¹) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 0 a 5 minutos.

¹¹ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

Número de aseos 6-10 minutos

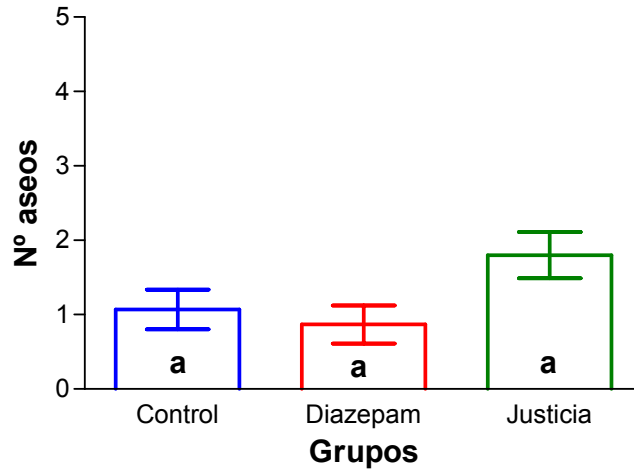


Gráfico 22: Número de aseos realizados por las ratas (medias aritméticas \pm error típico¹²) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 6 a 10 minutos.

Número de aseos minutos totales

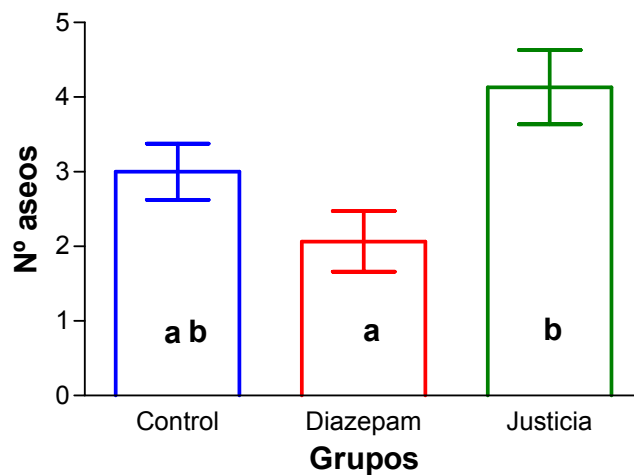


Gráfico 23: Número de aseos realizados por las ratas (medias aritméticas \pm error típico*) para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los minutos totales.

¹² Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

5.3.6 Duración de aseos.

Esta variable reflejó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre el grupo Diazepam y los grupos Control y *Justicia pectoralis* (Gráfico 24, Anexo 23).

En el período de 6 a 10 minutos no se observaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$) entre los grupos en estudio (Gráfico 25, Anexo 24).

En los minutos totales, el grupo Diazepam mostró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) con el grupo *Justicia pectoralis* (Gráfico 26, Anexo 25).

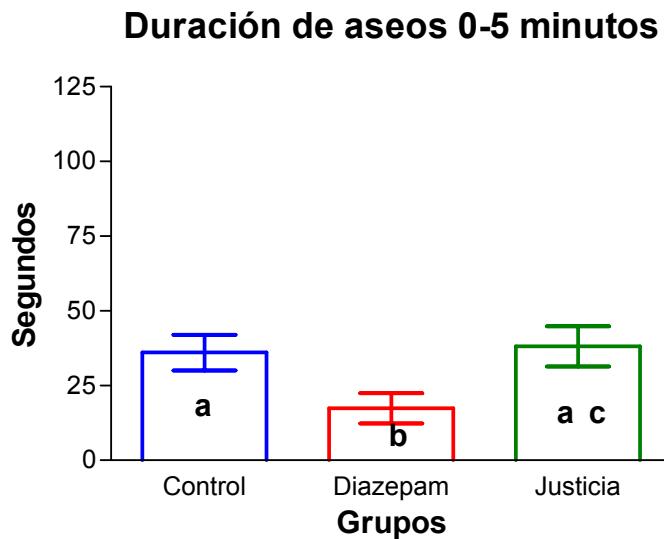


Gráfico 24: Duración de aseos expresado en segundos (medias aritméticas \pm error típico¹³), realizados por las ratas, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 0 a 5 minutos.

¹³ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

Duración de aseos 6-10 minutos

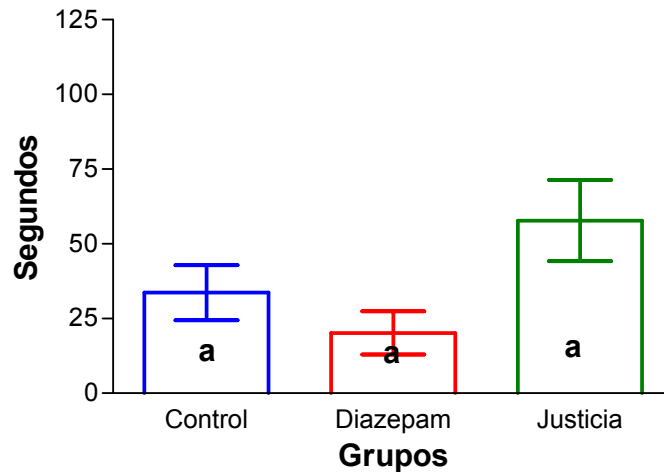


Gráfico 25: Duración de aseos expresado en segundos (medias aritméticas \pm error típico¹⁴), realizados por las ratas, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los 6 a 10 minutos.

Duración de aseos minutos totales

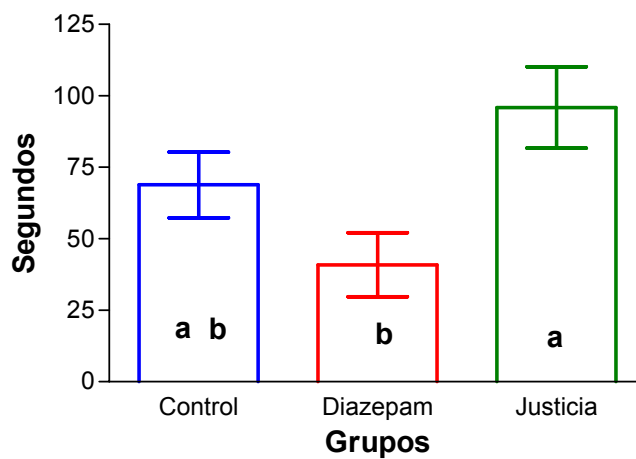


Gráfico 26: Duración de aseos expresado en segundos (medias aritméticas \pm error típico*), realizados por las ratas, para los grupos: Control, Diazepam y *Justicia pectoralis* durante los minutos totales.

¹⁴ Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

6. DISCUSIÓN

6.1 OBSERVACIÓN EN CAJA PORTA-RATA

Los cambios de comportamiento de las ratas fueron estimados usando una Batería de Observación Funcional (FOB), la que consta de una secuencia de observaciones y manipulación diseñada para evaluar la integridad neuronal por la vía de la función autónoma, motora, sensorial e integrativa.

En el presente estudio se utilizó una modificación de la Batería de Observación Funcional (FOB) que es un método que se usa actualmente por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (U.S. Environmental Protection Agency, EPA) para evaluar distintos compuestos mediante la función neuroconductual de animales de laboratorio (U.S. E.P.A, 1998).

6.1.1 Lagrimación.

Respuesta dependiente de Sistema Nervioso Autónomo (SNA), fundamentalmente de tipo parasimpático (Harman y col., 2003). La ausencia de lagrimación en todos los grupos en estudio indicaría que *Justicia pectoralis* en la dosis utilizada no produce actividad colinérgica o parasimpaticomimética. El extracto no desencadena dichos impulsos, debido a que son los agonistas muscarínicos quienes estimulan mayormente la actividad secretora glandular (Nicoll, 1998). Estos resultados también son esperables para el grupo de animales tratados con Diazepam ya que este fármaco no condiciona estas respuestas colinérgicas ni simpaticomiméticas.

6.1.2 Salivación.

La actividad de las glándulas salivales está modulada por SNA, preponderantemente parasimpático, existiendo también participación del SNA simpático (Harman y col., 2003). La ausencia de secreción salival evidente en los grupos de este estudio pondría de manifiesto que *Justicia pectoralis* no desencadena actividad colinérgica capaz de estimular secreción de estas glándulas

6.1.3 Piloerección.

La piloerección responde a impulsos adrenérgicos que son capaces de desencadenar contracción de los músculos pilomotores (Harman y col., 2003). La ausencia de respuesta señala que *Justicia pectoralis* en la dosis utilizada no produce actividad simpaticomimética capaz de desencadenar impulsos adrenérgicos.

6.1.4 Respuesta pupilar.

La variable respuesta pupilar se presentó en todos los grupos en estudio como reacción a un estímulo luminoso. La miosis o contracción pupilar es mediada por impulsos colinérgicos, mientras la midriasis o dilatación pupilar responde a impulsos adrenérgicos (Harman y col., 2003). La ausencia de midriasis permitiría concluir que el extracto de *Justicia pectoralis* en las condiciones de este estudio, no tendría actividad adrenérgica.

6.1.5 Respuesta a la manipulación.

La reacción de las ratas a un estímulo general, como la manipulación que se produce al retirar de la caja porta-rata, en el grupo Diazepam y *Justicia pectoralis* fueron de tipo moderada, mientras que Control, si bien presentó una mayoría una reacción moderada a la manipulación, existió un pequeño número de ratas en que esta respuesta estuvo ausente. Los resultados indicarían que *Justicia pectoralis* no ejercería un efecto depresor sobre el Sistema Nervioso Central (SNC), ya que según Ahumada (2000), se esperaría una tendencia a la hiporreactividad.

6.1.6 Nivel de actividad.

La actividad general de la rata en el grupo Control mostró un predominio de la reacción moderada. En los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis* todos los resultados fueron de este tipo, indicando que el extracto utilizado no presenta acción estimulante sobre el SNC, pero tampoco demuestran un posible efecto depresor selectivo sobre SNC (Álvarez, 2000).

6.1.7 Tono muscular.

Esta variable en el grupo Control presentó resultados compartidos entre las reacciones moderadas y manifiestas, existiendo una leve tendencia a estas últimas. El aumento de la contractilidad del músculo estriado es motivado por impulsos de tipo adrenérgico o simpáticos (Harman y col., 2003). Las benzodiazepinas ejercen efectos inhibitorios en los reflejos polisinápticos y la transmisión internuncial, y en dosis altas pueden deprimir la transmisión en las uniones neuromusculares esqueléticas (Katzung, 1999). Diazepam presentó una mayor respuesta de tipo moderada, a pesar de que Diazepam es un relajante de músculo estriado, esta respuesta predominante puede ser atribuible a la dosis empleada. En el grupo *Justicia pectoralis* la totalidad de las respuestas fueron de tipo moderada, lo que indicaría que el extracto posee una leve actividad relajante de músculo esquelético, ya que no existen respuestas de tipo manifiesta como sucedió en el grupo Control.

6.1.8 Respuesta algésica al pinzar la cola.

En la respuesta al pinzar el extremo de la cola de la rata existen diferencias claras entre el grupo Control y los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis*. En el grupo Control se presentó una leve tendencia de las ratas a desarrollar una respuesta moderada, mientras en Diazepam hubo ausencia de respuesta, lo que es similar en el grupo *Justicia pectoralis*. Se han observado efectos analgésicos de las benzodiazepinas en animales de experimentación, y sólo

es evidente una analgesia transitoria en seres humanos después de la administración intravenosa, pudiendo estos efectos consistir en realidad en producción de amnesia, sin embargo está claro que estas sustancias no causan hiperalgesia, a diferencia de los barbitúricos (Harman y col., 2003). También se demostraría que *Justicia pectoralis* tiene efecto analgésico, lo que concuerda con los resultados de Lino y col (1997), quienes describieron que los principales constituyentes de *Justicia pectoralis*, cumarina y umbeliferona, poseen actividades analgésicas y antiinflamatorias, con un mecanismo de acción similar a indometacina y fenilbutazona, con un efecto de por lo menos tres horas con inducción inflamatoria con carragenina. También las propiedades analgésicas y antiinflamatorias de *Justicia pectoralis* son atribuidas a componentes como ácido ascórbico además de los anteriormente mencionados¹⁵.

6.1.9 Reacción al ruido.

En la respuesta al emitir un sonido estándar cerca de la rata no hay diferencias marcadas entre los grupos estudiados, siendo Diazepam y *Justicia pectoralis* los grupos que arrojaron respuestas moderadas en su totalidad, siendo el grupo Control muy similar, ya que presentó un notable predominio de la reacción moderada. Los resultados de esta prueba no son muy aprovechables para determinar una acción de la planta sobre el SNC, se debe tener en cuenta que esta variable en su diseño original se aplica para evaluar audición de los animales (U.S. E.P.A, 1998).

6.1.10 Acciones repetitivas.

Hay ausencia absoluta de acciones repetitivas o estereotipadas en los tres grupos en estudio. En este sentido, los modelos animales de esquizofrenia, como un comportamiento estereotipado en roedores obedece a un aumento de la actividad dopaminérgica, a semejanza de lo que ocurre en la patología humana (CYTED, 2001).

¹⁵ <http://ars-grin.gov/duke/> Revisado el 1 de septiembre de 2004.

6.2 TABLERO DE CAMPO ABIERTO CON AGUJEROS

La prueba de Campo Abierto es una metodología que posee validez cuando se quiere evaluar medicamentos con efectos sedativos, porque el animal se adapta rápidamente al estrés generado en este espacio novedoso¹⁶.

Lo ideal para investigar efectos depresores de una droga es someter al animal a factores estresantes con la finalidad de aumentar los niveles de actividad (Kelley, 1993), logrando así evidenciar mejor la acción depresora que se quiere demostrar (RIVAPLAMED, 1996).

Los estímulos ansiogénicos que se emplearon en los animales durante el desarrollo de la prueba del Tablero de Campo Abierto con Agujeros fueron: estrés por ambiente desconocido, ayuno, iluminación, manipulación y administración forzada de las dosis correspondientes según el grupo al cual fueron designados aleatoriamente (RIVAPLAMED, 1996).

6.2.1 Cuadrados avanzados.

Se considera que el número de cuadrados avanzados es una medida de la actividad exploratoria, el aumento es un indicador de disminución de la emocionalidad (Candland y Nagy, 1969; Manickam y col., 1997). Katzung (1999), afirma que un animal tratado con un fármaco depresor del SNC posee una menor actividad motora .

El grupo de animales tratados con el extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* no presentó diferencia estadísticamente significativa al compararlo a los grupos Control y Diazepam en el período de 0 a 5 minutos.

Durante el segundo período (6 a 10 minutos), el grupo *Justicia pectoralis* reflejó una notable disminución de los cuadrados avanzados en comparación con el grupo Control y Diazepam. El grupo Control también presentó una disminución del número de cuadrados avanzados, lo que es corroborado por las investigaciones en el Tablero de Campo Abierto realizadas por Archer (1973) y Harro (1993) que señalan que después de transcurrir los primeros minutos de exposición, el estímulo se vuelve familiar para el animal, lo que se exterioriza por una disminución en la actividad exploratoria.

El total de cuadrados avanzados (0 a 10 minutos) no presentó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos en estudio; sin embargo se presentó una tendencia a un mayor número de cuadrados avanzados para el grupo Diazepam, seguido por el grupo Control y por el grupo con *Justicia pectoralis*. Esto concuerda con lo indicado por Pastene (1998) que señala que la disminución en la conducta exploratoria puede ser interpretada en forma bivalente como un indicio de estrés o sedación.

¹⁶ Comunicación del Dr. Sergio Mora. Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Si bien existe una leve tendencia en el grupo tratado con *Justicia pectoralis* a presentar menos cuadrados avanzados (que no es diferente estadísticamente significativa con los otros grupos) no es suficiente para ser atribuible a actividad ansiolítica o sedativa.

Los animales con alta emocionalidad responden disminuyendo su actividad motora y aumentando la defecación al ser expuestos a un ambiente extraño, como el reproducido en esta prueba (RIVAPLAMED, 1998). Lo que se contradice con lo expresado por Rex y col. (1998); Trevor y Way (1998), que manifiestan esperar que un animal tratado con un fármaco depresor del SNC tenga una actividad motora menor que los animales controles, específicamente en el caso de fármacos hipnóticos.

El número de cuadrados avanzados es un índice de actividad motora, y el emplearlo como una medición de ansiedad o ansiólisis no es suficiente, es necesario combinarlo con la medición de otras actividades. Por lo que la información de los cuadrados avanzados por si sola no es concluyente acerca de la acción depresiva del SNC (RIVAPLAMED, 1998).

6.2.2 Posiciones bípedas.

La postura bípeda es empleada por la rata para ampliar su campo visual frente a un ambiente desconocido y que les genera temor (Barnett, 1963), lo que implica que al aumentar la cantidad de veces que adopta esta posición, se siente más segura (Manickam y col., 1997; Soulimani y col., 1997). Esta medición es más sensible que el número de cuadrados avanzados para detectar disminución de la ansiedad, la ansiólisis se expresa aumentando el número de veces que adopta esta posición¹⁷ (Boissier y Simon, 1969).

Las posiciones bípedas deben ser consideradas como posibles indicadores de actividad ansiolítica porque es una actividad que demuestra un cierto grado de tranquilidad en un ambiente extraño y a la vez es una actividad de tipo exploratorio (Viola y col., 1994; RIVAPLAMED, 1998).

Durante los primeros cinco minutos los tres grupos de animales en estudio no presentaron mayores diferencias entre sí. La mayor actividad que manifestaron los grupos en estudio durante los minutos iniciales refleja una conducta exploratoria al inicio de la prueba cuando son sometidos al estímulo ansiogénico del ambiente desconocido.

Durante el segundo período de observación todos los grupos en estudio presentaron una notable disminución en el número de posiciones bípedas, en donde tampoco existieron diferencias significativas estadísticamente, lo cual concuerda con lo señalado por Archer (1973) quien menciona que el número de empinamientos realizados por las ratas en el Tablero de Campo Abierto presentan una declinación lineal a medida que aumenta el tiempo de permanencia del animal en el lugar, ya que éste se torna conocido una vez que lo ha explorado.

¹⁷ http://queendom.com/articles/pd_ckan.html Revisado el 4 de octubre de 2004.

Si bien existe una disminución de las posiciones bípedas en la segunda mitad del tiempo mostrado por todos los grupos, en el caso de Diazepam, esta respuesta no podría atribuirse al efecto miorelajante de este fármaco sobre el músculo esquelético, debido a que en la prueba de evaluación del tono muscular en caja porta rata se obtuvo un resultado de efecto moderado. Además la disminución de la acción miorelajante de Diazepam se debería a la dosis utilizada (1 mg/kg), ya que en dosis menores a 3mg/kg Diazepam ejerce un efecto ansiolítico sin generar relajación muscular. Por el contrario, a altas dosis, Diazepam posee efectos sedativos y miorelajantes (Viola y col., 1994). El efecto miorelajante de Diazepam impide mantener el tono muscular (Adams, 1995), lo que produciría una limitante para las ratas para incorporarse en sus miembros posteriores para realizar la postura bípeda

El grupo de animales tratados con el extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* presentó una disminución del número de posiciones bípedas, pero que no es estadísticamente significativa con el grupo Control. Según File y Pellow (1985) una reducción en el número de posiciones bípedas, cuando son comparadas con el grupo control, son compatibles con una acción sedativa.

La postura bípeda forma parte del comportamiento motor de un animal, por lo que sus interpretaciones pueden ser diferentes (Viola y col., 1994; RIVAPLAMED, 1998). Entonces pueden interpretarse como índices de ansiólisis o ser indicadores de incapacidad motora para la realización de esta postura que requiere tonicidad muscular y coordinación.

6.2.3 Intromisiones en agujeros.

La base de la utilización de esta prueba es que el ambiente extraño provoca ansiedad que se expresa disminuyendo el número de agujeros explorados, por lo que se asume que la actividad de introducir la cabeza en los agujeros es inversamente proporcional al estado de ansiedad, entonces un animal tranquilo, aumenta el número de intromisiones en los agujeros (RIVAPLAMED, 1998).

No existe diferencia estadística significativa entre los tres grupos en estudio, tanto en los períodos 0 a 5 minutos, 6 a 10 minutos y en los minutos totales, lo que implicaría la ausencia de efecto depresor sobre el SNC del extracto de *Justicia pectoralis*, ya que se espera que una acción sedativa sea compatible con una disminución en el número de intromisiones y tiempo de intromisión al ser comparadas con el grupo Control (File y Pellow, 1985). O que al aumentar el número de intromisiones en los agujeros demuestra un efecto de tipo ansiolítico (Viola y col., 1994).

Durante el transcurso de la prueba todos los grupos presentaron una disminución en el número de intromisiones en agujeros, no existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ellos, lo que Archer (1973) atribuye a que las respuestas exploratorias exhiben una declinación lineal al transcurrir el tiempo. La interpretación que se hace de estos resultados, muestra que *Justicia pectoralis* carece de actividad ansiolítica y sedativa.

6.2.4 Crotines.

El registro del número de bolos fecales es una forma de valorar la estimulación del Sistema Nervioso Autónomo imperante en un ambiente extraño y como las drogas pueden interferir aumentando o disminuyendo este parámetro (RIVAPLAMED, 1998).

Otra teoría menciona a la defecación como valor adaptativo porque provee de una huella o rastro con olor, y juega un rol en el comportamiento de marcaje territorial.

En esta variable no hubieron diferencias significativas entre los grupos, lo que puede deberse a que la variable número de crotines presentó valores muy disminuidos. Sin embargo, *Justicia pectoralis* presentó los menores valores con respecto a los otros grupos, hecho que sólo aconteció durante los primeros minutos, puesto que en el último período de observación se presentó ausencia total de crotines en los tres grupos en estudio.

El número de crotines indica el grado de emocionalidad de un animal, ya que al encontrarse en un territorio desconocido se provoca una mayor actividad del sistema nervioso autónomo, o que se expresa en una mayor cantidad de crotines depositados en el campo abierto, a causa de un aumento en el tono y peristalsis intestinal (Denenberg, 1969; Archer, 1973).

6.2.5 Número de aseos.

La conducta de acicalamiento es interpretada como un índice de ansiólisis en la rata y una disminución en el número de aseos es producto de un aumento de la tensión emocional debido a que en un ambiente nuevo la rata tiende a manifestar inmovilidad y a aumentar el estado de alerta. Esta es una variable muy sensible para determinar ansiólisis en la prueba de Campo Abierto con Agujeros (RIVAPLAMED, 1998). Los animales utilizan la conducta de aseo no tan solo para limpiar su piel y pelaje sino que también es usada para aliviar el estrés o dolor, como así mismo ha sido relacionado con la termorregulación, incluso se demuestra que el auto aseo en ratas machos jóvenes contribuye a la maduración de los genitales (Celis y Torre, 1993).

En esta variable durante los 0 a 5 minutos hubo diferencias significativas estadísticamente entre el grupo de ratas tratado con Diazepam y *Justicia pectoralis*. Si bien los animales bajo el efecto de *Justicia pectoralis* tendrían una conducta de tipo ansiolítica al aumentar el número de aseos que realizan, esto es cuestionable ya que no existen diferencias con el grupo Control. El grupo de animales tratados con Diazepam demuestra una disminución que sería atribuible a una leve acción miorrelajante, que se hace manifiesta en esta variable ya que la rata involucra una mayor cantidad de músculos debido a que tiene que adoptar la posición bípeda para realizar los aseos.

En los últimos cinco minutos se presentó una frecuencia inferior de los aseos, a pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas lo que no concuerda con lo dicho por Archer (1973), quien afirma que el número de aseos se acrecienta a medida que pasa el tiempo permaneciendo en un entorno novedoso.

Para los minutos totales la diferencia estadísticamente significativa se presentó entre el grupo Diazepam y *Justicia pectoralis*, lo que avalaría lo expresado con respecto al período comprendido entre los 0 a 5 minutos.

El menor número de aseos de los animales tratados con Diazepam sugiere que este fármaco genera algún efecto de tipo sedante por la lentitud psicomotora que genera, lo que haría que los animales tengan dificultad para realizar sus aseos de manera apropiada (Olavarría, 1999).

6.2.6 Duración de los aseos.

Se presentaron diferencias significativas estadísticamente en los primeros minutos entre el grupo Diazepam y los grupos de ratas tratados con *Justicia pectoralis* y Control.

Un animal tranquilo ocupará más tiempo en asearse mientras no haya algún estímulo que la perturbe (Barnett, 1963).

Si bien en el lapso comprendido entre los 6 a 10 minutos el grupo de animales tratados con *Justicia pectoralis* desarrolló un evidente mayor tiempo de aseos, no es suficiente para concluir que existe un efecto depresor selectivo de este extracto, ya que esta diferencia no fue significativamente estadística con ninguno de los otros dos grupos en estudio.

Al comparar los resultados para los minutos totales de los grupos Diazepam y *Justicia pectoralis* donde existe diferencia estadística significativa, nos permitiría sugerir un efecto sedante de Diazepam que se traduce en un menor tiempo de aseos, contrapuesto con la mayor duración de aseos del grupo *Justicia pectoralis*, lo que se debería a un efecto ansiolítico, pero esta afirmación se ve afectada al comparar al grupo *Justicia pectoralis* con el grupo de animales Control, donde no existe diferencia estadística significativa.

6.3 PROYECCIONES

Los resultados que se desprenden de este trabajo recomiendan nuevas investigaciones en pruebas de comportamiento con el extracto de *Justicia pectoralis* con una dosis mayor, ya que las variables conductuales son difíciles de apreciar, dando lugar a variabilidad en la respuesta condicionada por factores individuales como el Estado basal de conducta animal, que es la capacidad de responder a los estímulos, existiendo animales hiper o hiporreactivos que aportan mayor variabilidad, lo que genera dificultades para la interpretación de datos.

Por otra parte, la Prueba de tiempo de sueño inducido por Pentobarbital sódico las variables período de latencia para hipnosis, duración de hipnosis y depresión total demostraron que existe efecto depresor de esta planta sobre Sistema Nervioso Central¹⁸.

¹⁸ Comunicación personal con Delia Alarcón, tesista del Instituto de Farmacología UACH.

7. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos de las pruebas realizadas en este trabajo utilizando el extracto hidroalcohólico de *Justicia pectoralis* al 2%, administrado por vía oral en dosis de 100mg/k en ratas macho de la cepa Sprague-Dawley se concluye lo siguiente:

- No estimula las vías colinérgica y simpática, y no demuestra efecto depresor selectivo de Sistema Nervioso Central en ninguna de las dos pruebas utilizadas.
- Demuestra un efecto analgésico en la Prueba observación en caja porta-ratas.

Por lo anterior, se rechaza la hipótesis de trabajo.

8. BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, R. 1995, Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 7th ed., Iowa State University Press, Ames, United States of America.
- AHUMADA, A. 2000. Efecto de la administración del 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.
- ÁLVAREZ, M. 2000. Efecto del extracto liofilizado de *Stachytarpheta cayennensis* sobre el sistema nervioso central en ratas a través de Pruebas de Comportamiento y Tiempo de Sueño inducido con Pentobarbital Sódico. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- ÁLVAREZ, P., R. GARCÍA. 2002-2003. Recipe® Vademécum Veterinario. 1^a Edición. Recipe Consultora Científica Ltda. Chile, Santiago, Chile.
- ARCHER, J. 1973. Test for emotionality in rats and mice: a review. *Anim. Behav.*, 21:205-235. En ÁLVAREZ, M. 2000. Efecto del extracto liofilizado de *Stachytarpheta cayennensis* sobre el sistema nervioso central en ratas a través de Pruebas de Comportamiento y Tiempo de Sueño inducido con Pentobarbital Sódico. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- BARNETT, S.A. 1963. A study in behaviour: principles of ethology and behavioural physiology displayed mainly in the rat. Edit. Methuen, London. United Kingdom.
- BOISSIER, J., P. SIMON. 1969. Evaluation of experimental techniques in the psychopharmacology of emotion. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 159:899-912. En OLAVARRÍA, A. 1999. Efecto de la administración de *Passiflora incarnata* y *Passiflora coerulea*, sobre la conducta en ratas sometidas a pruebas de comportamiento. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- BOTANA, L. M., F. LANDONI, T. MARTÍN-JIMÉNEZ. 2002. Farmacología y terapéutica veterinaria. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España.
- CANDLAND, D., M. NAGY. 1969. The open field: some comparative data. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 159: 831-851. En AHUMADA, A. 2000. Efecto de la administración del 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.
- CELIS, M. E., E.TORRE. 1993. Measurement of grooming behavior. *Methods in Neuroscience*, 14: 378-387.
- CYTED. CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA EL DESARROLLO. 2001. Métodos de Avaliação da Atividade Farmacológica de Plantas Mediciniais. Recife. Brasil.
- 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.
- DOMENECH, J.M. 1980. Bioestadística. 3^a ed., Ed. Herder, Barcelona, España.
- DENENBERG, V. 1969. Open – Field behavior in the rat: what does it mean? *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 159: 853-859.
- 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.
- FILE, S.E., S. PELLOW. 1985. The effects of triazolobenzodiazepines in two animals test of anxiety and in the holeboard. *Br. J. Pharmacol.* 86:729-735. En ÁLVAREZ, M. 2000. Efecto del extracto liofilizado de *Stachytarpheta cayennensis* sobre el sistema nervioso central en ratas a través de Pruebas de Comportamiento y Tiempo de Sueño inducido con Pentobarbital Sódico. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- HARMAN, J. G., L. E. LIMBIRD, A. GOODMAN. 2003. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 10^a Edición. Mc Graw-Hill Interamericana Editores S.A. Ciudad de México, México.
- HARRO, J. 1993. Measurement of exploratory behavior in rodents. *Methods in Neuroscience*, 14: 359-377.
- HERNÁNDEZ, R., C. FERNÁNDEZ, P. BAPTISTA. 1996. Metodología de la Investigación. 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. 2nd ed., John Wiley and Sons. New York, United States of America.

- JOSEPH, H., J. GLEYE, C. MOULIS. 1988. Justicidin B, a cytotoxic principle from *Justicia pectoralis*. *Journal of natural products*, 51:599-600.
- KATZUNG, B. 1999. Farmacología básica y clínica. 7a ed., Editorial el Manual Moderno S.A., Santafé de Bogotá, Colombia.
- KELLEY, A. 1993. Locomotor activity and exploration. En Behavioural Neuroscience, a practical approach. Volume II .Edited by Arjun Sahgal. Oxford University Press, New York, United States of America.
- LINO, C. S., M. L. TAVEIRA, G. S. B. VIANA, J. A. MATOS. 1997. Analgesic and Antiinflammatory Activities of *Justicia pectoralis* Jacq and its Main Constituents: Coumarin and Umbelliferona. *Phytotherapy research*, 11:211-215.
- MANICKAM, M., P. PADMA, J. CHANSOURIA, A. RAY. 1997. Evaluation of antistress activity of Withafastuosin D, a Withanolide of *Datura fastuosa*. *Phytotherapy Research*, 11:384-385.
- MONTES, M. T., L. WILKOMIRSKY. 1985. Medicina Tradicional Chilena Editorial Universitaria Concepción. Concepción, Chile.
- NARANJO, C., U. BUSTOS. 1992. Métodos en farmacología clínica. Métodos de ensayos clínicos de medicamentos. Ed. OPS. Washington, United States of America.
- NICOLL, R. A. 1998. Introduction to the pharmacology of CNS drugs. En KATZUNG, B. G. 1998. Basic & Clinical Pharmacology. Appleton & Lange. Stamford, Connecticut, United States of America.
- OLAVARRÍA, A. 1999. Efecto de la administración de *Passiflora incarnata* y *Pasiflora coerulea*, sobre la conducta en ratas sometidas a pruebas de comportamiento. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- OLIVEIRA, A., C. ANDRADE. 2000. Caracterização morfológica de *Justicia pectoralis* Jacq. e *gendarussa* Burm. F. (Acanthaceae). *Acta amazónica*, 30:569-578.
- PASTENE, E., 1998. Fitofármacos de acción ansiolítico-sedante: estudio de *Passiflora coerulea* L. Tesis, Magister en Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Concepción, Facultad de Farmacia, Concepción, Chile.
- REX, A., J.P. VOIGT, M. VOITS, H. FINKS. 1998. Pharmacological evaluation of a modified open – field test sensitive to anxiolitics drugs. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 59: 677-683.
- RIVAPLAMED. REDE IBEROAMERICANA DE VALIÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS. 1996. I curso iberoamericano de validação de plantas medicinais com

atividade sedativa/tranquilizante 8-19 julho, Universidad de Coimbra. Coimbra, Portugal.

RIVAPLAMED, REDE IBEROAMERICANA DE VALIDAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS. 1998. II Curso de Validação de Plantas Mediciniais com Actividade no sistema nervoso Central. 6-17 Outubro 1997, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil.

SHARAPIN, N. 2000. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Coordinación editorial Yesid Bernal, Mahabir P. Gupta y Alvaro Campo. Santafé de Bogotá, Colombia.

SIEGEL, S. 1996. Metodología de la Investigación. Interamericana McGraw-Hill. New York, United States of America.

SOULIMANI, R., C. YOUNOS, S. JARMOUNDI, D. BOUSTA, R. MISSLIN, F. MORTHER. 1997. Behavioural effects of *Pasiflora incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse. *Journal of Ethnopharmacology*, 57:11-20.

THOMPSON, W. 1981. Las plantas medicinales, Ed. Blume, Barcelona. España.

TREVOR, A. J., W. L. WAY. 1998. Sedative-hypnotic drugs. En KATZUNG, B. G. 1998. Basic & Clinical Pharmacology. Appleton & Lange. Stamford, United States of America.

U.S. E.P.A., United States. Environmental Protection Agency, 1998. Neurotoxicity screening battery, Health effects test guidelines. Environmental Protection Agency, Washington, United States of America.

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). *Journal of Ethnopharmacology*, 44:47-53.

ZAR, H. 1999. Biostatistical Analysis. 4ª Edición. Upper Saddle River: Prentice-Hall. New York, United States of America.

Anexo 1: Pauta de observación en Caja porta-rata.**PAUTA DE OBSERVACIÓN PROGRAMADA EN CAJA PORTA-RATAS.**

Examinador		Fecha	
------------	--	-------	--

	Serie			
	Rata N°			
Puntaje	Variables			
1 a 3	Lagrимación			
1 a 3	Salivación			
1 a 2	Piloerección			
1 a 2	Respuesta pupilar			
1 a 3	Reacción a la manipulación			
1 a 3	Nivel de actividad			
1 a 3	Tono muscular			
1 a 3	Respuesta algésica			
1 a 3	Reacción al ruido			
1 a 2	Acciones repetitivas			

Rangos

1: Ausente

2: Moderado/Presente

3: Manifiesto

Rata/serie	Observaciones

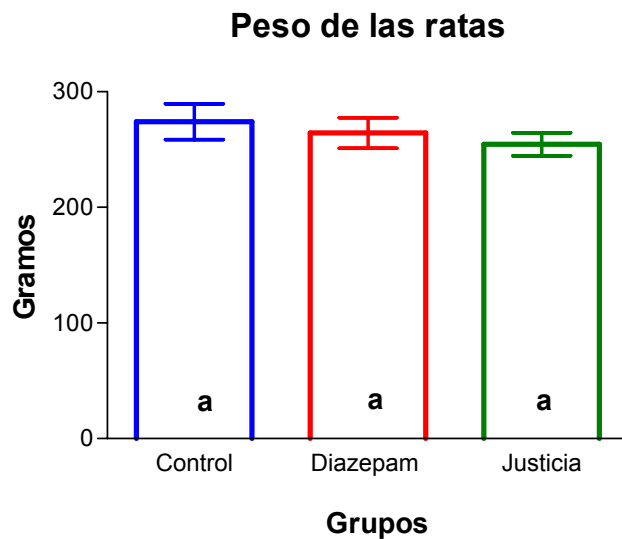
Anexo 2: Pauta de observación en Campo abierto con agujeros.**PAUTA DE OBSERVACIÓN PROGRAMADA EN CAMPO ABIERTO CON AGUJEROS**

Examinador		Fecha	
------------	--	-------	--

	0-5 minutos	Total	6-10 minutos	Total	Total 10 min
Cuadrados Avanzados					
Posiciones Bípedas					
Intromisiones en Agujeros					
Nº Crotines					
Número Aseos					
Duración Aseos					

Anexo 3: Tabla 1: Peso de las ratas expresado en gramos.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	285	287	257
2	319	331	268
3	328	293	290
4	300	304	262
5	323	317	280
6	323	287	293
7	325	270	307
8	342	306	288
9	294	314	291
10	250	260	236
11	201	216	226
12	180	215	215
13	180	191	200
14	180	190	180
15	281	184	226
Media	274,07	264,33	254,60
Error típico	15,53	13,28	9,98

Anexo 4: Gráfico peso de las ratas (media aritmética y su error típico¹⁹) para los grupos Control, Diazepam y *Justicia pectoralis*.

¹⁹Letras iguales indican diferencia estadística no significativa ($p > 0,05$).

Anexo 5: Tabla 2: Resultados obtenidos para el grupo Control en la prueba Observación en caja porta rata.

N°	Lacrim.	Saliv.	Piloerc.	Res.Pup.	Manip.	N. Act.	T. Musc.	R. Algés.	R. Ruido	Ac. Rep.
1	1	1	1	2	2	2	3	2	2	1
2	1	1	1	2	2	2	3	1	3	1
3	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1
4	1	1	1	2	2	1	3	1	2	1
5	1	1	1	2	2	2	3	2	2	1
6	1	1	1	2	1	2	2	1	2	1
7	1	1	1	2	1	2	2	2	2	1
8	1	1	1	2	1	2	3	1	2	1
9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1
10	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
11	1	1	1	2	2	2	3	1	2	1
12	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1
13	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1
14	1	1	1	2	2	2	3	2	2	1
15	1	1	1	2	2	2	3	1	2	1
% de 1	100	100	100	0	20	6,666667	0	46,66667	0	100
% de 2	0	0	0	100	80	93,33333	46,66667	53,33333	93,33333	0
% de 3	0	0			0	0	53,33333	0	6,666667	

Anexo 6: Tabla 3: Resultados obtenidos para el grupo Diazepam en la prueba Observación en caja porta rata.

N°	Lacrim.	Saliv.	Piloerc.	Res.Pup.	Manip.	N. Act.	T. Musc.	R. Alg.	R. Ruido	Ac. Rep.
1	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
2	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
3	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
4	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
5	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
6	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
7	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
8	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
9	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
10	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
11	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
12	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
13	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
14	1	1	1	2	2	2	3	1	2	1
15	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
% de 1	100	100	100	0	0	0	0	100	0	100
% de 2	0	0	0	100	100	100	93,33333	0	100	0
% de 3	0	0			0	0	6,666667	0	0	

Anexo 7: Tabla 4: Resultados obtenidos para el grupo *Justicia pectoralis* en la prueba Observación en caja porta rata.

N°	Lacrim.	Saliv.	Piloerc.	Res.Pup.	Manip.	N. Act.	T. Musc.	R. Alg.	R. Ruido	Ac. Rep.
1	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
2	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
3	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
4	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
5	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
6	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
7	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
8	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
9	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1
10	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
11	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
12	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
13	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
14	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
15	1	1	1	2	2	2	2	1	2	1
% de 1	100	100	100	0	0	0	0	93,33333	0	100
% de 2	0	0	0	100	100	100	100	6,666667	100	0
% de 3	0	0			0	0	0	0	0	

Anexo 8: Tabla 5: Número de cuadrados avanzados por las ratas durante los 0 a 5 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	23	47	18
2	33	29	32
3	32	50	55
4	2	10	20
5	1	36	51
6	29	56	55
7	79	29	34
8	0	56	26
9	31	59	79
10	46	86	28
11	49	32	16
12	82	91	66
13	65	22	88
14	63	110	0
15	46	38	23
Media	38,7	50,1	39,4
Error típico	6,8	7,1	6,5

Anexo 9: Tabla 6: Número de cuadrados avanzados por las ratas durante los 6 a 10 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	64	49	0
2	34	0	0
3	36	0	0
4	0	0	8
5	4	12	0
6	0	24	0
7	25	0	0
8	0	34	0
9	0	36	19
10	0	43	0
11	4	0	0
12	35	28	0
13	15	0	7
14	25	37	3
15	0	1	0
Media	16,1	17,6	2,5
Error típico	5,1	4,8	1,4

Anexo 10: Tabla 7: Número total de cuadrados avanzados por las ratas en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	69	96	18
2	67	29	32
3	68	50	55
4	2	10	28
5	5	48	51
6	29	80	55
7	104	29	34
8	0	90	26
9	31	95	98
10	46	129	28
11	53	32	16
12	117	119	66
13	80	22	95
14	88	147	3
15	46	39	23
Media	53,7	67,7	41,9
Error típico	9,3	11	7,2

Anexo 11: Tabla 8: Número de posiciones bípedas realizadas por las ratas durante los 0 a 5 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

Nº	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	13	12	5
2	16	9	14
3	10	17	19
4	1	5	13
5	1	11	14
6	13	19	18
7	32	4	12
8	0	11	18
9	6	3	19
10	28	31	13
11	15	8	5
12	23	21	17
13	21	11	18
14	17	14	0
15	16	16	13
Media	14,1	12,8	13,2
Error típico	2,5	1,9	1,5

Anexo 12: Tabla 9: Número de posiciones bípedas realizadas por las ratas durante los 6 a 10 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

Nº	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	16	11	0
2	13	1	1
3	7	0	0
4	0	2	4
5	0	4	0
6	0	11	1
7	6	0	1
8	0	11	5
9	0	4	1
10	2	15	0
11	2	1	0
12	11	5	3
13	9	1	4
14	5	2	0
15	0	4	1
Media	4,7	4,8	1,4
Error típico	1,4	1,2	0,45

Anexo 13: Tabla 10: Número de posiciones bípedas totales realizadas por las ratas en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	29	23	5
2	29	10	15
3	17	17	19
4	1	7	17
5	1	15	14
6	13	30	19
7	38	4	13
8	0	22	23
9	6	7	20
10	30	46	13
11	17	9	5
12	34	26	20
13	30	12	22
14	22	16	0
15	16	20	14
Media	18,9	17,6	14,6
Error típico	3,3	2,8	1,7

Anexo 14: Tabla 11: Número de intromisiones realizadas por las ratas durante los 0 a 5 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	0	0	0
2	1	1	1
3	1	0	0
4	6	0	0
5	5	7	0
6	2	0	1
7	6	0	2
8	1	2	0
9	1	1	10
10	0	5	0
11	4	0	0
12	2	0	12
13	2	3	3
14	8	4	4
15	6	0	0
Media	3	1,5	2,2
Error típico	0,67	0,58	0,98

Anexo 15: Tabla 12: Número de intromisiones realizadas por las ratas durante los 6 a 10 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

Nº	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	2	0	0
2	4	0	0
3	1	0	0
4	0	0	0
5	3	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	4
10	0	3	0
11	0	0	0
12	4	0	0
13	0	0	0
14	4	0	1
15	0	0	0
Media	1,2	0,2	0,3
Error típico	0,44	0,2	0,27

Anexo 16: Tabla 13: Número de intromisiones totales realizadas por las ratas en el Tablero campo abierto con agujeros.

Nº	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	2	0	0
2	5	1	1
3	2	0	0
4	6	0	0
5	8	7	0
6	2	0	1
7	6	0	2
8	1	2	0
9	1	1	14
10	0	8	0
11	4	0	0
12	6	0	12
13	2	3	3
14	12	4	5
15	6	0	0
Media	4,2	1,7	2,5
Error típico	0,83	0,69	1,2

Anexo 17: Tabla 14: Número de crotines eliminados por las ratas durante los 0 a 5 minutos en la superficie del Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	0	1	0
2	0	0	0
3	1	1	1
4	0	0	0
5	0	2	0
6	1	0	0
7	0	0	0
8	1	0	0
9	1	0	0
10	0	1	0
11	0	1	0
12	2	0	0
13	2	1	0
14	0	0	2
15	0	1	0
Media	0,5	0,5	0,2
Error típico	0,19	0,17	0,14

Anexo 18: Tabla 15: Número de crotines eliminados por las ratas durante los 6 a 10 minutos en la superficie del Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0
Media	0	0	0
Error típico	0	0	0

Anexo 19: Tabla 16: Número de crotones totales eliminados por las ratas en la superficie del Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	0	1	0
2	0	0	0
3	1	1	1
4	0	0	0
5	0	2	0
6	1	0	0
7	0	0	0
8	1	0	0
9	1	0	0
10	0	1	0
11	0	1	0
12	2	0	0
13	2	1	0
14	0	0	2
15	0	1	0
Media	0,5	0,5	0,2
Error típico	0,19	0,17	0,14

Anexo 20: Tabla 17: Número de aseos realizados por las ratas durante los 0 a 5 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	2	2	1
2	3	0	2
3	2	1	5
4	2	0	3
5	2	1	3
6	1	2	2
7	1	1	2
8	0	2	2
9	1	0	2
10	3	1	2
11	2	1	0
12	2	2	2
13	3	1	4
14	2	1	1
15	3	3	4
Media	1,9	1,2	2,3
Error típico	0,23	0,22	0,33

Anexo 21: Tabla 18: Número de aseos realizados por las ratas durante los 6 a 10 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	2	0	1
2	1	0	1
3	0	0	2
4	1	0	1
5	0	0	4
6	2	2	0
7	2	0	2
8	0	2	3
9	0	1	1
10	2	1	3
11	3	0	0
12	1	1	3
13	0	3	1
14	0	1	3
15	2	2	2
Media	1,1	0,9	1,8
Error típico	0,27	0,26	0,31

Anexo 22: Tabla 19: Número de aseos totales realizados por las ratas en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	4	2	2
2	4	0	3
3	2	1	7
4	3	0	4
5	2	1	7
6	3	4	2
7	3	1	4
8	0	4	5
9	1	1	3
10	5	2	5
11	5	1	0
12	3	3	5
13	3	4	5
14	2	2	4
15	5	5	6
Media	3	2,1	4,1
Error típico	0,378	0,4079	0,4963

Anexo 23: Tabla 20: Duración de aseos expresados en segundos realizados por las ratas durante los 0 a 5 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	27	20	23
2	51	0	32
3	13	6	51
4	28	0	36
5	52	12	69
6	25	27	34
7	21	15	39
8	0	33	25
9	75	0	28
10	56	10	34
11	34	10	0
12	13	19	28
13	71	21	58
14	15	9	7
15	60	79	108
Media	36,1	17,4	38,1
Error típico	6	5,1	6,7

Anexo 24: Tabla 21: Duración de aseos expresados en segundos realizados por las ratas durante los 6 a 10 minutos en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	35	0	80
2	13	0	5
3	0	0	38
4	63	0	45
5	25	0	56
6	63	87	0
7	72	0	33
8	0	64	82
9	0	36	31
10	95	7	123
11	97	0	0
12	7	30	194
13	0	20	85
14	0	5	83
15	35	54	12
Media	33,7	20,2	57,8
Error típico	9,2	7,3	14

Anexo 25: Tabla 22: Duración de aseos totales expresados en segundos realizados por las ratas en el Tablero campo abierto con agujeros.

N°	Grupos		
	Control	Diazepam	Justicia
1	52	70,02	103
2	64	0	37
3	0	6	89
4	91	0	81
5	77	12	125
6	88	114	34
7	93	15	72
8	0	97	107
9	75	36	59
10	151	17	157
11	131	10	0
12	20	49	222
13	71	41	143
14	15	14	90
15	95	133	120
Media	68,2	40,9	95,9
Error típico	11	11	14

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Marcos Moreira, que con su guía y valiosa ayuda hizo posible la realización de este trabajo.
- Al Dr. Frédérick Ahumada, por la gran ayuda y disposición manifestada.
- A la señora Nury Sanchez, por su trabajo en la elaboración de extractos.
- A la señorita Juanita Vargas, por la colaboración prestada.
- Al Dr. Juan Luis Hancke , al Dr. Rafael Burgos y a la Dra. Viviana Bustos.
- Al señor Darío Salazar, por la cooperación entregada en los trabajos del Bioterio.
- A la señora Anoland Garateix, Lic.Biol., Centro de Bioactivos Marinos, Cuba.
- A Delia Alarcón.