

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE FARMACOLOGÍA

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DE *Cecropia sp.* SOBRE LA
CONDUCTA EN RATAS, SOMETIDAS A PRUEBAS DE COMPORTAMIENTO**

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

PAULA LORENA MANCILLA MANCILLA
VALDIVIA – CHILE
2005

PROFESORA PATROCINANTE : **Dra. Viviana Bustos S.**
Nombre Firma

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

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

PROFESORES CALIFICADORES : **Dr. Juan Hancke O.**
Nombre Firma

Dr. Roberto Murua B.
Nombre Firma

FECHA DE APROBACIÓN : 28 de junio de 2005

ÍNDICE.

| | Pág. |
|-------------------------|------|
| RESUMEN..... | 1 |
| SUMMARY..... | 2 |
| INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| MATERIAL Y MÉTODOS..... | 8 |
| RESULTADOS..... | 14 |
| DISCUSIÓN..... | 24 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 29 |
| ANEXOS..... | 32 |
| AGRADECIMIENTOS..... | 37 |

Con cariño, a mi familia.

1. RESUMEN

Se evaluó el efecto de la administración vía oral del extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp* sobre el Sistema Nervioso Central de la rata, mediante la realización de las pruebas de Observación en caja porta-rata y prueba de campo abierto con agujeros, las cuales permiten identificar el posible efecto depresor a nivel del Sistema Nervioso Central de las sustancias vegetales en estudio.

Se utilizaron 45 ratas machos de cepa Sprage-Dawley, con un peso aproximado entre 180 y 250 gramos, distribuidas al azar en 3 grupos: Grupo 1 agua destilada, Grupo 2 Diazepam al 0,02 % en dosis de 1 mg/kg, Grupo 3 Extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp* al 2 % en dosis de 100mg/kg.

Los animales se mantuvieron en ayuno por 24 horas y posteriormente se le administró a cada uno, dosis isovolumétricas de las soluciones en 0,5 ml por 100 g de peso. Las ratas fueron sometidas a modelos experimentales en forma individual, donde luego de 30 minutos de latencia, el animal permaneció 5 minutos en caja porta-rata para la observación de las variables cualitativas de estudio, evaluando lagrimación, salivación, piloerección, nivel de actividad, reacción al ruido y al pinzar la cola, manipulación al retirar la rata, tono muscular, respuesta pupilar y acciones repetitivas. Consecutivamente la rata fue situada sobre el centro del tablero de campo abierto con agujeros para observar su conducta por 10 minutos, se controló el número de cuadrados avanzados, número de posiciones bípedas, número de intromisiones en agujeros, número de crotones, número y duración de los aseos.

De acuerdo a los resultados obtenidos es posible concluir que el extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp* en la dosis empleada, no evidencia acción de tipo ansiolítica en las variables cuantitativas ($p > 0,05$) del tablero de campo abierto con agujeros, mientras que lo observado en las variables cualitativas en la prueba de observación en caja porta-rata indica que no produce depresión del sistema nervioso central.

Palabras claves: ansiedad, *Cecropia sp*, campo abierto, observación en caja porta-rata.

2. SUMMARY

“Effect of the administration of *Cecropia sp* extract on the conduct of rats, submitted to the behavior test”

The effect of the, oral administration of *Cecropia sp* hidroalcoholic extract on the nervous central system of rats was evaluated, by using the observation method in a keeping-rats box test and Open field test with hole, which allow to identify the possible depressor effect on the nervous central system of vegetables substances in study.

45 male Sprage-Dawley rats with 180- 250 g body weight, distributed at random in three groups as follows: Group 1 distilled water, Group 2 Diazepam solution at 0,02 % at a dose of 1 mg/kg, Group 3 hidroalcoholic extract of *Cecropia sp* in a 2 % solution at a dose of 100 mg/kg.

The animals were on fasting for 24 hours and after this period the corresponding dose of solution was administered in isovolumetric doses of 5 ml by 100 g body weight. The rats were submitted to experimental model individually them after 30 minutes of latency, the animal stayed for 5 minutes in a keeping-rats box in order to observe qualitative variables, like shedding tears, salivation, piloerection, activity level, noise and tail compression reaction, holding out the rats, muscular tone, pupillary response and repetitive action. Consecutively the rats was placed in the center of the open field with holes to observe its behaviour for 10 minutes, the number of squares crossings, number of rearing, number of head-dipping, number of faecal boli, number an duration of grooming.

It can be conclude that *Cecropia sp* hidroalcoholic extract in the dose, does not show any action like anxiolytic effect in quantitative variables ($p > 0,05$), in the open field with holes, while what was observed in qualitative variable in the observation in a keeping-rats box test indicate that extract is not produce depression of the nervous central system.

Keywords: anxiety, *Cecropia sp*, open field, home cage observation.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. ANSIEDAD Y TRATAMIENTOS.

La ansiedad es uno de los disturbios del Sistema Nervioso Central (S.N.C) más frecuentes en la población de países industrializados, su incidencia ocurre en respuesta a numerosos factores sociales y ambientales (RIVAPLAMED, 1996). Es una reacción adaptativa de emergencia ante situaciones que representen o sean interpretadas como una amenaza o peligro para la integridad psicofísica del individuo (Vallejo y Gastó, 2000).

Se considera como un síndrome que involucra varios aspectos, dentro de lo emocional se manifiesta como una inquietud psíquica, nerviosismo, sentirse atrapado, temores difusos, existen preocupaciones excesivas sobre circunstancias reales o imaginarias del presente o del futuro. En el aspecto conductual, suele estar presente la tendencia al llanto y sobrecarga tensional. Un sujeto con ansiedad se encuentra tembloroso, con dolores musculares, debilidad, cansancio, incapacidad para relajarse. Se describe una hiperactivación autonómica, que se traduce en la presencia de síntomas cardiocirculatorios (palpitaciones, taquicardia), respiratorios (disnea, asfixia, hiperventilación, bostezos), sensoriales (mareos, visión borrosa, midriasis), digestivos (disfagia, vómitos, diarrea, estreñimiento), vegetativos (oleadas de calor, sudoración, sequedad de boca, manos frías y húmedas, tenesmo) e instintivos (insomnio de conciliación, pasadillas, anorexia, hiperfagia), entre otros (Vallejo y Gastó, 2000).

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. Sin embargo se dan variaciones individuales dentro de cada especie. En las ratas el patrón preponderante para evidenciar ansiedad es la inmovilidad (RIVAPLAMED, 1996). En animales de compañía se presenta como ladridos obsesivos, conducta agresiva, automutilación (Botana y col., 2002).

El grupo más utilizado corresponde a la familia de las Benzodiazepinas desde que en 1960 se comercializó la primera benzodiazepina, el clordiazepóxido, éstas tienen escasos efectos adversos y un amplio espectro de acción, estos fármacos son ansiolíticos, relajantes musculares, hipnóticos, anticonvulsivantes, poseen acción rápida, pocas interacciones, escaso riesgo de sobredosis, amplio margen terapéutico. Está establecido que su acción terapéutica la ejerce sobre el receptor para GABA (Ácido Gaba Amino Butírico), que es el neurotransmisor inhibitor más abundante en el S.N.C, también modifican de forma indirecta, otros neurotransmisores como serotonina, acetilcolina, noradrenalina, dopamina. En concreto la benzodiazepina se fija a su receptor específico, lo cual provoca cambios estructurales en el complejo GABA que se traducen en una apertura del canal de cloro, con lo que se produce una hiperpolarización de la membrana, bloqueándose la conducción del impulso nervioso, lo que, en términos clínicos implica ansiólisis y sedación (Vallejo y Gastó, 2000, Botana y col., 2002).

Algunos efectos adversos que pueden provocar el uso de este tipo de fármacos son vértigo, náuseas, vómitos. Hay que considerar que el uso crónico de éstas, plantea el riesgo de aparición de dependencia. Los síntomas de supresión pueden consistir en intensificación de la ansiedad, insomnio, irritabilidad, sudoración, temblores, anorexia, mareos, en especial cuando la suspensión del tratamiento con benzodiazepinas ocurre de manera repentina (Harman y col, 2003).

En los últimos años, en los países desarrollados, ha disminuido el uso de fármacos sintéticos, comenzando el movimiento popular encaminado a volver a lo natural. En países en vías de desarrollo la situación se presenta de una manera diferente, ya que sólo una parte de la población tiene acceso económicamente a productos sintéticos (Hoffman y col., 1992).

La Organización Mundial de la Salud (O.M.S) define a 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 principal fundamento del empleo de las plantas medicinales lo encontramos en su baja toxicidad, esto permite que sean utilizadas por tratamientos prolongados sin producir dependencia, no obstante el uso inadecuado de éstas pueden provocar efectos secundarios (Pastene, 1998).

Para lograr el empleo de plantas en la salud deben cumplir con los requisitos de todo fármaco es decir, conocimiento de sus propiedades, efectos, colaterales y adecuada prudencia en su utilización. La fitoterapia término procedente del griego *phytos*: planta, y terapia: tratamiento, se convierte en la ciencia del tratamiento de la enfermedades por medio de plantas o sustancias vegetales (Briones, 1996).

Existe un variado grupo de plantas que son utilizadas como ansiolíticas, dentro de la medicina popular, como: Avena (*Avena sativa*) su uso se centra principalmente en la semilla y hojas, posee ciertos principios activos como el almidón, sales minerales, vitaminas A; B₁ y D, se dice que posee propiedades diuréticas, laxante, y coadyuvante en hipertensión. Lavanda (*Lavandula angustifolia*), su parte utilizada es la flor, posee derivados terpénicos como cumarina, ácido ursólico, aceite esencial, se usa además como espasmolítico, antiséptico, hipotensor y cicatrizante. Melisa (*Melissa officinalis*), se acostumbra tomar una infusión de ella después de cada comida, ya que posee propiedades carminativas. Passiflora (*Passiflora incarnata*), posee alcaloides y flavonoides, estudios en animales han demostrado que posee propiedades sedativas y anticonvulsivantes. Valeriana (*Valeriana officinalis*), se ha demostrado que su uso es similar al de las benzodiazepinas ya que además de poseer actividad ansiolítica, es anticonvulsivante y relajante muscular (Fitoterapia, 1992, Chandler, 2000).

3.2. *Cecropia sp.* (Foto 1 y 2).

Cecropia sp pertenece al phylum Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, familia *Cecropiaceae*, orden *Urticales* también conocida como burriada, yarumo, cético, embauba, chancarro, trompeto u hormiguillo.

Es un árbol que alcanza hasta 15 m de altura, poco ramificado, recto, con tronco liso y anillado. Hojas orbiculares, de 30-50 cm de diámetro, generalmente con 7-9 lóbulos que llegan hasta la mitad de la hoja o más, de obtusos a redondeados en el ápice. Lámina algo escábrida en el haz y densamente blanco-tomentosa en el envés. Pecíolo grueso, de hasta 30-40 cm de largo, pubescente. Estípulas de 6-9 cm de longitud. Espigas masculinas en grupos de hasta 12-30, de unos 2-5 cm de largo, cortamente pediceladas; espigas femeninas amarillentas, sésiles, dispuestas en grupos de 2 a 6, de unos 4-5 cm de largo y algo más gruesas que las masculinas, agrandándose en la fructificación. Fruto de 10-12 cm. de largo, grisáceo con punteado negruzco, carnoso, conteniendo 1 semilla¹.

Planta originaria de América central desde el sur de México hasta el norte de Sud América. En selvas centroamericanas se puede encontrar a una altitud desde los 0 hasta los 800 metros².

Es una especie que crece cerca de los arroyos, en claros y bordes. Se desarrolla en suelos con buen drenaje como en suelos volcánicos y sedimentarios².



Foto 1: Hoja de *Cecropia sp.*

¹ www.arbolesornamentales.com/cecropiapeltata.htm Revisado el 15 de Octubre del 2004.

² www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/49-morac3m.pdf Revisado el 10 de Octubre de 2004.



Foto 2: Detalle de fruto de *Cecropia sp.*³

Estudios demuestran que las hojas y la corteza contienen alcaloides (cecropina), heterósidos cardiotónicos, flavonoides, taninos, heterósidos saponinicos (CYTED, 1998). Se han reportado compuestos específicos como ambaina, ácido araquidónico, ácido cerótico, isoorientina, leucocianidina⁴.

Posee aplicaciones principalmente en casos de diabetes, asma y problemas renales, donde el tratamiento consiste en emplear las hojas, ramas, corteza, o raíz como infusión. Recomendada, contra picaduras de alacrán, hormigas y excesiva salivación, para lo cual debe lavarse la parte afectada con infusión de las hojas, previamente endulzado con miel de abeja².

En el Salvador se usa para calmar los nervios y contra el dolor de estómago, se prepara en un mortero machacando las hojas y agregándole un poco de agua, se toma una copita 3 veces al día (CYTED, 1998).

Se describe actividad hipoglicémica de *Cecropia obtusifolia* (Andrade y Wiedenfeld, 2001), administrada a ratas albinas diabéticas, en dosis de 90 y 150mg/kg., utilizando como solvente agua y butanol en dosis de 9 y 15mg/kg., produciendo una baja significativa de glucosa en el plasma tres horas después de administrado el extracto.

El extracto liofilizado de *Cecropia obtusifolia*, administrado i.v en ratas espontáneamente hipertensas (50mg/kg), mostró propiedades antihipertensivas. La presión arterial disminuyó en un 76,4% con respecto al grupo Control (165.5 mmHg), 45 minutos después de la inyección. Esta disminución de la presión arterial media, no fue acompañada de variaciones de la frecuencia cardíaca, lo cual indica que no hay participación del nodo sinusal directa o indirectamente en la hipotensión observada (Salas, 1987).

³ www.biologe.de/Nuetzliches/botanik_online/d49/cecropia.htm. Revisado el 10 de Enero de 2005.

⁴ www.rain-tree.com/cecropia.htm , Revisado 10 de enero del de 2004.

Se describen propiedades diuréticas, en ratas Sprage-Dawley, en el cual se administró extracto de la planta en dosis de 250 y 500 mg/kg vía oral, aumentando un 20% el flujo urinario y entre otros hallazgos, se observa una mínima depresión del S.N.C (Vargas y Ulate, 1995).

La planta tiene propiedades depresoras del S.N.C, reportadas en un estudio realizado con ratas Sprage-Dawley, entre 200-250 gr. donde se evaluó la conducta mediante las pruebas de comportamiento como: test de evasión, test de placa perforada, test de cilindro giratorio, utilizando una concentración de 125 y 250 mg/kg. i.p. Dando resultados estadísticamente significativos (Pérez y col., 2001).

Los extractos acuosos de hoja demuestran actividad inhibidora contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* por el método de siembra en placa (CYTED, 1998).

3.3. MODELOS EXPERIMENTALES.

Se realizaron pruebas de comportamiento en ratas utilizando extracto de *Cecropia sp*, estas pruebas fueron caja porta -rata y campo abierto. La observación en la caja rata-porta representa una versión modificada de la batería de observación funcional (F.O.B), 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 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 como: número de cuadrados avanzados, posiciones bípedas, intromisión en los agujeros, número y duración de aseos dentro del tablero. Una de las razones de su 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 la actividad motora, de exploración y defecación, permitiendo inferir el estado emocional del animal, como la curiosidad del animal lo cual interfiere en mayor o menor grado de depresión o excitación del S.N.C (RIVAPLAMED, 1996).

La hipótesis de este estudio fue: El extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp* condiciona depresión del S.N.C.

3.4. OBJETIVOS.

Evaluar actividad ansiolítica del extracto de *Cecropia sp*, mediante pruebas de comportamiento.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL.

4.1.2 Material Biológico:

Se utilizaron 45 ratas, machos, cepa Sprage-Dawley, con un peso entre 180 y 250 gramos, procedentes del Bioterio del Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile.

4.1.2 Material de laboratorio

- Agua destilada.
- Balanza electrónica.
- Jaulas colectivas.
- Jeringas de 3 ml.
- Cronómetro.
- Sonda de polietileno.
- Pinza anatómica.
- Linterna oftálmica.
- Alcohol etílico absoluto 96%.

4.1.3 Material farmacológico

- Extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp* (Solución acuosa al 2%, en dosis de 100 mg/kg de PV)⁵, ver Anexo 9 y 10.
- Diazepam (solución al 0,02%, en dosis de 1 mg/kg)⁶.

4.1.4 Material de experimentación

- Caja porta-rata: de material plástico semi-transparente que permite observar al animal, la tapa presenta una cubierta con rejilla de alambre y dos manillas que facilitan el transporte. Las dimensiones son de 29 cm. de ancho, 36 cm de largo y 20 cm. de alto.

⁵ Proporcionado por Dr Mario F. Guerrero P. Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia.

⁶ Diazepam. Laboratorio Chile.



Foto 4: Caja porta-rata, vista lateral.

- Tablero de campo abierto con agujeros: tablero de madera de 1m² recubierto de acrílico color blanco, ubicado a 1 m de altura del suelo. Subdividido en 25 cuadrados de 20 x 20 cm., el cuadrado central presenta en cada vértice 1 orificio de 4 cm. de diámetro. El perímetro muestra cuatro paredes de 50 cm., de alto, revestidas en su cara interna con acrílico blanco. Se ilumina con un ampolleta blanca de 100 W dispuesta sobre el cuadrado central del tablero a 65 cm. de alto.



Foto 5: Tablero de campo abierto con agujeros.

4.2 MÉTODOS.

4.2.1 Observación en caja porta-ratas:

La observación de variables en estudio incluyó las siguientes medidas:

- 1) Evaluación de signos de función autónoma: lagrimación, salivación, acciones estereotipadas y respuesta pupilar (miosis y midriasis), son signos indicadores de la función de los órganos efectores a los impulsos de los nervios del sistema nervioso autónomo (S.N.A) siendo evaluados mediante inspección visual.
- 2) Clasificación de la reacción del animal frente a estímulos generales como el alejamiento de la caja porta-ratas o la manipulación.
- 3) Clasificación del nivel de actividad de la rata sin estimulación durante la observación.
- 4) Determinación del déficit sensorial mediante los siguientes estímulos:
 - Determinación de la respuesta algésica al pinzar el extremo de la cola con una pinza anatómica.
 - Evaluación de la reacción al emitir un sonido repentino cerca de la rata. (Lohse, 2000).

Todas las variables se llevaron a una escala de intensidad, originando dos tipos de clasificación:

- 1) Variables: lagrimación, salivación, reacción a la manipulación, nivel de actividad, tono muscular, respuesta algésica y reacción al ruido se designó un puntaje de 1, 2 y 3 que determinan: ausencia, moderado y manifiesto respectivamente.
- 2) Variables: piloerección, respuesta pupilar y acciones repetitivas el puntaje fue 1 ó 2 indicando ausencia o presencia respectivamente.

4.2.2 Tablero de campo abierto con agujeros:

Para esta prueba se elaboró una pauta de observación programada 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: número de cuadrados avanzados en los intervalos de 5, 10 y minutos totales.
- Posiciones bípedas: veces en que la rata adoptó posiciones verticales apoyada en sus extremidades posteriores y cola durante los intervalos de 5, 10 y minutos totales.
- Intromisiones en los agujeros: veces en que la rata introdujo su cabeza en los agujeros del tablero en intervalos de 5, 10 y minutos totales.

VARIABLES DE EMOTIVIDAD:

- Crotines: número de bolos fecales evacuados por el animal en el tablero, en intervalos de 5, 10 y minutos totales.
- Aseos: número de ocasiones en que la rata compuso su pelaje, utilizando su lengua y extremidades anteriores, en intervalos de 5, 10 y minutos totales.
- Duración de los aseos: tiempo medido en segundos que empleó la rata para acicalarse, en intervalos de 5, 10 y minutos totales (CYTED/ CPNq, 2001).

4.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Condiciones ambientales: los animales se mantuvieron con ciclos alternados de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad. La temperatura se mantuvo aproximadamente en 22° C. Las ratas permanecieron durante todo el experimento en jaulas colectivas, el día previo a las pruebas de observación, fueron separados de su respectivo grupo y depositadas en una jaula previamente asignada.

Las observaciones se realizaron entre las 14:00 y 18:00 hrs.

Se utilizaron machos para evitar las diferencias determinadas por el sexo en el aumento de la conducta exploratoria, como sucede en el caso de las hembras con los ciclos estrales y con otros comportamientos no reproductivos como la deambulación y posiciones bípedas que se muestran en las hembras en mayor porcentaje que los machos en el tablero de campo abierto. (Sahgal, 1993).

Para evitar tolerancia al extracto utilizado y Diazepam los animales no fueron reutilizados (Sahgal, 1993).

Los animales fueron agrupados en 3 series al azar de 15 ratas cada grupo.

Los tratamientos se administraron en volumen de 0,5ml/100g PV para agua destilada, Diazepam y extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, vía sonda bucoesofágica, de la siguiente forma:

- **Grupo1:** control negativo con agua destilada.
- **Grupo 2:** control positivo con Diazepam (1 mg/kg).
- **Grupo3:** extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp* (100mg/kg.).

El protocolo contempló 45 minutos de trabajo por animal, se esperó 30 minutos para absorción de los productos (periodo de latencia). La primera prueba fue la observación en caja porta rata por un tiempo de 5 minutos, registrándose las variables cualitativas estipuladas en el protocolo de observación, una vez realizada esta prueba se depositó suavemente la rata en el cuadrado central del tablero campo abierto con agujeros, se observó durante 10 minutos y se registró el comportamiento de la rata en la hoja de observación programada (Anexo 11 y 12).

Una vez concluidas las pruebas se eutanasiaron las ratas con una sobredosis de Pentobarbital sódico al 0,8% vía intraperitoneal.

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los resultados obtenidos en la prueba en la conducta en caja porta rata, no fueron sometidos al análisis estadístico, sólo a análisis descriptivo, siendo expresados como porcentajes.

Los datos obtenidos en la prueba del tablero de campo abierto con agujeros fueron procesados mediante el paquete estadístico “Graph Pad Prism TM” versión 4.0. Los resultados obtenidos se expresaron como medias aritméticas y su error estándar.

Se utilizó como nivel de significancia 0,05 siendo significativo un $p \leq 0,05$ y un no significativo un $p > 0,05$. 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 resultados de normalidad y homocedaticidad se recurrió al análisis de varianza paramétrico (Andeva) de una vía, cuyo objetivo fue comparar promedios de dos o más grupos de datos (Zar, 1999).
- Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, usando en los casos en el que Andeva 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 homocedaticidad de los datos (Siegel, 1996).
- Prueba de comparaciones múltiples no paramétrico de Dunn, esta prueba fue aplicada en los casos en el que la prueba de Kruskal-Wallis resultó significativa (Hollander y Wolfe, 1993).

5. RESULTADOS

5.1. OBSERVACION EN CAJA PORTA- RATA.

Se registraron variables de tipo cualitativo, que son de utilidad para analizar el estado fisiológico y conductual de la rata en un entorno conocido, donde no existen factores ansiogénicos.

5.1.1 Porcentaje de lagrimación: el extracto de *Cecropia sp* presentó un 40% de reacción moderada y un 60 % de ausencia, mientras el grupo tratado con Diazepam manifestó un porcentaje más bajo de reacción moderada 20% y un 80% de ausencia. El grupo Control no presentó lagrimación (Gráfico 1, Anexo 1).

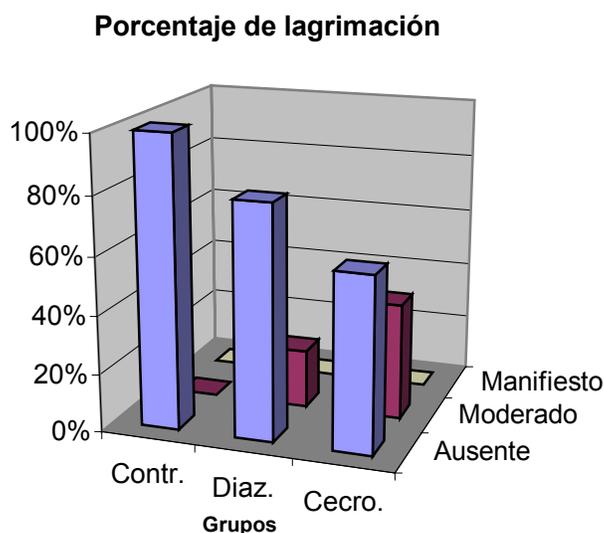


Gráfico 1: Porcentaje de lagrimación, en ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, n = 15 ratas por grupo.

5.1.2 Porcentaje de salivación: la variable salivación no se presentó en ninguno de los grupos en estudio (Anexo 1).

5.1.3 Porcentaje de piloerección: el grupo *Cecropia sp* se presentó en un 33,3%, el grupo tratado con Diazepam, un 40% mientras que en el grupo Control no se presentó (Gráfico 2, Anexo 1).

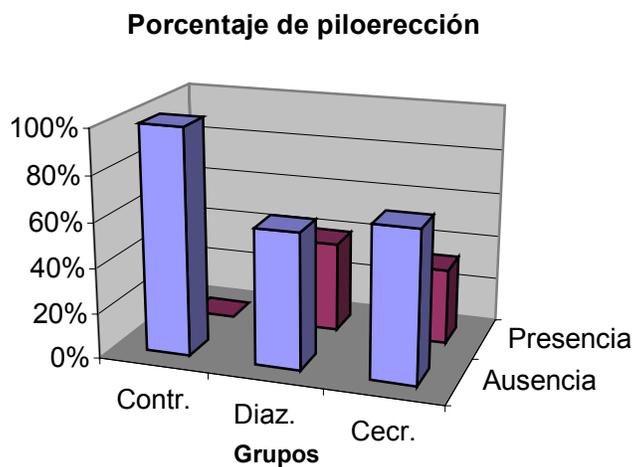


Gráfico 2: Porcentaje piloerección, en ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, n = 15 ratas por grupo.

5.1.4 Porcentaje de nivel de actividad: *Cecropia sp* presentó actividad moderada en un 93,3% y 6,7% de ausencia, en el grupo Diazepam el nivel de actividad manifiesta fue de un 13,3%, moderada 73,3% y ausencia de 13,3%. En el grupo Control, la actividad manifiesta fue de un 20% y 80% de actividad moderada (Gráfico 3, Anexo 1).

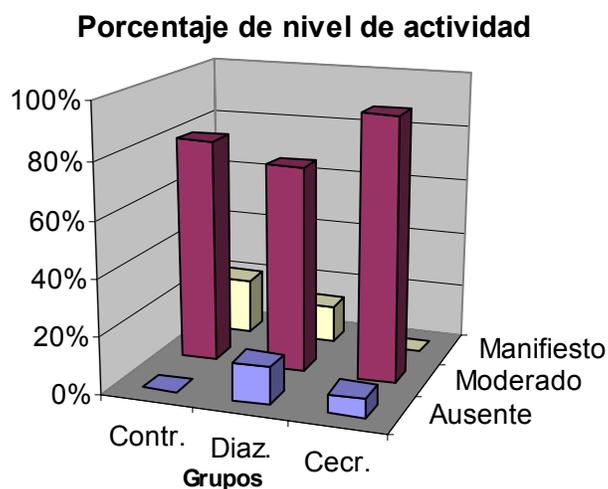


Gráfico 3: Porcentaje nivel de actividad, en ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, n = 15 ratas por grupo.

5.1.5 Porcentaje de reacción al ruido: en *Cecropia sp*, Diazepam y Control predominó la reacción moderada con un 93,3%, 80% y 100% respectivamente y ausencia de respuesta en grupos *Cecropia sp* y Diazepam con 6,7% y 20% respectivamente (Gráfico 4, Anexo 1).

Porcentajes de respuesta al ruido

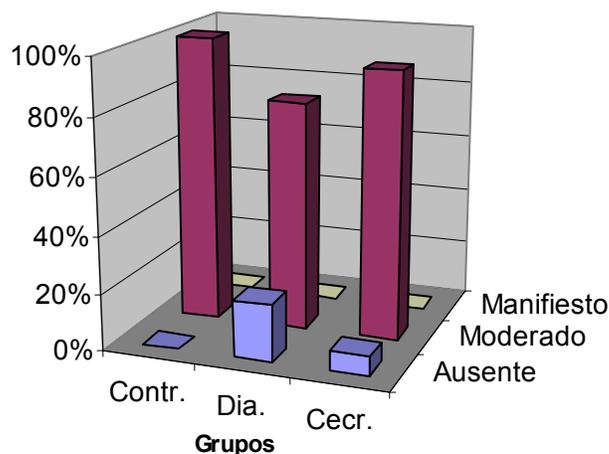


Gráfico 4: Porcentaje respuesta al ruido, en ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, n = 15 ratas por grupo.

5.1.6. Porcentaje de reacción al pinzar la cola: *Cecropia sp* obtuvo 6,7% de reacción manifiesta, 66,3% moderado y ausencia del 27%, Diazepam presentó 6,7% de reacción manifiesta, y ausencia de dolor 33,3%. Control presentó reacción moderada con 80% y manifiesta 20% (Gráfico 5, Anexo 2).

Porcentaje de reacción al pinzar la cola

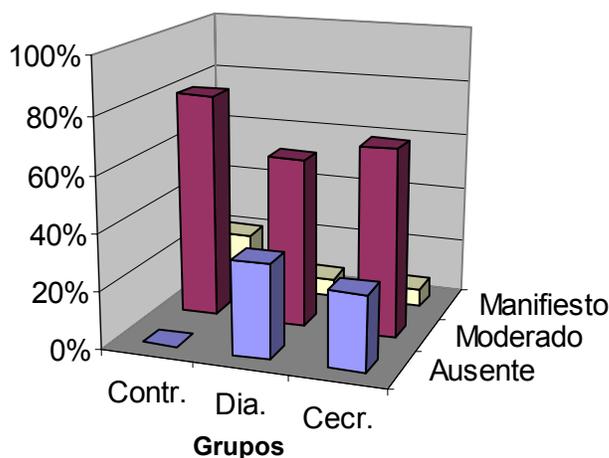


Gráfico 5: Porcentaje de reacción al pinzar la cola, en ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, n = 15 ratas por grupo.

5.1.7 Porcentaje de reacción a la manipulación: *Cecropia sp* presentó una reacción moderada de 73,3 y 26,7% manifiesta. En el grupo Diazepam la reacción moderada fue de 86,6%, manifiesta de 6,6% y ausencia de 6,6%. Control presentó una reacción moderada del 73,3% y manifiesta del 26,7% (Gráfico 6, Anexo 2).

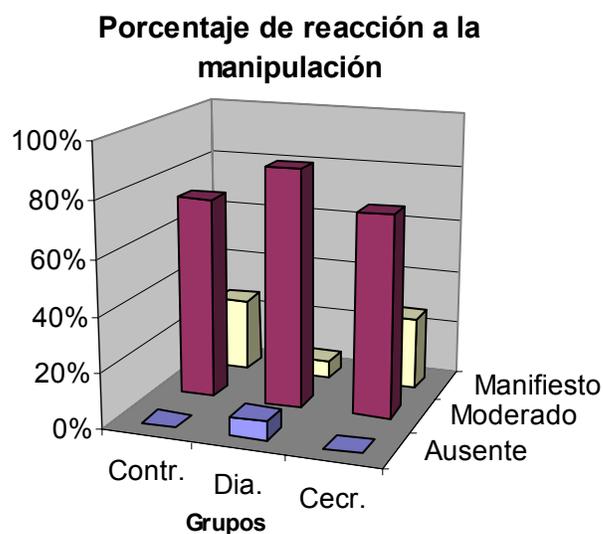


Gráfico 6: Porcentaje de reacción a la manipulación, en ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, n = 15 ratas por grupo.

5.1.8. Porcentaje de tono muscular: el grupo *Cecropia sp* presentó una reacción moderada del 53,3% y una ausencia del 46,7%, en Diazepam el grado manifiesto fue de un 6,7%, moderado un 80% y una ausencia de 13,3%. El grupo Control presentó intensidad moderada y manifiesta con un 86,7% y 13,3% respectivamente (Gráfico 7, Anexo 2).

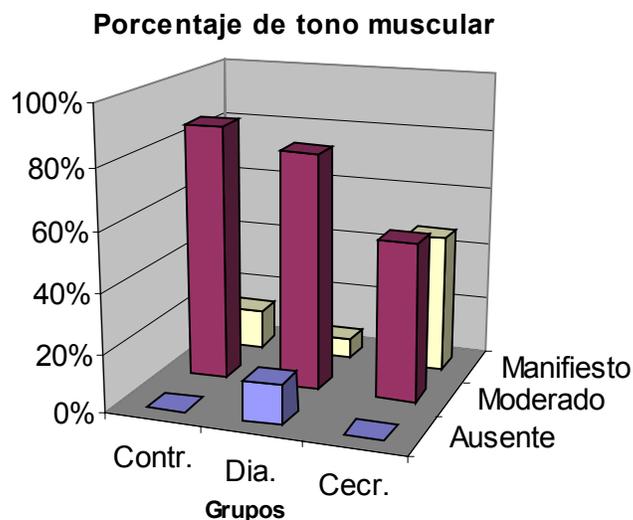


Gráfico 7: Porcentaje de tono muscular, en ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, Diazepam, n = 15 ratas por grupo.

5.1.9. Porcentaje de respuesta pupilar: todos los grupos presentaron un grado de ausencia en el cual se observó un 13,3% en *Cecropia sp*, Diazepam 7% y Control 7% (Gráfico 8, Anexo 2).

Porcentaje de respuesta pupilar

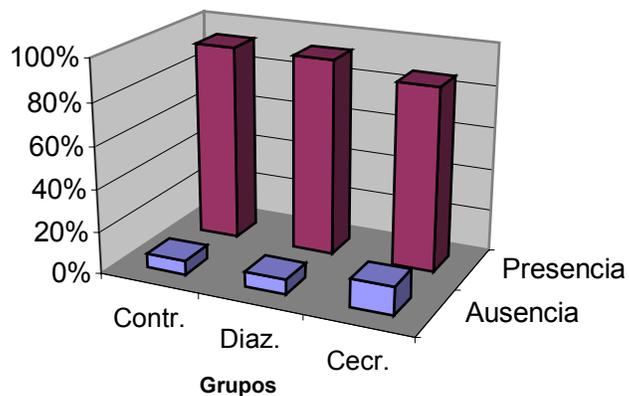


Gráfico 8: Porcentaje de respuesta pupilar, en ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, n = 15 ratas por grupo.

5.1.10. Porcentaje de acciones repetitivas: para los grupos de extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, Diazepam y Control no se presentaron (Anexo 2).

5.2. CAMPO ABIERTO CON AGUJEROS.

5.2.1. Cuadrados avanzados.

Periodo de 0 a 5 minutos: los grupos no reflejaron diferencias estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

Periodo 5 a 10 minutos: ningún grupo presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Minutos totales: ningún grupo presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

5.2.2. Posiciones bípedas.

Periodo de 0 a 5 minutos: el grupo Diazepam resultó ser menor y presentó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) respecto al grupo Control. (Gráfico 9, Anexo 3).

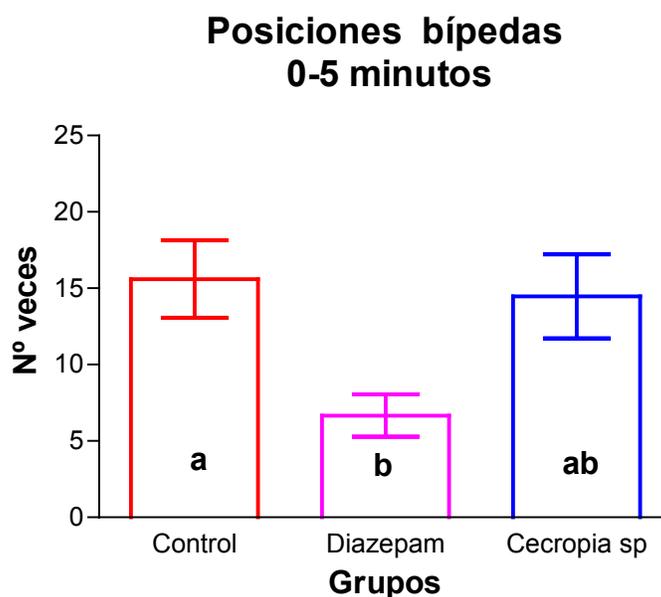


Gráfico 9: Número de posiciones bípedas realizadas por las ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y Extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, durante 0 a 5 minutos, con un $n = 15$ ratas por grupo. Expresados como medias aritméticas \pm E.E.*.

* letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

Periodo 5 a 10 minutos: no hubo diferencias significativas entre grupos ($p>0,05$).

Periodo minutos totales: el grupo Diazepam presentó diferencias significativas con respecto al grupo Control ($p\leq 0,05$) (Gráfico 10, Anexo 4).

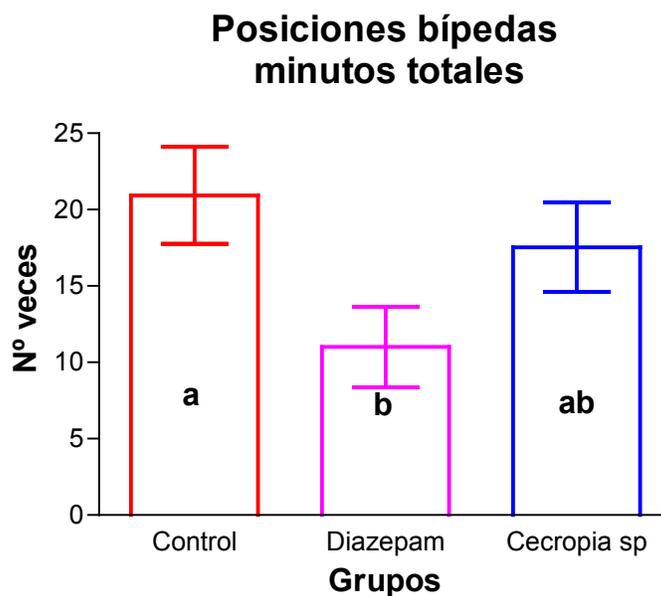


Gráfico 10: Número de posiciones bípedas realizadas por las ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y Extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, durante los minutos totales, con un $n = 15$ ratas por grupo. Expresados como medias aritméticas \pm E.E.*.

* letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$).

5.2.3. Intromisión de los agujeros.

Periodo de 0 a 5 minutos: reflejó diferencias significativas entre el grupo *Cecropia sp* y el grupo Diazepam ($p \leq 0,05$) (Gráfico 11, Anexo 5).

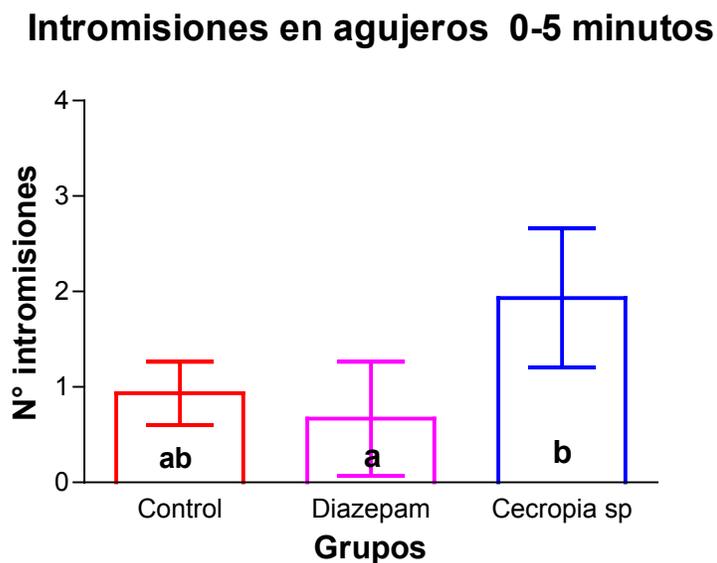


Gráfico 11: Número de intromisión en los agujeros realizadas por las ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y Extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, durante los primeros 5 minutos, con un $n = 15$ ratas por grupo. Expresados como medias aritméticas \pm E.E*.

Periodo de 5 a 10 minutos: no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p > 0,05$).

Periodo minutos totales: no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p > 0,05$).

* letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

5.2.4. Número de aseos.

Periodo de 0 a 5 minutos: reflejó diferencias significativas entre el grupo Diazepam y el grupo Control ($p \leq 0,05$) (Gráfico 12, Anexo 6).

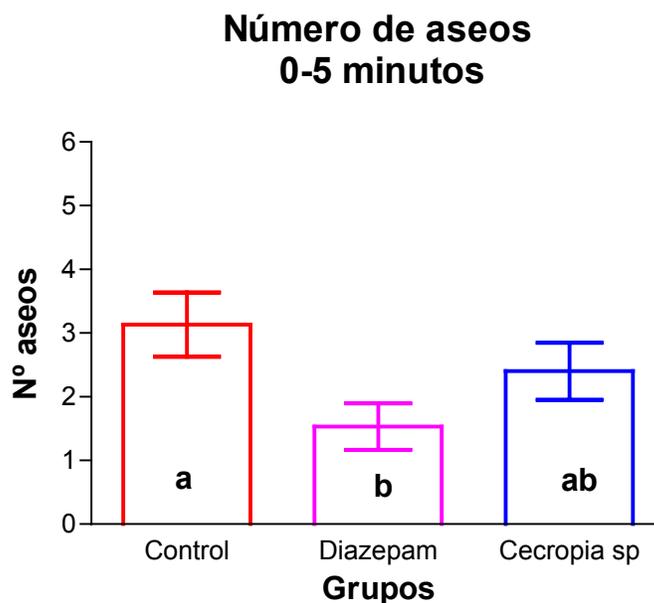


Gráfico 12: Número de aseos realizados por las ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y Extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, durante los primeros 5 minutos, con un $n = 15$ ratas por grupo. Expresados como medias aritméticas \pm E.E.*

Periodo de 5 a 10 minutos y minutos totales: no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

* letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

5.2.5. Duración de los aseos.

Periodos de 0 a 5 y de 5 a 10 minutos: no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Periodo minutos totales: reflejó una diferencia estadísticamente significativa con el grupo Control contra el de Diazepam ($p \leq 0,05$) (Gráfico 13, Anexo 7).

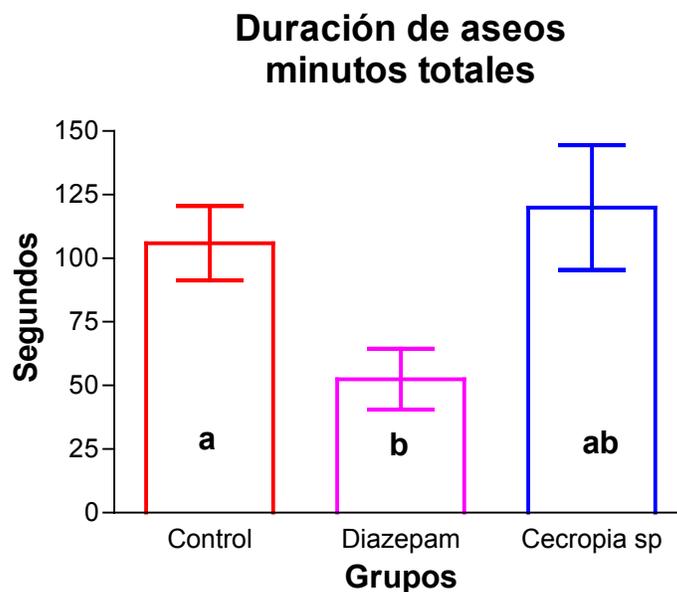


Gráfico 13: Duración de aseos realizados por las ratas tratadas con Agua destilada, Diazepam y Extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, durante los minutos totales, con un $n = 15$ ratas por grupo. Expresados como medias aritméticas \pm E.E*.

* letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

6. DISCUSIÓN

6.1. OBSERVACIÓN EN CAJA PORTA RATAS

6.1.1. Lagrimación.

La variable lagrimación corresponde a una respuesta autónoma preponderantemente de tipo colinérgico o parasimpáticomimético (Harman y col., 2003). Estudios realizados con otras plantas ansiolíticas como *Valeriana officinalis* (Caroca, 2002) e *Hipericum perforatum* (Ahumada, 2000) no presentaron cambios en esta variable, a diferencia de *Cecropia sp*, que presentó un alto porcentaje de reacción moderada (40%), lo que probablemente se deba a que posee actividad colinérgica.

6.1.2. Salivación.

La salivación es estimulada por impulsos colinérgicos (Harman y col., 2003). En los grupos tratados no se detectó un aumento de secreción salival, el extracto de *Cecropia sp*, no desencadenaría este efecto.

6.1.3. Piloerección.

La variable piloerección se debe a un estímulo de tipo adrenérgico (Harman y col., 2003), presentándose en el grupo *Cecropia sp* con un 33,3%, lo que indica un probable efecto sobre el sistema simpático, otra planta de acción ansiolítica como *Stachytarpheta cayennensis* presentó el mismo efecto (Álvarez, 2000).

6.1.4. Actividad.

Se han registrado diferentes grados de disminución en el nivel actividad, en plantas que poseen acción ansiolítica, provocando porcentajes de ausencia del orden de 20% como ocurre con *Stachytarpheta cayennensis* (Pugin, 2000) y con *Hipericum perforatum* con un 41,7% de ausencia (Ahumada, 2000). Los tres grupos presentaron un predominio de actividad moderada. Tanto *Cecropia sp* como Diazepam presentaron porcentajes de ausencias de 6,7% y 13,3% respectivamente, estos porcentajes señalan que *Cecropia sp* no posee acción depresora sobre el S.N.C.

6.1.5. Reacción al ruido.

La reacción al ruido bajo efectos de fármacos depresores disminuye, ya que éstos suprimen los movimientos espontáneos y las conductas complejas, en este estado, los animales aparecen desinteresados por el ambiente que les rodea, con respuestas lentas a los estímulos (Botana y col., 2002). El grupo *Cecropia sp* y Diazepam reflejaron una respuesta moderada al ruido y una leve ausencia de esta variable, lo cual indicaría un efecto sedante.

Los resultados obtenidos por el grupo Control son similares a los presentados en trabajos anteriores (Álvarez, 2000).

6.1.6. Respuesta algésica al pinzar la cola.

Los grupos Diazepam y *Cecropia sp* presentaron porcentajes de ausencia al dolor de 27% y 33,3% respectivamente. La ausencia de reacción en el grupo tratado con Diazepam se explica por el marcado efecto analgésico de las benzodiazepinas en animales de experimentación (Harman y col., 2003). Pérez y col. 2001, realizaron pruebas para evaluar la actividad analgésica de *Cecropia sp* en ratas, mediante la inducción de estiramiento por ácido acético siendo significativamente mejor tolerada la prueba en las ratas tratadas con el extracto de *Cecropia sp*.

6.1.7. Manipulación al retirar la rata.

En esta variable se observó un alto porcentaje de respuesta moderada. Los resultados para el grupo *Cecropia sp* son similares al grupo Control, en cambio en el grupo Diazepam existe un porcentaje de ausencia a la respuesta de manipulación, lo que indicaría una leve acción tranquilizante sobre el S.N.C.

6.1.8. Tono muscular.

El grupo Control obtuvo predominio de reacción moderada, concordando con los resultados obtenidos por Ahumada (2000).

Diazepam presentó mayoritariamente actividad moderada y un bajo porcentaje de ausencia lo que indica que a esta dosis se produjo en algunos animales un efecto mayor de lo esperado incluso relajación muscular. Se describe que éste fármaco provoca una reducción de la coordinación y del tono muscular, como consecuencia de la depresión supraespinal de los reflejos polisinápticos asociada a una actividad depresora adicional que tiene lugar en la medula espinal (Botana y col., 2002).

Harman y col.,(2003) describen que el músculo estriado reacciona a los impulsos adrenérgicos generando contractibilidad de la fibras musculares. El grupo tratado con extracto de *Cecropia sp*, a diferencia de los otros grupos, es el que presenta un alto porcentaje de reacción manifiesta lo que podría evidenciar algún efecto sobre las fibras musculares.

6.1.9. Respuesta pupilar.

La ausencia de respuesta pupilar se debe a que se produce un efecto sobre los receptores adrenérgicos encargados de contraer el músculo radial y el iris produciendo midriasis (Harman y col., 2003). En los tres grupos Control, Diazepam y *Cecropia sp* se presentaron respuestas pupilares de un 93%, 93% y 86,7% respectivamente. De acuerdo a los datos obtenidos no es posible concluir que el extracto de *Cecropia sp* provocaría algún efecto sobre esta variable.

6.1.10. Acciones repetitivas.

En todos los grupos predominó ausencia del comportamiento estereotipado concordando con lo obtenido por Ahumada (2000). Esta variable se presenta cuando se utilizan anfetaminas las cuales estimulan el S.N.C. y corteza cerebral incrementando la actitud de

alerta, aumenta la actividad del sistema adrenérgico mediados a través de la activación de los receptores α_1 (Botana y col., 2002).

6.2. TABLERO DE CAMPO ABIERTO CON AGUJEROS

Este tablero cumple con el requisito de ser un lugar distinto al sitio donde se encuentra habitualmente, de mayores dimensiones y con mayor iluminación, que lo convierte en un estímulo nocivo frente al cual la respuesta conductual se manifiesta con inmovilidad (Olavarría, 1999). Además como este tablero posee agujeros, permitirá adicionalmente obtener antecedentes sobre la conducta exploratoria reflejada por la curiosidad del animal al introducir su cabeza en lo agujeros (RIVAPLAMED, 1998).

6.2.1. Número de cuadrados avanzados.

Se considera que el número de cuadrados avanzados es una medida de la actividad exploratoria, el aumento de esta variable es un buen indicador de la disminución de emocionalidad (Olavarría, 1999).

El Diazepam tiene efecto tranquilizante, provocando una disminución del estrés, lo que explicaría un incremento de la actividad exploratoria (Merino, 1995). A pesar de ello los resultados obtenidos en los primeros 5 minutos y minutos totales fueron los recuentos más bajos, lo que puede deberse a que el fármaco en estos animales estaría actuando como relajante muscular. Por otro lado las ratas tratadas con *Cecropia sp* el número de cuadrados avanzados fue levemente mayor en los primeros 5 minutos y minutos totales con respecto a las otras series aunque no fueron estadísticamente significativas.

6.2.2. Número de posiciones bípedas en el tablero de campo abierto.

La posición bípeda de la rata implica una actitud de exploración en un medio que le es desconocido y para facilitar la toma de conocimiento de él, trata de aumentar su campo visual irguiéndose (Merino, 1995).

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

La alta actividad que desarrollaron los grupos en estudio durante los primeros minutos iniciales reflejó una conducta superior al inicio de la prueba cuándo son sometidos al estímulo ansiogénico del ambiente desconocido.

El grupo de *Cecropia sp*, presentó en los primeros minutos un gran número de posiciones bípedas, para luego decaer en el segundo periodo, aunque no reflejó diferencias estadísticamente significativas con respecto a las otras series.

Diazepam debería generar un mayor recuento de posiciones bípedas, al disminuir el grado de tensión emocional, pero en cambio mostró en todos los periodos recuentos más bajos respecto a las otras series.

6.2.3. Intromisión en los agujeros.

Esta variable mide básicamente la curiosidad del animal, lo que se favorece cuando la rata se encuentra tranquila y familiarizada con el medio, se considera que la curiosidad es un acto instintivo, pero al enfrentarse a una situación novedosa pueden originar 2 tipos de respuesta: aproximación hacia el estímulo o bien producir una anulación de éste. Se utiliza como indicativo del estado de ansiedad o depresión del animal al evaluar el comportamiento de los psicofármacos sobre el S.N.C (CYTED, 1998).

Los animales pertenecientes al grupo *Cecropia sp* no presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo Control. Para el grupo Diazepam en los primeros 5 minutos hay una diferencia estadísticamente significativa con respecto a *Cecropia sp*.

Durante el transcurso de la prueba todos los grupos presentaron una disminución de las intromisiones en los agujeros a través del tiempo, lo cual se atribuye a que las respuestas exploratorias exhiben una declinación lineal al transcurrir el tiempo (Archer, 1973).

6.2.4. Número de crotines en el tablero de campo abierto.

El número de crotines fue muy escaso, motivo por el cual esta variable no fue presentada en gráficos. Esta situación no descarta la actividad de la planta sobre este parámetro, sólo se podría determinar la prueba empleando otras dosis.

6.2.5. Número de aseos.

La rata tiene la conducta de asear su piel en forma continua, sin importar si presenta o no suciedad, es una actividad de tipo espontánea, al hacer esto deja de prestar atención en el medio, lo que la hace susceptible al ataque de los depredadores (Olavarría, 1999).

Diazepam reflejó diferencia estadísticamente significativas con el grupo Control durante el periodo de 0 a 5 minutos.

Las ratas sometidas a un estímulo ansiolítico debería aumentar el número de aseos lo que ocurriría al administrar Diazepam, situación que no se pudo evidenciar en este trabajo.

6.2.6. Duración de los aseos.

Al disminuir el grado de tensión emocional la rata manifiesta un aumento de los aseos dedicando el mayor tiempo posible a esa actividad, siempre y cuando algún estímulo no la perturbe y la haga volver a su normal estado de alerta (Merino, 1995).

Cecropia sp, mostró una tendencia al aumento en la duración de los aseos, lo que podría indicar un efecto tranquilizante, pero sin representar una diferencia estadísticamente significativa.

Los animales que se encuentran bajo el efecto de Diazepam no obtuvieron resultados esperados ya que presentaron una duración en los aseos mucho menor que los otros grupos, siendo estadísticamente significativa respecto al grupo Control en el recuento total.

El análisis de los resultados, de todos los parámetros medidos u observados permiten apreciar que el extracto de *Cecropia sp* presenta una tendencia a producir un efecto sobre el S.N.C. Tendencia que justificaría la realización de futuros trabajos con dosis más altas y mayor número de animales por grupo, con la finalidad de dilucidar si presenta o no efecto sobre el S.N.C.

Conclusiones

De los resultados obtenidos en el presente trabajo, con el extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, al 2 % administrado vía sonda bucoesofágica a las dosis de 100mg/kg, en ratas machos cepa Sprague-Dawley, se concluye:

Para la prueba de observación en caja Porta – rata, no existe depresión del Sistema Nervioso Central.

En la prueba de Campo Abierto con Agujeros, no se evidenció actividad ansiolítica.

En relación a los resultados obtenidos en este estudio y considerando, la dosis y vía utilizada del extracto hidroalcohólico de *Cecropia sp*, la hipótesis de este trabajo se rechaza.

7. BIBLIOGRAFÍA

Adams R. 1995. *Veterinary Pharmacology and therapeutics*. 7th ed., Iowa State University Press, Iowa.

Ahumada D. 2000. Efecto de la administración del extracto *Hypericum perforatum* sobre la conducta de ratas, en las pruebas de Campo Abierto con Agujeros y Tiempo de Sueño Inducido con Pentobarbital Sódico. Tesis, M.V., Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Austral de 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., Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Austral de Chile.

Andrade C A, Wiedenfeld H. 2001. Hipoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 78: 145-149.

Archer J. 1973. Test for emotionality in rats and mice. *Anim. Behav.* 21: 205-235.

Botana L M, Landoni F, Martín-Jiménez T. 2002. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. Mc Graw-Hill interamericana, Madrid.

Briones F. 1996. *Manual de consulta homeopático y fitoterapia*. Homeopatía Hahnemann, Laboratorio Hochstetter, Santiago.

Caroca A. 2002. Efecto de la administración del extracto de *Valeriana officinalis* sobre la conducta en ratas, en la prueba de Laberinto en Cruz Elevado Asimétrico y Tiempo de Sueño Inducido con Pentobarbital Sódico. Tesis, M.V., Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

CYTED/ CNPq. 2001. *Métodos de avaliação da Atividade Farmacológica de Plantas Mediciniais*. Programa iberoamericano de Ciencia e Tecnología para o desenvolvimento 13-18 julho. Salvador. Bahia.

CYTED. *Ciencia y Tecnología para el desarrollo*. 1998. 1^a Reuniao do proyecto X-4. Obtenção de Medicamentos Innovadores com Atividade Anti-Hipertensiva e vasodilatadora através de Validação Orientada de Plantas Mediciniais Iberoamericanas. Recife.

Chandler F. 2000. *Herbs everyday reference for healt professionals*. National Printers. Ottawa Inc., Nepean, Ontario.

Fitoterapia. Vademecum de Prescripción. 1992. La terapéutica con plantas medicinales. CITA, Publicaciones y Documentación (CITAPE,S.L), Bilbao.

Harman J G, Limbird L E, Goodman A. 2003. Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 10ª Edición. Vol I. Mc Graw-Hill Interamericana Editores: S.A, Ciudad de México.

Hoffman A, Farga C, Lastra J, Weghazi E. 1992. Plantas medicinales de uso común en Chile. Editorial Fundación Claudio Gay, Santiago.

Hollander M, Wolfe D. 1973. Nonparametric Statistical Methods. 2nd ed., John Wiley and Sons, New york.

Lohse. 2000. Efecto de la administración de extracto de *Hipericum perforatum* sobre la conducta en ratas en las Pruebas de Laberinto en Cruz Elevado y Tiempo de Sueño Inducido con Pentobarbital Sódico, Tesis, M.V., Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

Merino P. 1995. Contribución al conocimiento del efecto tranquilizante de *Avena sativa*, *Escholtzia californica* y *Matricaria chamomilla*, administradas oralmente, en la conducta de ratas sometidas a la Prueba de Campo Abierto. Tesis, M.V., Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

Montes M, Wilkomirsky T. 1985. Medicina tradicional chilena. Editorial Universitaria Concepción, Concepción.

Olavarría A. 1999. Efecto de la administración de *Passiflora incarnata* y *Passiflora coerulea*, sobre la conducta de ratas sometidas a pruebas de comportamiento. Tesis, M.V., Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

Pastene E. 1998. Fitofármacos de acción ansiolítico sedante: estudio de *Pasiflora coerulea. L.* Tesis, Magíster en Ciencias Farmacéuticas, Facultad de farmacia, Universidad de Concepción, Concepción.

Pérez G C, Ortiz M., Alvarez. M, Fernández M. 2001. A pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extract. *J. Ethnopharmacol.* 76: 279-284.

Pugin A. 2000. Evaluación del efecto de la administración del extracto de *Stachytarpheta cayennensis* sobre la conducta de la ratas sometidas a modelos experimentales. Tesis, M.V., Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

RIVAPLAMED. Rede. Iberoamericana de Validação de Plantas Mediciniais. 1996. I curso iberoamericano de validação de plantas mediciniais com actividade sedativa / tranquilizante 8-19 julno, Universidad de Coimbra, Coimbra.

RIVAPLAMED. Rede Iberoamericana de Validação de Plantas Mediciniais. 1998. I curso iberoamericano de validação de plantas medicinais com actividade no Sistema Nervoso Central. 6-17 de Outubro, Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Sahgal A. 1993. Behavioural Neuroscience. A Practical Approach. Vol II. Oxford Univerity Press, New york.

Salas I. 1987. Antihypertensive effect of *Cecropia obtusifolia* (Moraceae) leaf extract on rats. *Rev. Biol. Trop.* 35: 127-130.

Siegel S. 1996. Metodología de la Investigación. Mc Graw-Hill Interamericana, New York.

Vallejo R J, Gastó C. 2000. Trastornos afectivos: Ansiedad y Depresión. 2ª Edición. Editorial Masson, Barcelona.

Vargas H R, Ulate G. 1996. Actividad diurética de la *Cecropia obtusifolia* (Moraceae) en ratas albinas. *Rev. Biol. Trop.* 44:93-96.

Zar H. 1999. Biostatistical Analysis. 4ª ed., Upper Saddle River: Plentice-Hall, New York.

8. ANEXOS

Anexo 1: tabla 1. Resultado expresados en porcentajes de las variable cualitativas Lagrimación, Salivación, Piloerección, Nivel de actividad y Reacción al ruido, observadas en ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia sp.*

| Variable cualitativas (%). | | | | | | |
|----------------------------|---------|-------------|------------|---------------|--------------------|-------------------|
| Grupos | Puntaje | Lagrimación | Salivación | Piloerección* | Nivel de actividad | Reacción al ruido |
| Control | 1 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 0,0 | 0,0 |
| | 2 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 80,0 | 100,0 |
| | 3 | 0,0 | 0,0 | | 20,0 | 0,0 |
| Diazepam | 1 | 80,0 | 100,0 | 60,0 | 13,3 | 20,0 |
| | 2 | 20,0 | 0,0 | 40,0 | 73,3 | 80,0 |
| | 3 | 0,0 | 0,0 | | 13,3 | 0,0 |
| <i>Cecropia sp</i> | 1 | 60,0 | 100,0 | 66,7 | 6,7 | 6,7 |
| | 2 | 40,0 | 0,0 | 33,3 | 93,3 | 93,3 |
| | 3 | 0,0 | 0,0 | | 0,0 | 0,0 |

Anexo 2: tabla 2. Resultado expresados en porcentajes de las variable cualitativas Respuesta algésica, Manipulación, Tono muscular, Respuesta pupilar y Acciones repetitivas, observadas en ratas de los grupos Control, Diazepam y *Cecropia sp.*

| Variable cualitativas (%). | | | | | | |
|----------------------------|---------|--------------------|--------------|---------------|--------------------|-----------------------|
| Grupos | Puntaje | Respuesta algésica | Manipulación | Tono muscular | Respuesta pupilar* | Acciones repetitivas* |
| Control | 1 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 7,0 | 100,0 |
| | 2 | 80,0 | 73,3 | 86,7 | 93,0 | 0,0 |
| | 3 | 20,0 | 26,7 | 13,3 | | 0,0 |
| Diazepam | 1 | 33,3 | 6,6 | 13,3 | 7,0 | 100,0 |
| | 2 | 60,0 | 86,6 | 80,0 | 93,0 | 0,0 |
| | 3 | 6,7 | 6,6 | 6,7 | | 0,0 |
| <i>Cecropia sp</i> | 1 | 27,0 | 0,0 | 0,0 | 13,3 | 100,0 |
| | 2 | 66,3 | 73,3 | 53,3 | 86,7 | 0,0 |
| | 3 | 6,7 | 26,7 | 46,7 | | 0,0 |

| Puntaje | Escala de reacción |
|---------|--------------------|
| 1 | Ausente |
| 2 | Moderado/Presente |
| 3 | Manifiesto |

(*) Estas variables sólo fueron clasificadas con ausencia y presencia.

Anexo 3: Tabla 3, Valores media y errores típicos para la variable número de posiciones bípedas realizadas por las ratas en el tablero de campo abierto durante en periodo de 0 a 5 minutos.

| Grupos | | | |
|---------------|---------|----------|--------------------|
| | Control | Diazepam | <i>Cecropia sp</i> |
| Media | 16.0 | 6.7 | 14.0 |
| Error típico | 2.5 | 1.4 | 2.7 |

Anexo 4: Tabla 4, Valores media y errores típicos para la variable número de posiciones bípedas realizadas por las ratas en el tablero de campo abierto durante los 10 minutos.

| Grupos | | | |
|---------------|---------|----------|--------------------|
| | Control | Diazepam | <i>Cecropia sp</i> |
| Media | 21.0 | 11.0 | 18.0 |
| Error típico | 3.2 | 2.6 | 2.9 |

Anexo 5: Tabla 5, Valores media y errores típicos para la variable número de intromisiones en los agujeros realizadas por las ratas en el tablero de campo abierto durante el periodo de 0 a 5 minutos.

| Grupos | | | |
|---------------|---------|----------|--------------------|
| | Control | Diazepam | <i>Cecropia sp</i> |
| Media | 0.93 | 0.67 | 1.9 |
| Error típico | 0.33 | 0.60 | 0.73 |

Anexo 6: Tabla 6, Valores media y errores típicos para la variable número de aseos realizados por las ratas en el tablero de campo abierto con agujeros durante el periodo de 0 a 5 minutos.

| Grupos | | | |
|---------------|---------|----------|--------------------|
| | Control | Diazepam | <i>Cecropia sp</i> |
| Media | 3.1 | 1.5 | 2.4 |
| Error típico | 0.51 | 0.36 | 0.45 |

Anexo 7: Tabla 7, Valores media y errores típicos para la variable duración de los aseos expresados en segundos, realizados por las ratas en el tablero de campo abierto con agujeros durante los 10 minutos.

| Grupos | | | |
|---------------|---------|----------|--------------------|
| | Control | Diazepam | <i>Cecropia sp</i> |
| Media | 110.0 | 52.0 | 120.0 |
| Error típico | 15.0 | 12.0 | 25.0 |

Anexo 8: Tabla 8, Peso de las ratas expresados en gramos, Medias aritméticas \pm E.E. n = 15 ratas.

| | Control | Diazepam | <i>Cecropia sp</i> |
|--------------|---------|----------|--------------------|
| Media | 253.1 | 244.1 | 236.1 |
| Error Típico | 5.790 | 6.315 | 3.578 |

Anexo 9: Para la obtención de la dosis a usar del extracto de *Cecropia sp* se realizó un pre-experimental utilizando 2 grupos de ratas hembras, de 8 individuos cada uno, con un peso aproximado de 180 y 220. 45 minutos post administración del extracto gramos se evaluó la prueba de tiempo de sueño inducido con pentobarbital sódico, el primer grupo se realizó con una dosis de 50 mg por kilo, las ratas no entraron en narcosis, y el tiempo de sueño inducido fue de 30 minutos. En el grupo dos se utilizó una dosis de 100 mg por kilo en el cual 6 ratas entraron en narcosis a los 7 minutos aproximadamente y el tiempo de sueño inducido total fue de aproximadamente una hora estos datos indicarían que hay un sinergismo del extracto con el pentobarbital sodico a la dosis de 100 mg por kilo.

Anexo 10: Procedimiento para la obtención de los extractos para rastreo.

La colecta vegetal siempre que sea posible, se obtendrá en la localidad donde la planta es utilizada como remedio, y se tratará de coleccionar un rendimiento de planta seca de 8 kilos.

En el sitio de colecta se prepararán 3 herbarios que deberán ser enviados para su correcta identificación y resguardo a un herbario con reconocimiento internacional adjuntando la siguiente información: nombre popular, nombre científico, fecha y lugar de la colecta, nombre del colector y uso médico tradicional.

Método de extracción: de los 8 kilos de planta seca y molida, 4 se almacenan en un lugar fresco protegido de luz. 4kg se extraen en una solución hidroalcohólica al 40 %, la cantidad de disolvente será 12, 2 veces el peso de la planta, en este caso se utilizaran en total 48,8 kg (53,3 l) de una solución de etanol al 40%.

Extracción: dependiendo de las posibilidades del laboratorio hacer la extracción por separado de 4000g, 1000g, 600g de la planta ejemplo: para 4000g de planta añadir 22184 ml de etanol al 96% y 31132 ml de agua. Se colocará en un recipiente de vidrio de boca ancha junto con el disolvente y se dejará reposar a baño María a 50° C durante una hora, posteriormente se dejará enfriar y se filtrará con papel Wattman de número 1. El material vegetal se extrae por segunda ocasión durante una hora.

Concentración y secado: el extracto hidroalcohólico se concentrará en retroevaporador teniendo cuidado de pesar previamente el matraz así conocer el rendimiento de la extracción, el producto se obtiene del matraz raspando con una espátula.

Preparación de los frascos: los frascos deberán ser de vidrio color ámbar y en su etiqueta se ilustrará la siguiente información: clave del extracto, peso del frasco vacío, fecha de extracción. En la bitácora se registrará: clave del extracto, nombre popular de la planta, familia, fecha de colecta, fecha de extracción, origen de la planta, disolventes utilizados.

Anexo 11: Pauta de Observación programada en caja porta-rata.

PAUTA DE OBSERVACIÓN PROGRAMADA EN CAJA PORTA-RATAS

| | | | | | | |
|----------------|--|--|--|--|--|--|
| Examinador | | | | | | |
| Fecha. | | | | | | |
| Serie | | | | | | |
| Rata N° | | | | | | |

Puntaje **Variables**

| | | | | | | |
|-------|--------------------|--|--|--|--|--|
| 1 a 3 | Lagrimación | | | | | |
| 1 a 3 | Salivación | | | | | |
| 1 a 2 | Piloerección | | | | | |
| 1 a 3 | Nivel de actividad | | | | | |

| | | | | | | |
|-------|-------------------|--|--|--|--|--|
| 1 a 3 | Reacción al ruido | | | | | |
| 1 a 3 | Resp.algésica. | | | | | |

| | | | | | | |
|-------|-----------------------|--|--|--|--|--|
| 1 a 3 | Respuesta a la manip. | | | | | |
| 1 a 3 | Tono muscular. | | | | | |
| 1 a 2 | Respuesta pupilar | | | | | |

| | | | | | | |
|-------|----------------------|--|--|--|--|--|
| 1 a 2 | Acciones repetitivas | | | | | |
|-------|----------------------|--|--|--|--|--|

Rangos

1: Ausente

2: Moderado/Presente

3: Manifiesto

| | | | | | | |
|-----------------------------|--|--|--|--|--|--|
| Rata/serie y observaciones. | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

Anexo 12: Pauta de Observación Programada de Prueba de Campo abierto con agujeros.

PAUTA DE OBSERVACIÓN PROGRAMADA.

| | | | |
|----------------|--|-----------|--|
| Examinador | | Fecha: | |
| Serie: | | Peso: | |
| Dosis Solución | | Vol. Adm. | |

| | de 0 a 5 minutos | de 5 a 10 minutos | total |
|-----------------------|------------------|-------------------|-------|
| N°Cuadrados Avanzados | | | |

| | | | |
|----------------------|--|--|--|
| N°Posiciones Bípedas | | | |
|----------------------|--|--|--|

| | | | |
|------------------------|--|--|--|
| N°Intromisión Agujeros | | | |
|------------------------|--|--|--|

| | | | |
|-------------|--|--|--|
| N° Crotines | | | |
|-------------|--|--|--|

| | | | |
|----------|--|--|--|
| N° aseos | | | |
|----------|--|--|--|

| | | | |
|----------------------|--|--|--|
| Duración Aseos (seg) | | | |
|----------------------|--|--|--|

Observaciones:

| |
|--|
| |
|--|

9. AGRADECIMIENTOS

- Dra. Viviana Bustos, profesora patrocinante, por la revisión y consejos entregados en la corrección de esta memoria de título.
- Dr. Frederick Ahumada M., profesor copatrocinante, por su ayuda y consejos entregados.
- Dr. Marcos Moreira, profesor colaborador por la corrección de esta memoria.
- Dr. Mario F. Guerrero P., Dpto de Farmacia de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, por suministrar el extracto de *Cecropia sp.*
- Sra. Nury Sanchez, por cariño y colaboración en la preparación de las soluciones (Q.E.P.D).
- Sra. Juanita Vargas, buena disposición en todo momento.
- Sr. Darío Salazar, por ayuda en el manejo de los animales.
- Rodrigo Correa, por su ayuda y amistad durante la realización de esta memoria de título.