



**Universidad
Norbert Wiener**

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA

Y BIOQUÍMICA

**Actividad sedante y ansiolítico del extracto etanólico de las hojas
de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” en ratones**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Presentado por:

Br. Lesly Lizeth Alvarado Lopez

Br. Cinthia Melissa Castro Bolaños

ASESORA

Dra. Juana Elvira Chávez Flores

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A Dios, por permitirnos llegar a este momento tan especial y ser nuestro guía en el camino de la vida y el saber.

A nuestros padres, por el apoyo incondicional y por habernos inculcado valores y enseñado la perseverancia para alcanzar nuestras metas.

A la Dra. Juana Elvira Chávez Flores por su tiempo y paciencia durante el desarrollo de la tesis.

A nuestros amigos, quienes sin esperar nada a cambio compartieron todo su conocimiento y nos permitieron entrar a su vida durante estos 5 maravillosos años. Para todas las personas que luchan día a día por cumplir sus sueños.

Br.Lesly Lizeth Alvarado Lopez

Br.Cinthia Melissa Castro Bolaños

AGRADECIMIENTO:

A nuestros padres y familia por su apoyo moral y económico por ser nuestra fuente de motivación e inspiración, por siempre estar a nuestro lado en cada momento impulsándonos a seguir adelante a pesar de las adversidades.

Nuestro agradecimiento y aprecio a nuestra asesora de tesis Dra. Juana Elvira Chávez Flores por habernos compartido todo su conocimiento científico así como también habernos guiado en toda la elaboración, brindándonos su tiempo, sabiduría y toda su paciencia durante todo el desarrollo de la tesis experimental.

A la universidad Norbert Wiener por permitirnos realizar nuestra tesis en sus instalaciones y por brindarnos todas las facilidades para el desarrollo de la tesis.

Br.Lesly Lizeth Alvarado Lopez

Br.Cinthia Melissa Castro Bolaños

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	
SUMMARY	
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Situación problemática	1
1.1.1. Problema general	1
1.1.2. Planteamiento del problema	1
1.2. Justificación de la investigación	2
1.3. Objetivos	2
1.3.1. Objetivo general	2
1.3.2. Objetivos específicos	2
1.4. Hipótesis	3
1.5. Variables	3
1.5.1. Variable independiente	3
1.5.2. Variable dependiente	3
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes de la investigación	4
2.1.1. Antecedentes Nacionales	4
2.1.2. Antecedentes Internacionales	6
2.2. Aspectos botánicos de la especie <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"	8
2.2.1. Origen	8

2.2.2. Descripción botánica	9
2.2.3. Clasificación taxonómica	9
2.2.4. Usos populares	10
2.2.5. Aspectos químicos	10
2.3. Aspecto Farmacológico	15
2.3.1. Generalidades de ansiedad	15
2.3.2. Principales síntomas de ansiedad	15
2.3.3. Medicamentos ansiolíticos	16
2.3.4. Tratamiento farmacológico de la ansiedad	17
2.3.5. Mecanismo de acción de las benzodiacepinas	17
2.3.6. Hipnóticos y sedantes	19
2.3.7. Tratamiento farmacológico de los barbitúricos	20
2.3.8. Barbitúricos	21
2.3.9. Mecanismo de acción de los barbitúricos	21
III. PARTE EXPERIMENTAL	23
3.1. Materiales	23
3.1.1. Lugar de ejecución	23
3.1.2. Material vegetal	23
3.1.3. Materiales para la elaboración del extracto etanólico de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"	23
3.2. Métodos	25
3.2.1. Población de estudio	25
3.2.2. Tipo de investigación	26
3.3. Metodología y procedimiento	26

3.3.1. Recolección de la muestra vegetal <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”	26
3.3.2. Proceso de maceración etanólica de las hojas frescas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”	26
3.3.3. Perfil cualitativo fitoquímico	28
3.3.3.1. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”	28
3.3.3.2. Análisis cualitativo del extracto etanólico de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”	28
3.3.4. Estudio farmacológico	29
3.3.4.1. Actividad sedante del extracto etanólico de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda” por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones	29
3.3.4.2. Actividad ansiolítica del extracto etanólico de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda “ por el método Enterramiento esferas en ratones	31
IV. RESULTADOS	35
4.1. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”.	35
4.2. Perfil cualitativo del extracto etanólico de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”.	36
4.3. Actividad sedante del extracto etanólico de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda” en ratones	37
4.3.1. Método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico	37
4.4. Actividad ansiolítica del extracto etanólico de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda” en ratones.	44

4.4.1. Método Enterramiento de esferas	44
V. DISCUSIÓN	53
VI. CONCLUSIONES	56
VII. RECOMENDACIONES	57
VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	58
XI. ANEXOS	64

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Alcaloides de la quinoleina	11
Figura 2. Cumarinas presentes en la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"	12
Figura 3. Flavonoides presentes en la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"	12
Figura 4. Ruta de biosíntesis de los alcaloides	13
Figura 5. Ruta de biosíntesis del ácido shikímico y otros precursores	14
Figura 5. Mecanismo de acción de benzodiazepinas.	18
Figura 6. Fases del sueño tipo REM y NO REM.	20
Figura 7. Mecanismo de acción de los barbitúricos.	22
Figura 8. Especie vegetal <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"	26
Figura 9. Proceso de maceración etanólica de las hojas frescas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"	27
Figura 10. Animales de experimentación, alojados en las jaulas de policarbonato para el estudio ansiolítico	33
Figura 11. Animal de experimentación aclimatado por 5 minutos para el estudio ansiolítico	33
Figura 12. Prueba de Enterramiento de esferas en ratones albinos para la evaluación de la actividad ansiolítica	34
Figura 13. Evaluación de la actividad ansiolítica del extracto etanólico de la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"	34
Figura 14. Promedio de horas de sueño en ratones hembras por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico	39
Figura 15. Promedio de horas de sueño en ratones machos por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico	40

Figura 16.	Número promedio de esferas enterradas por ratones hembras en el método Enterramiento de esferas	46
Figura 17.	Número promedio de esferas enterradas por ratones machos en el método Enterramiento de esferas	47
Figura 18.	Efecto Inhibidor de la ansiedad en ratones en el método Enterramiento de esferas	52
Figura 19.	Proceso de selección de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda” para el estudio cualitativo	65
Figura 20.	Maceración etanólica de las hojas de la especie vegetal <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”	65
Figura 21.	Filtración de la especie vegetal <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”	66
Figura 22.	Obtención del extracto seco de las hojas de la especie <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”	67
Figura 23.	Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de la especie vegetal <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”	68
Figura 24.	Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Ruta Chalepensis</i> L. “Ruda”	69

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Distribución de grupos para el estudio sedante por el método de Sueño inducido por Pentobarbital Sódico	30
Tabla 2. Distribución de grupos para el estudio ansiolítico por el método de Enterramiento de esferas	32
Tabla 3. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de la especie <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"	35
Tabla 4. Perfil cualitativo fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de la especie <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"	36
Tabla 5. Valores descriptivos de la actividad sedante por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones	37
Tabla 6. Estadísticas descriptivas de la actividad sedante por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones	38
Tabla 7. Prueba de homogeneidad de varianzas de la actividad sedante en ratones por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones	41
Tabla 8. Prueba de Kruskal - Wallis de la actividad sedante en ratones por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico	41
Tabla 9. Comparaciones múltiples Games – Howell por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones	42
Tabla 10. Valores descriptivos de la actividad ansiolítica por el método Enterramiento de esferas en ratones	44
Tabla 11. Estadísticas descriptivas de la actividad ansiolítica por el método Enterramiento de esferas en ratones	45
Tabla 12. Prueba de homogeneidad de varianzas del análisis ansiolítico en ratones por el método Enterramiento de esferas en ratones	48

Tabla 13.	Prueba ANOVA de la actividad ansiolítica en ratones por el método Enterramiento de esferas	48
Tabla 14.	Prueba de Kruskal Wallis de la actividad ansiolítica por el método Enterramiento de esferas en ratones	49
Tabla 15.	Comparaciones múltiples DMS de la actividad ansiolítica por el método Enterramiento de esferas en ratones machos	50
Tabla 16.	Efecto Inhibidor de la ansiedad en ratones en el método Enterramiento de esferas	51

ANEXO

	Pág.
Anexo 1. Documento de certificación de la taxonomía vegetal de la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda" extendida por un biólogo experto	64

GLOSARIO

ANOVA	Análisis de varianza.
BuOH	Butanol
BZD	Benzodiazepinas
CHCl₃	Cloroformo
EtOH	Etanol
EtOAc	Acetato de etilo
Ex-EtOH	Extracto etanólico
GABA	Ácido γ-aminobutírico
Hex	Hexano
MeOH	Metanol
Me₂CO	Acetona
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
OMS	Organización mundial de salud
Q.P	Químicamente puro
Rvo	Reactivo
U.N.M.S.M.	Universidad Nacional Mayor de San Marcos
NMDA	N-metil-D-aspartato
AMPA	Alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionato
ADH	Hormona antidiurética
DAP7	Ácido D-2-amino-7- fosfonoheptanoico

RESUMEN

Ruta Chalepensis L. "Ruda" es una planta ampliamente distribuida en la región mediterránea usado en medicina folklórica como antiespasmódica, antihelmíntica, antimicrobiana, emenagogos y abortivo. La especie vegetal fue recolectada en el departamento Lima, distrito de Lurín a 1224 m.s.n.m. En el presente trabajo experimental se comprobó el efecto sedante y ansiolítico del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" en ratones. Se realizó el perfil cualitativo fitoquímico, posteriormente se empezó con los métodos de estudio: Sueño inducido por Pentobarbital Sódico a distintas concentraciones (100, 250 y 500 mg/kg) y la prueba de Enterramiento de esferas a dosis (5, 10 y 15 mg/kg). Se empleó un total de 100 ratones albinos cepa Balb/C53 de ambos sexos, los cuales fueron distribuidos en 5 grupos. Se comprobó que el tratamiento con mayor eficacia en el método de Enterramiento de esferas fue el extracto etanólico *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" a 10 y 15 mg/kg es decir tienen un efecto superior al diazepam, en cuanto al método de Sueño inducido por Pentobarbital Sódico la comparación de los extractos vs el diazepam tienden a concluir que principalmente los extractos etanólico Ruda a 250 y 500 mg/kg tienen un efecto similar al diazepam. Se concluyó que el extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" si posee actividad sedante y ansiolítica.

Palabras clave: Extracto etanólico, *Ruta Chalepensis* L., actividad sedante, actividad ansiolítica, Ruda.

SUMMARY

Ruta chalepensis L. "Ruda" is a plant widely distributed in the Mediterranean region used in folk medicine as antispasmodic, worming, antimicrobial, EMENAGOGA and abortion. The plant species were collected in the Department Lima, district of Lurin at 1224 m.s.n.m. In the present study found the sedative and anxiolytic of the ethanolic extract of the leaves of *Ruta chalepensis* L. "Ruda" in mice. The qualitative profile phytochemical, subsequently began with the study methods: sleep induced by sodium pentobarbital at different concentrations (100, 250 and 500 mg/kg) and the burial of areas to dose (5, 10 and 15 mg/kg). A total of 100 albino mice strain Balb/C53 of both sexes, which were distributed in 5 groups. It was found that treatment with greater effectiveness in the method of burial of areas was the ethanolic extract *Ruta chalepensis* L. "Rude" to 10 and 15 mg/kg is they have a superior effect to diazepam, as to the method of sleep induced by sodium pentobarbital, the comparison of the extracts vs diazepam tend to conclude that mainly the ethanolic extracts Ruda to 250 and 500 mg/kg have an effect similar to diazepam. It was concluded that the ethanolic extract of the leaves of *Ruta chalepensis* L. "Ruda" if it has anxiolytic and sedative activity.

Key words: Ethanolic extract, *Ruta chalepensis* L., sedative activity, anxiolytic activity, Ruda.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. SITUACIÓN PROBLEMÁTICA

1.1.1. PROBLEMA GENERAL

Estudios realizados en el país se evidencia que entre un 40 y 60 % de la población se automedican, actualmente los sedantes ocupan el sexto lugar en automedicación^(1, 2). El uso y prescripción de las BZD se ha relacionado con un alto riesgo de abuso y dependencia debido a su manejo inadecuado ya que, aún administradas regularmente a niveles terapéuticos, poseen un potencial de dependencia mayor que otros fármacos de acción ansiolítica⁽³⁾. Estos medicamentos son utilizados en situaciones clínicas específicas, potencialmente capaces de producir dependencia y, en su administración crónica, serios trastornos de la memoria, falta de coordinación motora trayendo consigo una adicción⁽⁴⁾. Por otro lado, los trastornos de ansiedad afectan al 3,8% de la población de edad mayor y los problemas por abuso de sustancias psicotrópicas, casi al 1%. La OMS estima que durante las emergencias 1 de cada 5 personas se ve afectada por la depresión y la ansiedad⁽⁵⁾. Las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” se le atribuyen propiedades con actividad sedante y ansiolítica, esta especie vegetal sería una alternativa en la terapia farmacológica en el tratamiento de pacientes con enfermedades crónicas como Parkinson, epilepsia, drogadicción y como coadyuvante en el tratamiento del sueño en pacientes geriátricos⁽⁶⁻¹⁰⁾.

1.1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿El extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” tendrá actividad sedante y ansiolítica en ratones?

1.2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La ansiedad es un problema en salud mental que se ha convertido en uno de los principales problemas de salud pública. Según la OMS afectan al 3,8 % de la población de edad mayor ⁽⁵⁾, ocupando el segundo lugar entre los trastornos mentales en América latina y el Caribe con un 3,4 %⁽¹¹⁾. Mayormente los pacientes geriátricos que padecen de enfermedades crónicas como Parkinson, epilepsia, drogadicción y como coadyuvante en el tratamiento del sueño⁽⁶⁻¹⁰⁾. Este trabajo de investigación se realiza para ayudar a mejorar la calidad de vida de las personas que sufren de alguna alteración del sistema nervioso central asimismo esta especie vegetal sería una alternativa al tratamiento farmacológico en la terapia de sedación, lo cual contribuiría a minimizar los efectos adversos y el costo.

1.3. OBJETIVOS:

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Comprobar la actividad sedante y ansiolítica del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" en ratones.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Realizar la prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda".
2. Identificar por análisis cualitativo la presencia de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda".
3. Determinar la actividad sedante mediante el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones.
4. Determinar la actividad ansiolítica mediante el método de Enterramiento de esferas en ratones.

1.4. HIPÓTESIS

El Extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" presenta el metabolito secundario, alcaloides a que se le atribuye la actividad sedante y ansiolítica en ratones.

1.5. VARIABLES:

1.5.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Extracto etanólico de la *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" en ratones.

1.5.2. VARIABLE DEPENDIENTE

Actividad sedante y ansiolítica.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN:

2.1.1. ANTECEDENTES NACIONALES:

Buendía J. (2015)⁽¹²⁾, estudiaron “El efecto sedante del extracto alcohólico de hojas y flores de *Melissa officinalis* “Toronjil” más *Matricaria chamomilla* “Manzanilla” sobre la ansiedad inducida en ratones albinos”, con el Objetivo: Determinar el efecto sedante de *Melissa officinalis* “Toronjil” más *Matricaria chamomilla* “Manzanilla” sobre ansiedad inducida en ratones albinos utilizando el Método: Inducción de hiperactividad y/o cambios conductuales por NMDA en treinta y seis ratones, considerándose grupos; Grupo 1: Normal (Solucion de twen 80, 5 mL/kg), Grupo 2: N-metil-D-aspartato (NMDA) en una dosis de 75 mg/kg, Grupo 3: EAMM a dosis de 1 g/kg, + (NMDA) dosis de 75 mg/kg, Grupo 4: EAMM a dosis de 2 g/kg,+ (NMDA) dosis de 75 mg/kg, Grupo 5: EAMM a dosis de 4 g/kg + (NMDA) dosis de 75 mg/kg y Grupo 6: DAP7 a dosis de 0,33 η mol/kg+ (NMDA) dosis de 75 mg/kg. Se comparó el efecto sedante con diazepam en 30 ratones: SSF 10 mL/kg; diazepam 50 mg/kg y Extracto 1, 2, 4 g/kg respectivamente, midiéndose tiempo de dormir (minutos). Resultados: Demostraron que los compuestos fenólicos y terpenoídes estuvieron en mayor cantidad en el extracto alcohólico; el 100% ($p < 0,05$) de ratones mostró efecto sedante. Conclusión: Se demostró que el extracto alcohólico de hojas y flores de *Melissa officinalis* “Toronjil” más *Matricaria chamomilla* “Manzanilla” es sedante en ratones.

Cárdenas J.(2012)⁽¹³⁾, estudiaron “Validación del efecto sedativo, antiedematizante y toxicidad de *Valeriana officinalis* (Valeriana); *Melissa officinalis* (Melisa); *Thymus vulgaris* (Tomillo); *Foeniculum vulgare* (Hinojo); *Passiflora incarnata* (Flor de la Pasión o Maracuyá) en ratones”, con el Objetivo: Evaluar la actividad sedante y reducción del edema con el extracto de *Valeriana officinalis* (Valeriana); *Melissa officinalis* (Melisa); *Thymus vulgaris* (Tomillo); *Foeniculum vulgare* (Hinojo); *Passiflora incarnata* (Flor de la Pasión o Maracuyá) en ratones, utilizando el Método: Ensayo de la chimenea actividad motora, ensayo de tabla agujereada o de curiosidad, ensayo de la tracción, ensayos biológicos (la actividad edematosa) y el

estudio de la toxicidad aguda DL₅₀. Donde tuvo como grupos experimentales : Grupo control negativo, se le administró suero fisiológico; un grupo control positivo, a los que se les administro Clorpromazina 5 mg/kg de peso y Veneno de Bothrops barnetti; y los grupos experimentales a los que se les administró la infusión de la planta *Valeriana officinalis* (Valeriana); *Melissa officinalis* (Melisa); *Thymus vulgaris* (Tomillo); *Foeniculum vulgare* (Hinojo); *Passiflora incarnata* (Flor de la Pasión o Maracuyá) en dosis de 750 mg/kg y 1000 mg/kg de peso y un grupo que se les administró la infusión de las plantas en dosis de 1g/kg a 5 g/kg de peso. Resultados: Demostraron que la Dosis Letal Media (DL50) en las dosis de 1g/kg a 5g/kg administradas por vía peritoneal, realizando observaciones durante 3 días, que las plantas no son tóxicas a ninguna de las dosis utilizadas. Conclusión: Se demostró que los extractos de las plantas a las dosis empleadas, no evidencia acción de tipo sedativo, ansiolítica, inhibidor de la inflamación.

Gil J. (2016)⁽¹⁴⁾, estudiaron “Efecto del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* (Tumbo Serrano) en la ansiedad, en *Mus musculus var.albinus*”, con el Objetivo: Determinar el efecto del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* (Tumbo Serrano) en la ansiedad, en *Mus musculus var.albinu*, utilizando el Método: Murble burying, se realizó en 20 especímenes distribuidos aleatoriamente en 4 grupos a quienes se les administro por vía intraperitoneal (VIP) como sigue: G1: grupo blanco 0,1 mL de solución salina, G2: grupo control dosis de Diazepam 1mg/kg. G3 y G4: Grupos problema dosis de 200 mg/kg/p.c y 100 mg/kg/p.c y de extracto etanólico al 45% de hojas de *Passiflora tripartita*. Posteriormente se determinó los niveles de ansiedad usando la prueba de enterramiento de esfera o Murble burying Test. Resultados: Demostraron que los compuestos fenólicos y terpenoídes estuvieron en mayor cantidad en el extracto alcohólico; el 100% (p<0,05) de ratones mostró efecto sedante. Conclusión: Se demostró que las dosis de 200 mg/kg/p.c y 100 mg/kg/p.c del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* disminuyen los niveles de ansiedad de manera significativa con una p<0,05.

Arévalo G, Boncún B, Ruiz G, et al (2014)⁽¹⁵⁾, estudiaron “Estudio fitoquímico y efectos sedativo e hipnótico de *Solanum melongena* var. *esculentum* (Dunal) Nees en *Cavia porcellus* en comparación con diazepam”, con el Objetivo: Realizar el estudio fitoquímico y evaluar los efectos sedativo e hipnótico de las hojas de *Solanum melongena* var. *esculentum* (Dunal) Nees en *Cavia porcellus* en comparación con diazepam, utilizando el Método: Conducta exploratoria y la prueba de sueño inducido por éter etílico, donde los grupos tratados fueron: Grupo I (cafeína 25 mg/mL), Grupo II (cafeína 25 mg/mL y diazepam 0,5 mg/kg) y Grupo III (cafeína 25 mg/mL y decocto de *Solanum melongena* al 10%, a dosis de 200 mg/kg p.c) y presentaron en promedio 30, 14 y 10 cruces y empinamientos respectivamente. Resultados: Demostraron tanto el Grupo II y III produjeron cambios en la actividad motora del animal, disminuyendo el estado de excitabilidad provocado por la cafeína, siendo estos estadísticamente significativos ($p < 0,05$). En la prueba de sueño inducido por éter etílico, el periodo de latencia y duración del sueño por efecto del decocto al 10% (200 mg/kg p.c) fue de $37,2 \pm 0,5$ segundos y $159,5 \pm 0,75$ segundos y por efecto del diazepam (0,5mg/kg) fue de $35,6 \pm 0,79$ segundos y $185,3 \pm 0,25$ segundos respectivamente, con un ($p < 0,05$). Conclusión: Se demostró que las hojas de *Solanum melongena* var. *esculentum* (Dunal) Nees. poseen metabolitos secundarios como triterpenos, esteroides, flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides, cuyo decocto al 10% a la dosis de 200 mg/kg p.c posee efectos sedativo e hipnótico siendo éstos menores en comparación a los producidos por diazepam.

2.1.2. ANTECEDENTES INTERNACIONALES:

Bonilla J, Santa M, Toloza G, et al (2013)⁽¹⁶⁾, estudiaron “Determinación de la toxicidad, actividad sedante y ansiolítica del extracto acuoso de las Flores de *Erythrina berteroana* (Pito) en ratones NIH”, con el Objetivo: Determinar la toxicidad, actividad sedante y ansiolítica del extracto acuoso de las flores de *Erythrina berteroana* (Pito) en ratones NIH”, utilizando el Método: Sueño inducido por pentobarbital, Enterramiento de esferas, Suelo agujereado y Laberinto en cruz elevado en ratones de ambos sexos a dosis de 100, 250 y

500 mg/kg de peso corporal. Así mismo se evaluó la toxicidad vía oral a una dosis límite de 2000 mg/kg de peso corporal durante 28 días. Resultados: Las pruebas fitoquímicas demostraron la presencia de alcaloides, triterpenos y flavonoides en flores de *Erythrina berteroana*. Así mismo, no se observan alteraciones en el estado de salud de los animales experimentales. Además, demuestran que la sustancia de ensayo no posee efecto sedante, pero sí una actividad ansiolítica al disminuir el miedo natural a lo desconocido, a los espacios abiertos, a las alturas y las esferas. Conclusión: Se demostró que no existe un efecto sedante, pero sí un efecto ansiolítico ligeramente efectivo del extracto acuoso de las flores de *Erythrina berteroana*.

Rea V. (2014)¹⁷, estudiaron “Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de Flor de Badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*)”, con el Objetivo: Realizar la evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de Flor de Badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*). Método: Se realizó un estudio preclínico utilizando 18 ratones *Mus musculus* divididos en 6 lotes de 3 ratones cada uno denominados: G1:(Blanco): recibió vehículo (suero fisiológico: glicerina), G2 (Control positivo químico): zopiclona, G3 (Control positivo natural): *Passiflora incarnata* y los grupos G4, G5 y G6 (Experimentos Netos): extracto de *Passiflora quadrangularis* al 100 %, 65 % y 30 % respectivamente. A cada ratón se le administró 0,2 mL del tratamiento por vía oral y luego de 30 minutos se le realizó 5 ensayos neurofarmacológicos (Prueba del Alambre, Enterramiento de canicas, Laberinto elevado cero, Caja luz-oscuridad y Campo abierto) que sirvieron para evaluar el comportamiento de su Sistema Nervioso. Resultados: Evidenciaron una disminución de los niveles de ansiedad in vivo en las tres concentraciones administradas de *Passiflora quadrangularis* resultando ser más efectiva la concentración al 100 %. Conclusión: Se concluye que el extracto de Flor de Badea posee potenciales efectos ansiolíticos, siendo los alcaloides y flavonoides los compuestos responsables de esta actividad.

Villafaña M, Ángel A. (2017)¹⁸, estudiaron “Actividades sedante y antidepresivas de soulatrolido, un compuesto aislado de *Calophyllum*

brasiliense Cambess (Calophyllaceae)”, con el Objetivo: Demostrar la actividad sedante y depresiva del compuesto soulatrolido extraído de las hojas del árbol *Calophyllum brasiliense*. Método: Se realizó un estudio preclínico utilizando 8 ratones de la cepa Balb/c a los cuales se les administró: Solución salina (vehículo), el control positivo clonazepam (1 mg/kg) y el soulatrolido (10-50 mg/kg p.o.). Posteriormente se administró pentobarbital (35 mg/kg) vía intraperitoneal (Prueba de suspensión de la cola, Sueño inducido por pentobarbital) que sirvieron para evaluar el comportamiento de su Sistema Nervioso. Resultados: Mostraron que el soulatrolido no presenta efectos antidepresivos y tampoco induce depresión. Conclusión: Se concluye que el soulatrolido presenta efectos sedantes.

Oviedo V, García M, Díaz C, et al (2009)¹⁹, estudiaron “Extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica en ratones”, con el Objetivo: Evaluar el efecto neurológico ejercido por el extracto hidroalcohólico (40%) obtenido de las hojas de *Annona muricata* (0,5 g/kg, VO) en ratones albinos ICR. Método: Se utilizaron 8 ratones ICR machos de siete a nueve semanas de edad mediante pruebas tendientes a detectar posible actividad de tipo anticonvulsivante (Electrochoque-pentilentetrazol), antidepresiva (Nado forzado), hipnótica (Potenciación de sueño barbitúrico) y ansiolítica (Laberinto en cruz). Resultados: Los compuestos de tipo alcaloidal presentes en *Annona muricata* tendrían efectos de tipo ansiolítico (53% y 58% de tiempo y frecuencia de acceso a las zonas abiertas en la prueba de laberinto en cruz elevado), no vinculados a la activación de receptores de benzodiazepinas y carentes de efectos citotóxicos in vitro. Conclusión: Se concluye que el *Annona muricata* tendrían efectos de tipo ansiolíticos.

2.2. Aspectos botánicos de la especie *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”.

2.2.1. Origen

La *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” es autóctona de la región mediterránea y de las islas canarias. Se cultiva en los trópicos como una hierba o planta medicinal y se naturalizó ampliamente. Habita en climas cálido, semicálido, seco - semiseco y templado, desde el nivel del mar hasta los 3900 m. En

África tropical se ha introducido en varios países, incluidas las islas de Cabo Verde, Sudán, Etiopía, Somalia y el sur de África (incluido Sudáfrica) donde se cultiva principalmente en jardines. También se ha naturalizado en Arabia peninsular, India, Malasia, Vietnam y Java. Además, está siendo naturalizado en los Estados Unidos, México, Cuba, Perú y Chile.

2.2.2. Descripción botánica

Es una hierba o arbusto pequeño, de 40 cm a 1,50 m de altura, con los tallos verde-grisáceos. Hojas en forma de espiral, de 2-3 pinnatisecta, obovadas en el contorno, notoriamente verde, punteado glandular translúcido, olor fuerte, hojas inferiores más o menos pecioladas, hasta 12,5 cm de largo.

Las flores son amarillas en conjuntos poco tupidos en la parte terminal de la planta. Los frutos son unas cápsulas con cuatro o cinco divisiones. Flores bisexuales, 0,5-2 cm de largo; sépalos delgados - ovados, 3-4 mm x 2-3 mm, glabros; pétalos libres, oblongos, de 4-8 mm de largo, con flecos con cilios no tan largos, con flecos con cilios que no son tan largos como el ancho del pétalo, de color amarillo verdoso en el exterior, amarillo en el interior; anteras dos veces más que los pétalos; ovario superior, casi redondo, 4-5-lobulado. Una cápsula de 4 lóbulos, 5-7 mm x 5-8 mm. Semillas de tres filos, en forma de riñón, café oscuro o marrón oscuro. Planta de semillero con germinación epigea⁽²⁰⁾. La planta tiene un olor penetrante.

Es cultivada en huertos familiares, adaptada a diferentes condiciones ecológicas, crece en áreas con vegetación circundante de bosques tropicales caducifolios, sub-caducifolio y perennifolios, pastizal, bosque mesófilo de montaña y con más frecuencia en bosques de encino, de pino⁽²¹⁾.

2.2.3. Clasificación taxonómica

La posición taxonómica según el Herbario del Museo de Historia Natural de la U.N.M.S.M. e identificada por el Mag. Asunción A. Cano Echevarría, según el sistema de clasificación de Cronquist (1988)⁽²²⁾.

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Sub clase: ROSIDAE

Orden: SAPINDALES

Familia: RUTACEA

Género: Ruda

Especie: *Ruta Chalepensis* L.

2.2.4. Usos populares

El nombre genérico de Ruta proviene del latín y significa “amargura, hierba amarga y desagradable”. Es una planta que ha sido naturalizado en el Perú. En la sierra de nuestro país se utiliza como una planta protectora, preserva de accidentes, ataques psíquicos, de la envidia, actúa como prevención, pues crea un campo protector alrededor de quien la posea. En infusiones son utilizados como abortivos, para cólicos fuertes y regulación de la menstruación.

Está indicado en el tratamiento de depresión, histeria, problemas cardiovasculares y circulatorios. Así como antiparasitario, su uso tópico está indicado en el tratamiento de úlceras de las encías, eczema, psoriasis, pediculosis, reumatismo y picadura de animales ponzoñosos. Mal de ojo, infección en el estómago, nervios, hinchazón de matriz, ayuda a dilatar en el trabajo de parto, calentura, dolor de estómago, quitar la ansiedad, tristeza, dolor de cabeza, infección de la piel, cardiotónico⁽²³⁾.

2.2.5 Aspectos químicos

Los estudios fitoquímicos de la raíz y las partes aéreas de la planta mostraron que la *Ruta Chalepensis* L. es rica en alcaloides activos y furocumarinas y contiene otras clases de cumarina, flavonoides, taninos, aceite volátil, esteroides o triterpenos⁽²⁴⁾.

En la raíz se encuentran los siguientes compuestos:

Los alcaloides constituyen el grupo más grande de metabolitos secundarios de las plantas⁽²⁵⁾.

Alcaloides presentes en la *Ruta Chalepensis* L.: Chaloridona, dos derivados de la acridona y graveolina, kokusaginina, skimmianina⁽²⁶⁾.

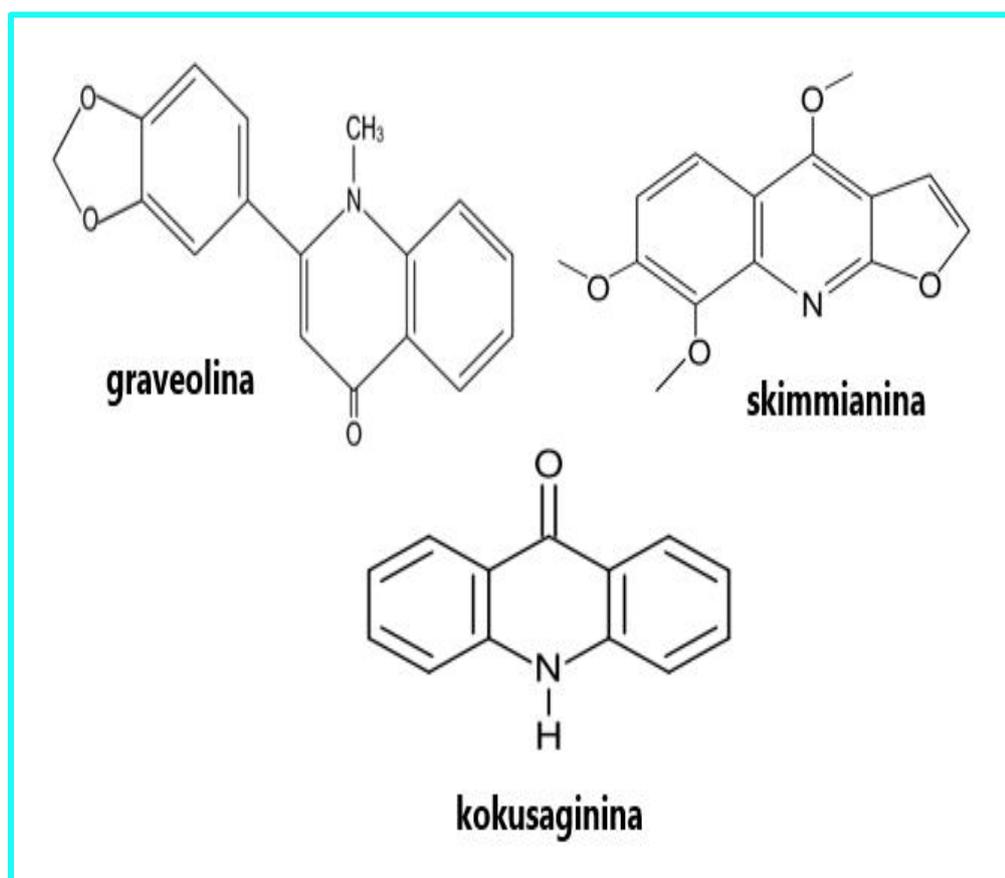


Figura 1. Alcaloides de la quinoleína⁽²⁴⁾.

Las cumarinas son compuestos ampliamente distribuidos en las plantas, principalmente en las familias Umbeliferae y Rutaceae; se encuentran en todas las partes de la planta, desde la raíz a flores y frutos siendo más abundante en estos últimos; se presenta a menudo como mezclas, en forma libre o como glicósidos⁽²⁵⁾.

Cumarinas presentes en la *Ruta Chalepensis* L. son: Bergapteno, Chalepina, Psoraleno, Rotal, Pinina, Xantotoxina⁽²⁶⁾.

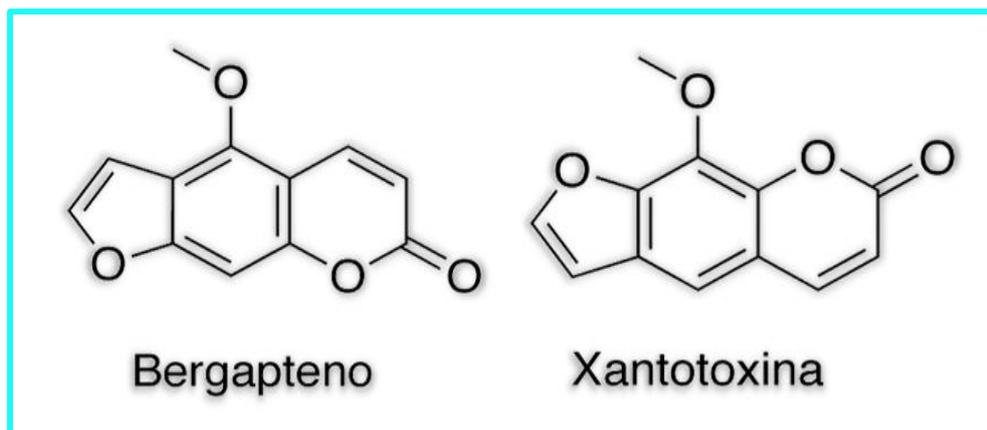


Figura 2. Cumarinas presentes en la *Ruta Chalpensis* L. "Ruda"⁽²⁴⁾.

Los flavonoides, uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales, conocidas algunas veces como antotoxinas ⁽²⁵⁾.

Flavonoides presentes en la *Ruta Chalepensis* L. son: Kaempferol y su rutinósido, rutinósido de quercetina, isoramnetina y su rutinósido, rutina, quercetina.

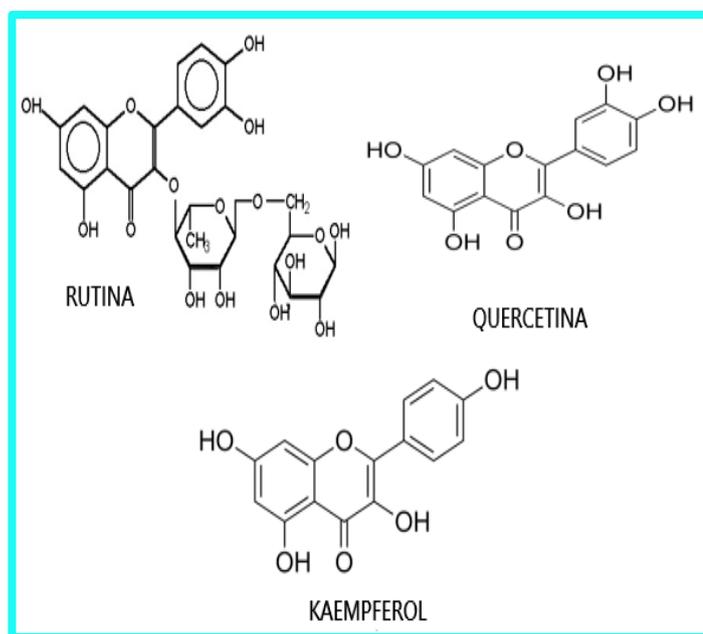


Figura 3. Flavonoides presentes en la *Ruta Chalpensis* L. "Ruda"⁽²⁴⁾.

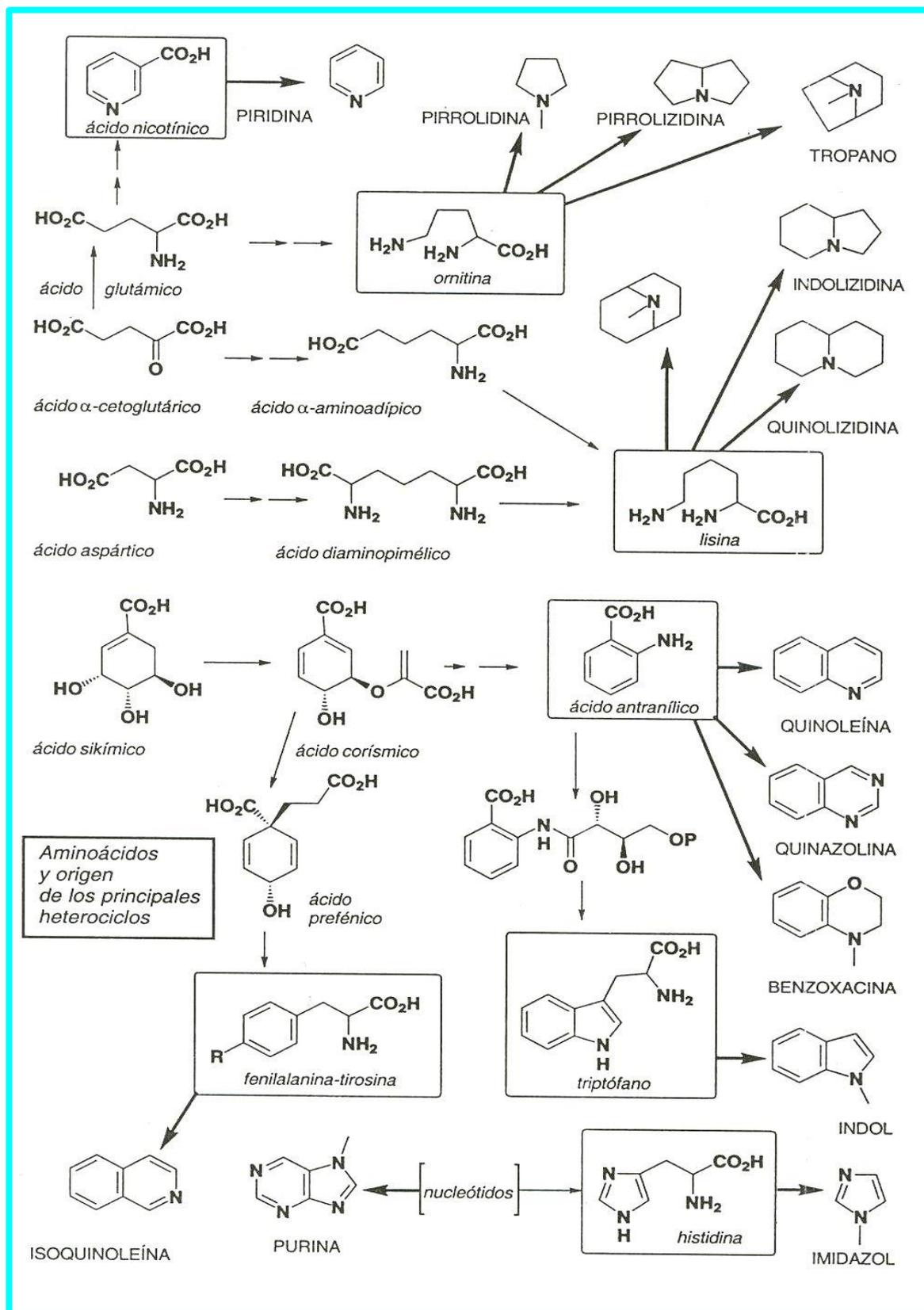


Figura 4. Ruta de biosíntesis de los alcaloides (25).

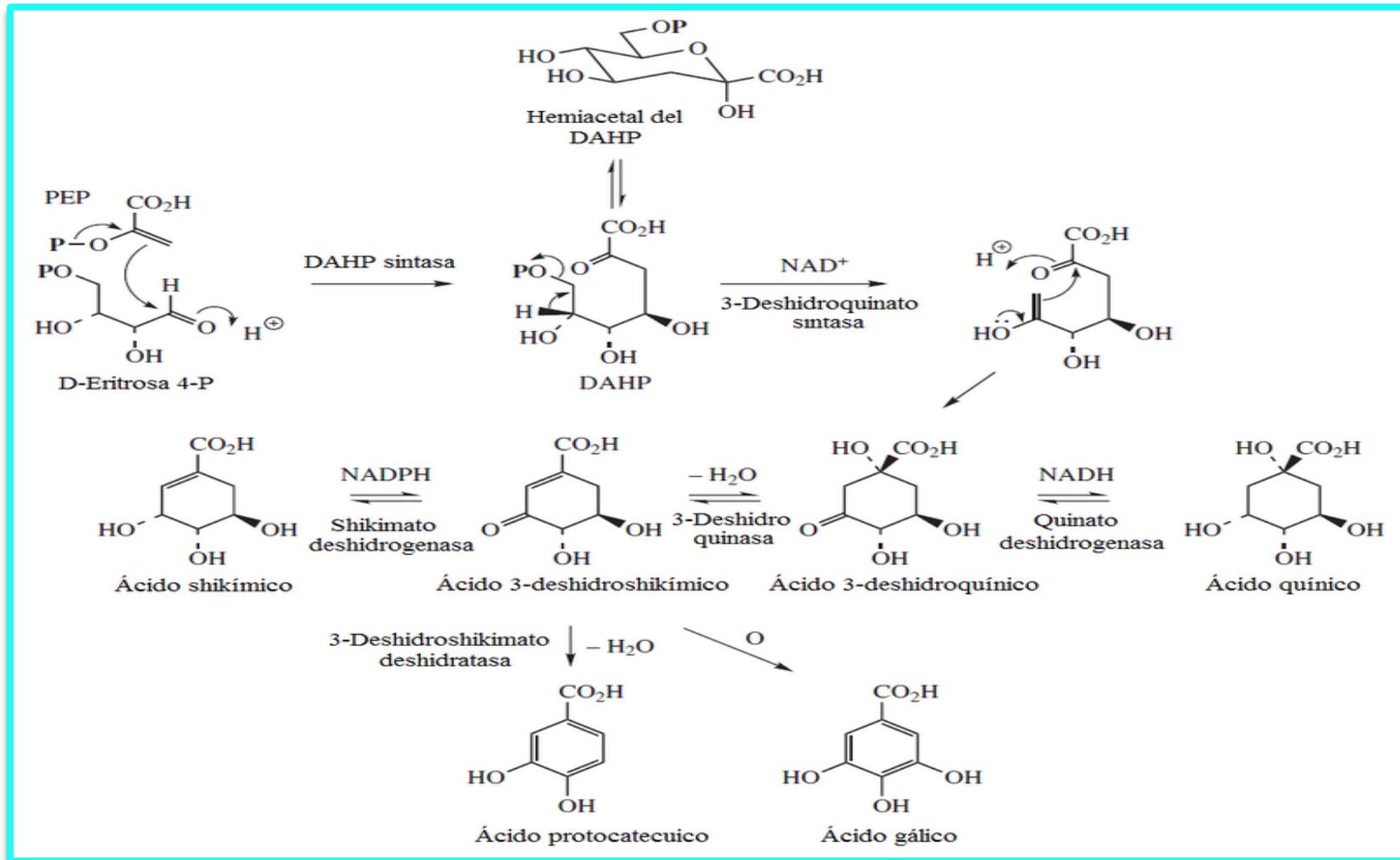


Figura 5. Ruta de biosíntesis del ácido shikímico y otros precursores ⁽²⁵⁾.

2.3. ASPECTO FARMACOLÓGICO:

2.3.1. Generalidades de ansiedad

El término ansiedad, proviene del latín “anxietas”, que significa congojas o aflicción. Consiste en un estado de malestar psicofísico caracterizado por una sensación de inquietud, intranquilidad, inseguridad o desosiego ante lo que se vivencia como una amenaza inminente y de causa indefinida. La diferencia básica entre la ansiedad normal y la patología, es que esta última se basa en una valoración irreal o distorsionada de la amenaza ⁽¹⁶⁾.

En general, el término ansiedad alude a la combinación de distintas manifestaciones físicas y mentales que no son atribuibles a peligros reales, sino que se manifiestan ya sea en forma de crisis o bien como un estado persistente y difuso, pudiendo llegar al pánico; no obstante, pueden estar presentes otras características neuróticas tales como síntomas obsesivos o histéricos que no dominan el cuadro clínico. Si bien la ansiedad se destaca por su cercanía al miedo, se diferencia de éste en que, mientras el miedo es una perturbación cuya presencia se manifiesta ante estímulos presentes, la ansiedad se relaciona con la anticipación de peligros futuros, indefinibles e imprevisibles ⁽²⁷⁾.

La ansiedad por lo general se acompaña de una sensación de tensión interna y dificultad para relajarse. Es frecuente la hiperactividad del sistema nervioso autónomo; los pacientes suelen quejarse de cefaleas, inestabilidad, visión borrosa, disminución de la salivación, sudoración excesiva, molestias estomacales, taquicardia, mayor frecuencia de las micciones, hormigueos en los miembros, dolores musculares, fatigabilidad precoz, insomnio, irritabilidad, sentimiento de zozobra, impaciencia, preocupación y aprensión. La literatura médica distingue entre los estados de ansiedad puros y otros trastornos emocionales ⁽²⁸⁾.

2.3.2. Principales síntomas de ansiedad

Los síntomas característicos de los Trastornos de Ansiedad difieren de los sentimientos habituales de nerviosismo e inquietud en que se manifiestan

externamente como reacciones desproporcionadas y/o injustificadas ante estímulos o situaciones ambientales cotidianas, reacciones que escapan del control voluntario de la persona, tienen un carácter intenso y recurrente, generan incomodidad y malestar e interfieren significativa y negativamente en la vida de la persona en múltiples niveles:

1. Preocupación:

- Inseguridad
- Miedo o temor
- Aprensión
- Pensamientos negativos
- Dificultad de concentración
- Dificultad para la toma de decisiones.

2. Motores u observables:

- Paralización motora
- Movimientos torpes y desorganizados
- Tartamudeo
- Pulso rápido
- Tensión arterial alta
- Sensación de sofoco
- Síntomas gastrointestinales. Náuseas, vómitos, diarrea, molestias digestiva
- Síntomas genitourinarios. Micciones frecuentes, tensión muscular, hormigueo, dolor de cabeza tensional, sequedad de boca, sudoración excesiva y mareos ⁽¹⁶⁾.

2.3.3. Medicamentos ansiolíticos

Las benzodiazepinas son el grupo farmacológico más empleado en el tratamiento de la ansiedad, por lo que su nombre a veces se utiliza casi como sinónimos de ansiolíticos. El conocimiento de su capacidad para generar dependencia y los fenómenos asociados a su utilización en

poblaciones de riesgo como ancianos o pacientes con enfermedades respiratorias, han limitado su empleo.

Las benzodiacepinas son un grupo de fármacos con propiedades ansiolíticas, hipnóticas, anticonvulsivantes y relajantes musculares, variando dichos efectos en función de las características de cada molécula y de la dosis empleada. Así, por lo general, en dosis bajas las benzodiacepinas son ansiolíticas, en dosis mayores son hipnóticas y miorrelajantes y, finalmente, en dosis altas son anticonvulsivantes. Asimismo, pueden producir amnesia anterógrada, efecto que puede ser utilizado en clínica, en la inducción de la anestesia⁽²⁸⁾.

2.3.4. Tratamiento farmacológico de la ansiedad

Esta amplia familia de fármacos se utiliza en el tratamiento del insomnio desde hace 50 años. La primera benzodiacepina descubierta fue el clordiazepóxido (Librium) a la que siguió pocos años después el diazepam (Valium), que sigue siendo el fármaco de referencia dentro de esta familia. Todas ellas tienen, en mayor o menor grado, una serie de acciones farmacológicas, ansiolíticas, sedante, hipnótico, relajante muscular y anticonvulsivante que determinan una amplia gama de aplicaciones terapéuticas, además del tratamiento del insomnio⁽⁹⁾.

2.3.5. Mecanismo de acción de benzodiacepinas

El Ácido γ -aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitorio del Sistema Nervioso Central de los mamíferos. El GABA puede activar dos tipos de receptores, uno metabotrópico ($GABA_B$), acoplado a una proteína G con función pre sináptica y pos sináptica, y uno inotrópico ($GABA_A$) con función sináptica localizado en la membrana pos sináptica. La acción del $GABA_A$ facilita la entrada del ion cloro (Cl^-) dentro de la neurona, lo que produce la hiperpolarización de la neurona haciéndola menos susceptible a los estímulos activadores y, por lo tanto produciendo un estado de inhibición neuronal. Este efecto puede potenciarse mediante la acción del diazepam⁽²⁹⁾.

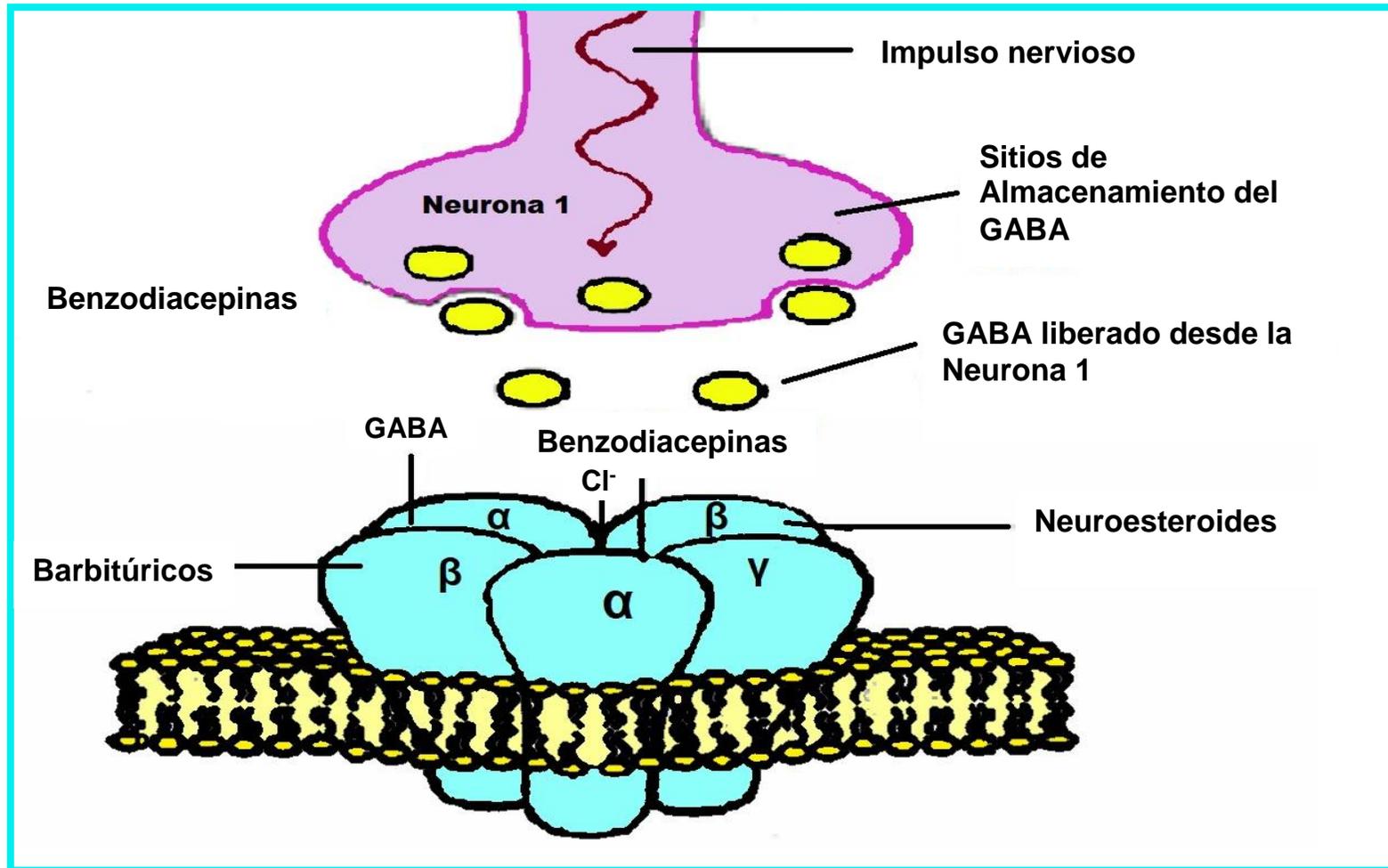


Figura 6. Mecanismo de acción de las benzodiazepinas⁽⁹⁾.

2.3.6. Hipnóticos y sedantes

Los hipnóticos y sedantes son depresores no selectivos o generales del sistema nervioso central; se emplean para reducir la inquietud la tensión emocional y para provocar sueño o el reposo. La sedación puede definirse como una disminución en la reactividad o capacidad de respuesta a un nivel constante de estimulación con el descenso en actividad e ideación espontáneas.

Las reacciones adversas más comunes son la somnolencia, el letargo y el ahogo. La sobredosis da lugar a coma e incluso a la muerte producida por depresión de los centros vitales modulares del cerebro. El uso prolongado, incluso a dosis terapéutica, puede producir dependencia psíquica y física. La interrupción repentina de la medicación provoca a veces un grave síndrome de abstinencia caracterizado por convulsiones y delirio; puede producir coma y la muerte ⁽³⁰⁾.

El sueño normal se compone de dos tipos de sueño: REM y No REM (Ver Figura 2) este último se compone a su vez en cuatro fases, cada una progresivamente más profunda. Se comienza la noche con la fase I del sueño No REM, pasando a otras fases hasta llegar a la fase 4 en la que la capacidad de respuesta a los estímulos ambientales es menor, siendo más difícil el despertar, de manera que si nos despertamos en esta fase nos encontramos desorientados, aturdidos, raramente recordamos los sueños y fácilmente volvemos a quedar dormidos. Durante este sueño No REM la actividad neuronal disminuye un 50% debido a la disminución del flujo sanguíneo cerebral. La primera fase del sueño REM ocurre, como media, a los 90 minutos tras el inicio del sueño, y se debe a la brusca activación de las neuronas colinérgicas, que estimulan el córtex visual y las áreas límbicas del cerebro. En esta fase del sueño el cuerpo es muy poco sensible a los estímulos externos y las motoneuronas de la médula espinal quedan como anestesiadas.

Durante el sueño REM mientras que el sistema colinérgico está activo el serotoninérgico permanece quiescente, y el encefalograma registra una actividad cerebral parecida a la del estado de vigilia (elevada frecuencia y

escasa amplitud de ondas). Con la edad, la estructura y el tiempo del sueño varían. Un recién nacido duerme aproximadamente 18 horas, un adulto joven de 7,5 a 8 horas y un anciano alrededor de 6,5 horas. En el recién nacido la fase REM ocupa más de un 50% del tiempo total del sueño, mientras que en el anciano ocupa tan sólo un 20%. De la tercera a la sexta década de la vida se produce una disminución gradual de la calidad del sueño, que se vuelve más fragmentado y superficial ⁽¹⁶⁾.

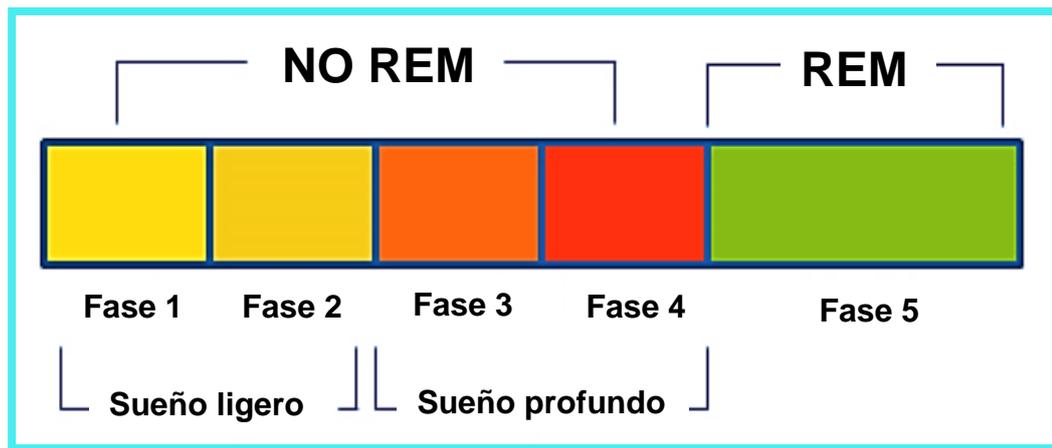


Figura 7. Fases del sueño tipo REM y NO REM ⁽¹⁶⁾.

2.3.7. Tratamiento farmacológico de los barbitúricos

Desde la antigüedad se han venido usando diferentes sustancias químicas obtenidas de plantas para inducir y mantener el sueño. Las más frecuentes son los extractos de plantas (valeriana, tilo, pasiflora y opioides). Algunas personas han acudido también a otro tipo de terapias como la homeopatía y productos “naturales”. Algunas de estas sustancias siguen siendo utilizadas con eficacia en el insomnio agudo de carácter transitorio, situacional y psicofisiológico, pero la mayoría de ellas pierden su eficacia en poco tiempo cuando se toman de modo continuado.

Los barbitúricos hasta hace unas décadas fueron los fármacos más usados para combatir todos los tipos de insomnio. Debido a los numerosos casos de abuso, dependencia y suicidios con sobredosis se han dejado de usar como hipnóticos y están contraindicados en la actualidad. Aunque son eficaces, alteran la estructura del sueño, crean rápida tolerancia y

dependencia, y la sobredosis es muy peligrosa, aumentando el riesgo de mortalidad⁽³¹⁾.

2.3.8. Barbitúricos

Son derivados de la malonil urea o ácido barbitúrico; actualmente ya no se utilizan como sedantes hipnóticos por los efectos adversos que producen, incluyendo a la farmacodependencia. Se absorben con rapidez del intestino y pasan rápidamente a la circulación sanguínea después de la administración oral. La vida media de eliminación del secobarbital y pentobarbital varía de 18 a 48 horas en diferentes individuos y la del fenobarbital es de 4 a 5 días⁽²⁹⁾.

2.3.9. Mecanismo de acción de los barbitúricos

Actúan principalmente sobre complejo GABA y potencian la inhibición gábergica a través del aumento de la duración de la apertura del canal de Cl⁻ inducida por el GABA. No se unen al receptor de benzodiazepina, pero sí lo hacen en otro lugar en el mismo complejo macromolecular para ejercer la acción facilitadora de GABA. Las concentraciones elevadas de barbitúricos aumentan directamente la conductancia del Cl⁻ (acción mimética de GABA, en contraste de la BZD que solo tienen acción facilitadora de GABA) e inhiben la liberación de neurotransmisores que dependen de Ca²⁺. Además, deprimen la despolarización neuronal inducida por el glutamato a través de los receptores AMPA. Las concentraciones muy elevadas de barbitúricos también deprimen los canales de Na⁺ y K⁺. Las dosis hipnóticas de estos agentes producen un descenso leve de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca: la magnitud de la variación no se diferencia de la propia del sueño normal. Las dosis somníferas disminuyen levemente el tono y la motilidad intestinales, más aun en caso de intoxicación. Los barbitúricos suelen reducir el flujo urinario como consecuencia de la disminución de la presión arterial y la mayor liberación de ADH⁽³²⁾.

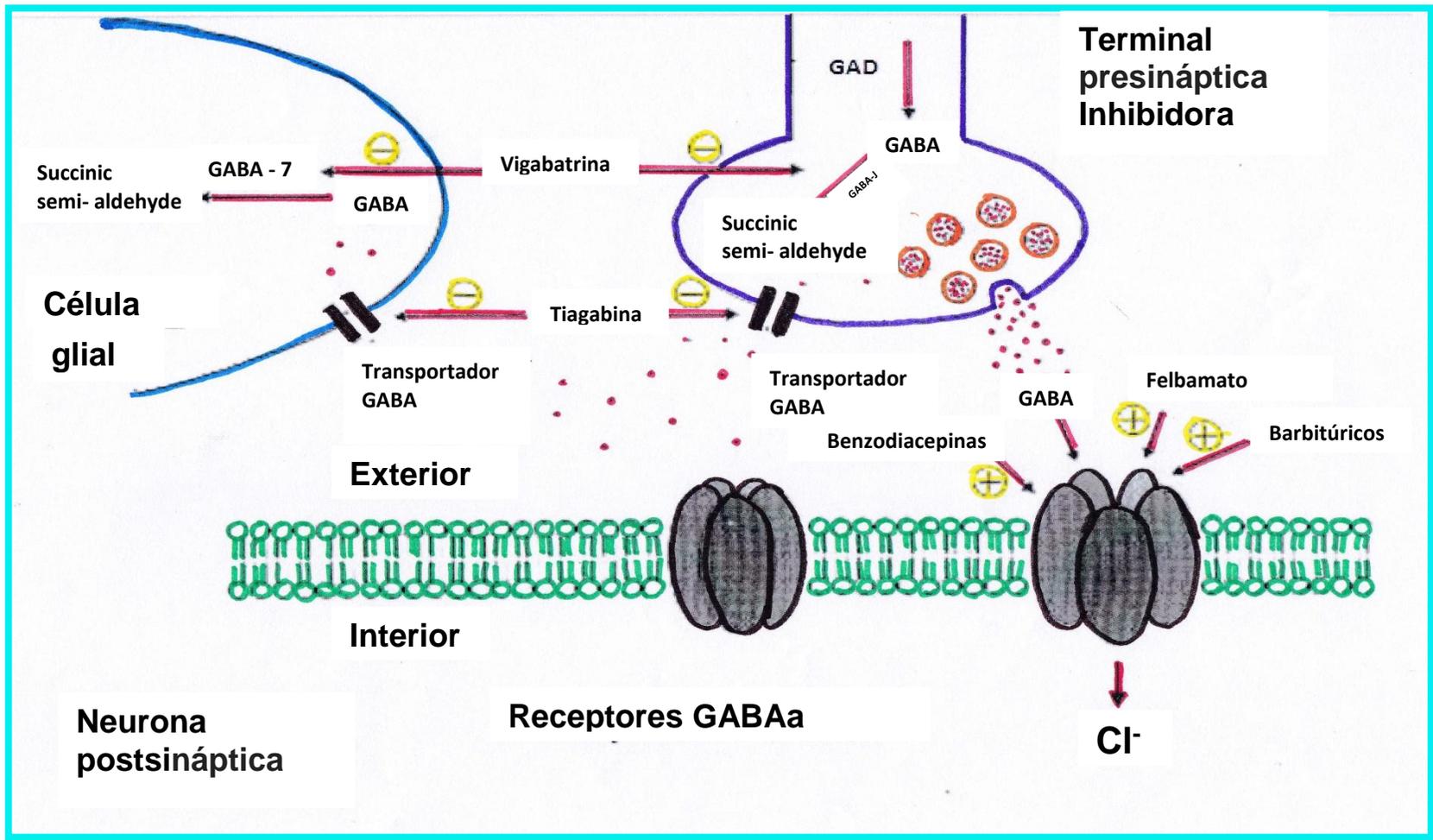


Figura 8. Mecanismo de acción de los barbitúricos⁽³²⁾.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIALES:

3.1.1. Lugar de ejecución.

El presente trabajo de investigación se desarrolló entre los meses de Julio del 2017 a Febrero del 2018, en el laboratorio de productos naturales – Universidad Norbert Wiener.

3.1.2. Material vegetal.

Hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”

3.1.3. Materiales para la elaboración el extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”

Equipos.

- Cámara fotográfica, marca Samsung
- Licuadora Oster
- Estufa, marca Climatex
- Campana extractora marca KT Perú
- Molino mecánico, marca Corona
- Balanza de metal Ohaus
- Balanza analítica Mettler
- 2 cronómetros Casio
- 2 Jaulas de policarbonato

Material Biológico.

- 50 ratones albinos cepa Balb/C53 hembras
- 50 ratones albinos cepa Balb/C53 machos

Material Farmacológico.

- Diazepam Q.P - Laboratorio Merck Peruana S.A.
- Halatal 6,5g/100 mL (Pentobarbital Sódico 6,5%) - Laboratorio Montana S.A.

- Alcohol Medicinal 70% Alkofarma
- Agua destilada.

Materiales de laboratorio.

- 1 Frasco de vidrio
- 1 Bagueta
- 2 Beacker 1000 mL marca Pyrex®
- 2 embudos de vidrio.
- 2 Frascos ámbar de 500 mL.
- Embudos de vidrio tipo Pyrex®
- Fuente de vidrio, Marca Pyrex®
- Soporte universal de acero
- 4 Pinzas para soporte universal
- Papel filtro Whatman N °1
- Tamiz número 20
- Cánula de metal de acero inoxidable

Solvente.

- Etanol 96°Merck
- Metanol Q.P Merck
- Butanol Q.P Merck
- Cloroformo Q.P Merck
- n-Hexano Q.P Merck
- Acetato de etilo Q.P Merck
- Acetona Q.P Merck
- Benceno Q.P Merck
- Éter etílico Q.P Merck
- Éter de petróleo Merck

Reactivos.

- Reactivo Bertrand
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo Popoff

- Reactivo Wagner
- Reactivo Mayer
- Reactivo Sonnenschein

Otros.

- Artículos para transportar la especie vegetal (cuchillo, lampa bellota, costal de yute)
- Bolsa negra marca Virutex
- Cinta de embalaje marca Pegafan
- 10 Gasa 20 x 20 marca Favetex
- Algodón x100 g marca Coppon
- 50 Guantes látex N° 7 marca Quialimaxx
- 50 Mascarillas descartables, marca Medicina Peruana
- 50 Jeringas de 10 mL marca Sandy
- Marcador indeleble marca Faber Castell
- 6 plumones gruesos Faber Castell

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Población de estudio:

La población de estudio está constituida por 100 ratones albinos cepa Balb/C53 (Instituto Nacional de Salud)

1. Sanos
2. Peso: 30g-40g de peso corporal

Criterios de exclusión:

1. Animales de experimentación (ratones) que hayan sido utilizados en otras pruebas.
2. Presentar algún tipo de laceración y/o herida en la piel.

3.2.2. Tipo de investigación.

El presente trabajo de investigación es un estudio experimental, descriptivo y prospectivo.

3.3. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTO

3.3.1. Recolección de la muestra vegetal *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”

Se recolectaron 250 g de las hojas de la especie vegetal *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” se encuentra en el departamento Lima, distrito de Lurín a 1224 m.s.n.m.

3.3.2. Proceso de maceración etanólica de las hojas frescas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”

Se usó 250 g de las hojas frescas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”, se procedió a desmenuzar en trozos pequeños y se agitó la maceración etanólica por 7 días, en este proceso se utilizó un frasco ámbar y se agita la muestra para tener mayor superficie de contacto por lo menos 2 veces al día. Obteniéndose una solución que fue evaporada en la estufa a 40°C hasta obtener el extracto seco.



Figura 9. Especie vegetal *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”.

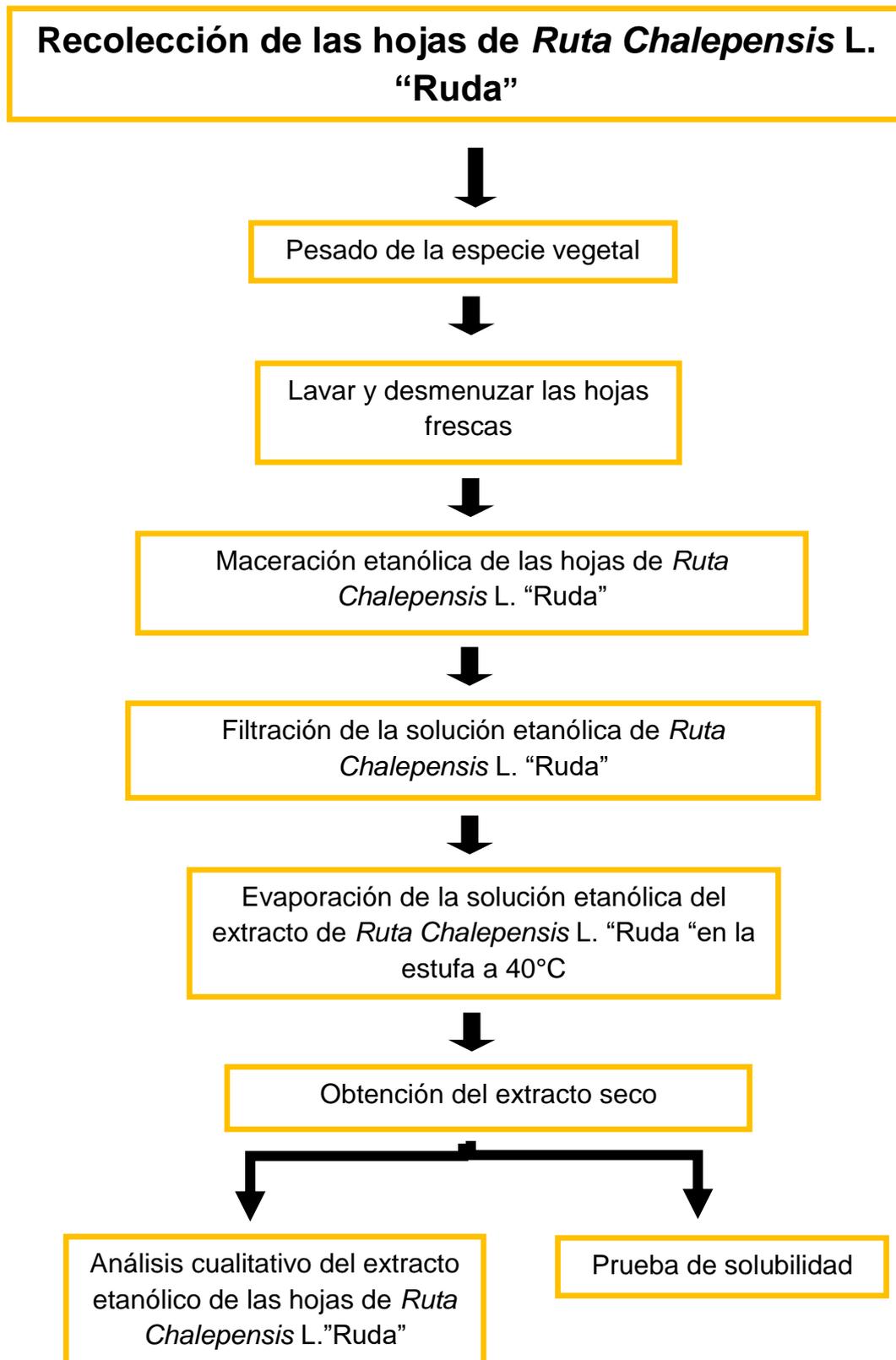


Figura 10. Proceso de maceración etanólica de las hojas frescas de la *Ruta Chalepensis* L. "Ruda".

3.3.3. Perfil cualitativo fitoquímico:

3.3.3.1. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L “Ruda”

Se usó 11 tubos de ensayo y se colocó 20 mg de muestra del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L., se agregó a cada uno de los tubos de ensayo 1mL del solvente de diferente polaridad, se agitó con la ayuda de una bagueta y se observó los resultados.

3.3.3.2. Análisis cualitativo del extracto etanólico de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”:

A. Reacción con Bertrand³³.

Se colocó 20 mg de muestra del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” se adicionó V gotas del Rvo. Bertrand (ácido sílico-túngtico).

B. Reacción con Dragendorff³³.

Se colocó 20 mg de muestra del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” se adicionó V gotas del Rvo. Dragendorff (tetrayodo bismuto de potasio).

C. Reacción con Popoff³³.

Se colocó 20 mg de muestra del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” se adicionó V gotas del Rvo. Popoff (ácido pícrico).

D. Reacción con Wagner³³.

Se colocó 20 mg de muestra del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” se adicionó V gotas del Rvo. Wagner (yodo-yoduro de potasio).

E. Reacción con Mayer³³.

Se colocó 20 mg de muestra del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" se adicionó V gotas del Rvo. Mayer (mercurio tetrayoduro de potasio).

F. Reacción con Sonneschein³³.

Se colocó 20 mg de muestra del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" se adicionó V gotas del Rvo. Sonneschein (ácido fosfomolibdico).

3.3.4. Estudio Farmacológico:

- 1. Actividad sedante:** Método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico⁽¹⁶⁾.
- 2. Actividad ansiolítica:** Método Enterramiento de esferas⁽¹⁶⁾.

3.3.4.1. Actividad sedante del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones:

Fundamento: El efecto sedante es la acción de reducir la inquietud y la tensión emocional provocando el sueño o el reposo. Al reducir la inquietud y la tensión emocional mejoran la tolerancia ambiental, preservando la facultad de despertar espontáneamente, con pérdida parcial o total de la reactividad frente a estímulos⁽³⁰⁾.

Procedimiento experimental.

- Distribución de la muestra:

- ✓ Se utilizó 50 ratones albinos de ambos sexos, de 2 meses de edad aproximadamente; con un peso promedio de 30-40 g, provenientes del Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud-Chorrillos, fueron albergados a una temperatura ambiental con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad en el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener durante el periodo de estudio.

- ✓ Se aclimató por 7 días, estuvieron en ayunas 12 horas antes de inició del experimento dejándolos únicamente con agua, los 50 ratones fueron colocados en jaulas metálicas, y distribuidas aleatoriamente en 5 grupos cada grupo conformado por 5 ratones cada uno, de la siguiente manera:

Tabla 1. Distribución de grupos para el estudio sedante por el método de Sueño inducido por Pentobarbital Sódico

GRUPOS	TRATAMIENTOS
N°1	Grupo control negativo (Agua destilada 0,1 mL por cada 10g de peso corporal + Pentobarbital Sódico por vía I.P)
N°2	Grupo control positivo (Diazepam 10 mg/kg)
N°3	Grupo tratado con el extracto etanólico de la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda"(100 mg/kg por V.O) + Pentobarbital Sódico por vía I.P
N°4	Grupo tratado con el extracto etanólico de la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda" (250 mg/kg por V.O) + Pentobarbital Sódico por vía I.P
N°5	Grupo tratado con el extracto etanólico de la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda" (500 mg/kg por V.O)+ Pentobarbital Sódico por vía I.P

Leyenda: (I.P) intraperitoneal, (V.O) vía oral

- ✓ Se pesó cada ratón individualmente para medir la cantidad exacta de la administración de las muestras y se colocó en jaulas por grupo de 5 cada una.
- ✓ Una hora antes de la prueba se administró los tratamientos por vía oral con ayuda de una sonda orogástrica de acero inoxidable; al primer grupo se le administra Agua destilada, al segundo grupo diazepam y a los 3

grupos tratamiento, la sustancia en estudio a las dosis: 100, 250, 500 mg/kg.

- ✓ Se administró Pentobarbital Sódico según el peso de cada animal de experimentación por vía intraperitoneal.
- ✓ Inmediatamente se registró el tiempo que el animal tardó en perder el equilibrio o período de latencia y el tiempo que tardó en recuperarlo o período de sueño. De tal manera se evaluará la actividad sedante en ratones.

3.3.4.2. Actividad ansiolítica del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda “ por el método Enterramiento de esferas en ratones:

Fundamento: El efecto ansiolítico se da cuando disminuye o desaparece los síntomas de la ansiedad sin producir sedación o sueño. Es la respuesta a un mecanismo defensivo o alerta a situaciones consideradas amenazantes.

La función de la ansiedad es movilizar al organismo y mantenerla alerta y dispuesto para intervenir frente a riesgos y amenazas ⁽³³⁾.

Procedimiento experimental:

Distribución de la muestra biológica:

- ✓ Se utilizó 50 ratones albinos de ambos sexos, de 2 meses de edad aproximadamente; con un peso promedio de 30-40g, provenientes del Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud-Chorrillos, fueron albergados a una temperatura ambiental con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad en el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener durante el periodo de estudio.

- ✓ Se les aclimató por 7 días, se mantuvieron en ayunas 12 horas antes de iniciar el experimento dejándolos únicamente con agua, los 50 ratones fueron colocados en jaulas metálicas, y distribuidas aleatoriamente en 5 grupos cada grupo conformado por 5 ratones cada uno, de la siguiente manera:

Tabla 2. Distribución de grupos para el estudio ansiolítico por el método de Enterramiento de esferas

GRUPOS	TRATAMIENTOS
N°1	Grupo patrón (Agua destilada 0,1 mL por cada 10 g de peso corporal.)
N°2	Grupo control positivo (Diazepam 10 mg/kg)
N°3	Grupo tratado con el extracto etanólico de la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda" (5 mg/kg por vía oral)
N°4	Grupo tratado con el extracto etanólico de la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda" (10 mg/kg por vía oral)
N°5	Grupo tratado con el extracto etanólico de la <i>Ruta Chalepensis</i> L. "Ruda" (15 mg/kg por vía oral)

- ✓ Se pesó cada ratón individualmente para medir la cantidad exacta de la administración de las muestras y se colocó en jaulas por grupo de 5 cada una.
- ✓ Se colocó individualmente en jaulas de policarbonato (43 x 27 x 15 cm), con 5 cm del material de cama (viruta fina de madera estéril) por 30 minutos (período de habituación).



Figura 11. Animales de experimentación, alojados en las jaulas de policarbonato para el estudio ansiolítico.



Figura 12. Animal de experimentación aclimatado por 5 minutos para el estudio ansiolítico.

- ✓ Finalizado el tiempo de habituación se procedió a retirar al ratón y administrar los tratamientos por vía oral con ayuda de una sonda orogástrica de acero inoxidable; al primer grupo se le administra Agua destilada, al segundo grupo; diazepam y a los 3 grupos tratamiento, la sustancia en estudio a las dosis: 5, 10 y 15 mg/kg.



Figura 13. Prueba de Enterramiento de esferas en ratones albinos para la evaluación de la actividad ansiolítica.

- ✓ La prueba da inicio cuando el animal es reintroducido en la misma jaula donde permaneció por 30 minutos más.
- ✓ Finalizada la prueba, se retiró el animal y se contabilizó aquellas canicas/esferas enterradas o cubiertas al menos en sus dos terceras partes con material de cama.
- ✓ Se procedió a la evaluación de la actividad ansiolítica donde a mayor número de esferas enterradas mayor nivel de ansiedad.



Figura 14. Evaluación de la actividad ansiolítica del extracto etanólico de la *Ruta Chalepensis* L. "Ruda".

IV. RESULTADOS

4.1. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”.

Tabla 3. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”.

SOLVENTES	RESULTADOS
Agua destilada	+
Etanol(EtOH)	+
Metanol (MeOH)	+
Acetato de etilo (EtOAc)	-
Acetona (Me ₂ CO)	-
Benceno (BZ)	-
Butanol(BuOH)	-
Cloroformo (CHCl ₃)	-
Éter etílico	-
Éter de petróleo	-
Hexano (Hex)	-

Leyenda: (+) Soluble, (-) insoluble

En la **tabla 3.** Se observa que el extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” es soluble en solventes polares: agua destilada, etanol y metanol e insoluble en solventes apolares.

4.2. Perfil cualitativo de alcaloides del extracto de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”.

Tabla 4. Perfil cualitativo de alcaloides en el extracto etanólico de las hojas de la especie *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”.

REACTIVOS	RESULTADO	METABOLITOS	PRECIPITADO
<i>Bertrand</i>	+	Alcaloides	Amarillo
<i>Dragendorff</i>	+	Alcaloides	Anaranjado
<i>Mayer</i>	+	Alcaloides	Blanco Amarillento
<i>Popoff</i>	+	Alcaloides	Amarillo intenso
<i>Sonneschein</i>	+	Alcaloides	Amarillo verduzco
<i>Wagner</i>	+	Alcaloides	Café o Marrón

Leyenda:(+) Presencia, (-) Ausencia

En la **tabla 4.** Se observa que el extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” presenta alcaloides.

4.3. Actividad sedante del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis*

L. "Ruda" en ratones.

4.3.1. Método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico (Periodo de sueño en horas)

Tabla 5. Valores descriptivos de la actividad sedante por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones

RATON	ID	SEXO	PESO EN GRAMOS	PERIODO DE LATENCIA		PERIODO DE SUEÑO		TRATAMIENTO	OBSERVACION
				MINUTOS	SEGUNDO	HORAS	MINUTO		
1	COLA VERDE	0	33,3	1	2	1	55	1	ataxia:23seg hipnosis:23seg
2	CABEZA VERDE	0	34	0	53	1	36	1	ataxia:54seg hipnosis:28seg
3	COLA AZUL	0	30	0	45	1	56	1	ataxia:1min4seg hipnosis:5seg
4	CABEZA AZUL	0	30	1	23	1	44	1	ataxia:2minseg hipnosis:25seg
5	COLA NEGRA	0	30	0	55	1	36	1	ataxia:25seg hipnosis:6seg
6	PATA VERDE	1	32,5	0	22	2	2	1	ataxia:22seg hipnosis:5seg
7	LOMO VERDE	1	33,5	1	36	1	25	1	ataxia:1min5seg hipnosis:27seg
8	LOMO AZUL	1	35	0	26	1	38	1	ataxia:1min4seg hipnosis:55seg
9	PATA AZUL	1	36	0	33	1	26	1	ataxia:1min8seg hipnosis:35seg
10	COLA VERDE	1	38,2	0	57	1	52	1	ataxia:1min23seg hipnosis:26seg
11	PATA NEGRA	0	34,1	0	25	3	25	2	ataxia:48seg hipnosis:5seg
12	CABEZA VERDE	0	36	0	33	3	10	2	ataxia:1minseg hipnosis:5seg
13	LOMO AZUL	0	38	1	0	2	15	2	ataxia:23seg hipnosis:2seg
14	CABEZA ROJA	0	39	2	0	2	50	2	ataxia:28seg hipnosis:5seg
15	PATA AZUL	0	35,1	0	40	3	10	2	ataxia:25seg hipnosis:5seg
16	COLA VERDE	1	33	0	15	3	5	2	ataxia:12seg hipnosis:2seg
17	COLA AZUL	1	31	0	26	3	16	2	ataxia:5seg hipnosis:5seg
18	COLA ROJA	1	32	0	38	3	23	2	ataxia:26seg hipnosis:25seg
19	PATA ROJA	1	36,5	0	40	3	36	2	ataxia:25seg hipnosis:8seg
20	COLA NEGRA	1	36,7	0	2	3	39	2	ataxia:55seg hipnosis:3seg
21	CABEZA VERDE	0	42	0	55	2	2	3	ataxia:33seg hipnosis:2seg
22	COLA VERDE	0	41,6	1	0	2	3	3	ataxia:43seg hipnosis:3seg
23	COLA NEGRA	0	35,6	0	22	2	0	3	ataxia:1min3seg hipnosis:8seg
24	CABEZA NEGRA	0	40	0	33	2	8	3	ataxia:53seg hipnosis:10seg
25	COLA AZUL	0	40	2	0	2	15	3	ataxia:1min8seg hipnosis:36seg
26	COLA VERDE	1	35	1	2	2	7	3	ataxia:1min3seg hipnosis:8seg
27	CABEZA VERDE	1	34	0	22	2	3	3	ataxia:1min36seg hipnosis:16seg
28	PATA VERDE	1	32,9	0	36	3	9	3	ataxia:1min3seg hipnosis:8seg
29	VERDE+AZUL	1	32	0	44	2	13	3	ataxia:1min18seg hipnosis:2seg
30	PATA VERDE	1	30	0	55	2	11	3	ataxia:1min6seg hipnosis:20seg
31	CABEZA ROJA	0	34,5	0	44	2	36	4	ataxia:1min2seg hipnosis:2seg
32	COLA VERDE	0	41,6	0	22	2	45	4	ataxia:53seg hipnosis:12seg
33	COLA VERDE	0	35,6	0	33	2	28	4	ataxia:44seg hipnosis:2seg
34	CABEZA NEGRA	0	40	0	22	2	55	4	ataxia:1min3seg hipnosis:5seg
35	COLA AZUL	0	40	0	36	2	47	4	ataxia:1min4seg hipnosis:2seg
36	COLA AZUL	1	32,9	1	1	2	44	4	ataxia:1min8seg hipnosis:8seg
37	CABEZA AZUL	1	33,2	0	55	2	55	4	ataxia:1min5seg hipnosis:6seg
38	PATA AZUL	1	38	0	47	2	39	4	ataxia:55seg hipnosis:3seg
39	BRAZO AZUL	1	30	1	4	2	47	4	ataxia:43seg hipnosis:2seg
40	PATA AZUL	1	32	1	6	2	58	4	ataxia:1min3seg hipnosis:12seg
41	COLA NEGRA	0	36,7	0	4	2	53	5	ataxia:40seg hipnosis:20seg
42	COLA ROJA	0	35,5	0	30	2	35	5	ataxia:30seg hipnosis:1min 10seg
43	COLA AZUL	0	38,9	2	0	2	58	5	ataxia:5min hipnosis:15seg
44	CABEZA NEGRA	0	36,5	0	41	2	50	5	ataxia:2min hipnosis:22seg
45	CABEZA VERDE	0	39,2	2	0	2	56	5	ataxia:1min 28 seg hipnosis 30seg
46	COLA NEGRA	1	35,9	0	36	2	46	5	ataxia:1min35seg hipnosis:35seg
47	PATA NEGRA	1	35,5	0	26	2	49	5	ataxia:36seg hipnosis:15seg
48	COLA AZUL	1	37,3	0	36	2	36	5	ataxia:32seg hipnosis:4seg
49	CABEZA NEGRA	1	36,5	1	0	2	56	5	ataxia:1min20seg hipnosis:50seg
50	CABEZA VERDE	1	38,2	0	5	2	47	5	ataxia:1min10seg hipnosis:30seg

Tabla 6. Estadísticas descriptivas de la actividad sedante por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones

Sexo	Tratamiento	N°	Media	Desviación estándar (s)	Mínimo	Máximo
HEMBRA	Grupo Control	5	1,76	0,16	1,60	1,93
	Diazepam 10 mg/kg	5	2,97	0,45	2,25	3,42
	Ex. EtOH Ruda 100 mg/kg	5	2,09	0,10	2,00	2,25
	Ex. EtOH Ruda 250 mg/kg	5	2,70	0,17	2,47	2,92
	Ex. EtOH Ruda 500 mg/kg	5	2,84	0,15	2,58	2,97
	Total	25	2,47	0,53	1,60	3,42
MACHO	Grupo Control	5	1,68	0,27	1,42	2,03
	Diazepam 10 mg/kg	5	3,40	0,23	3,08	3,65
	Ex. EtOH Ruda 100 mg/kg	5	2,34	0,46	2,05	3,15
	Ex. EtOH Ruda 250 mg/kg	5	2,81	0,13	2,65	2,97
	Ex. EtOH Ruda 500 mg/kg	5	2,78	0,12	2,60	2,93
	Total	25	2,60	0,63	1,42	3,65

En la **tabla 6** se observa, el promedio de las horas de Sueño con Pentobarbital Sódico de los tres extractos etanólicos de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" observándose un mayor periodo de sueño en los ratones hembras del grupo tratado con Ex. EtOH Ruda 500 mg/kg (Media = 2 horas 84 minutos) y en el caso de los ratones machos fueron el grupo tratado con Ex. EtOH Ruda 250 mg/kg (Media = 2 horas 81 minutos). En cuanto a la desviación estándar el grupo control de ratones hembra presenta una desviación estándar bastante pequeña (s= 0,16) en comparación con el grupo tratado con diazepam (s= 0,45). En el caso de los ratones

machos la diferencia no es tanta siendo el grupo más heterogéneo el tratado con Ex. EtOH Ruda 100 mg/kg ($s= 0,46$). Estos resultados se visualizan en las Figuras 15 y 16.

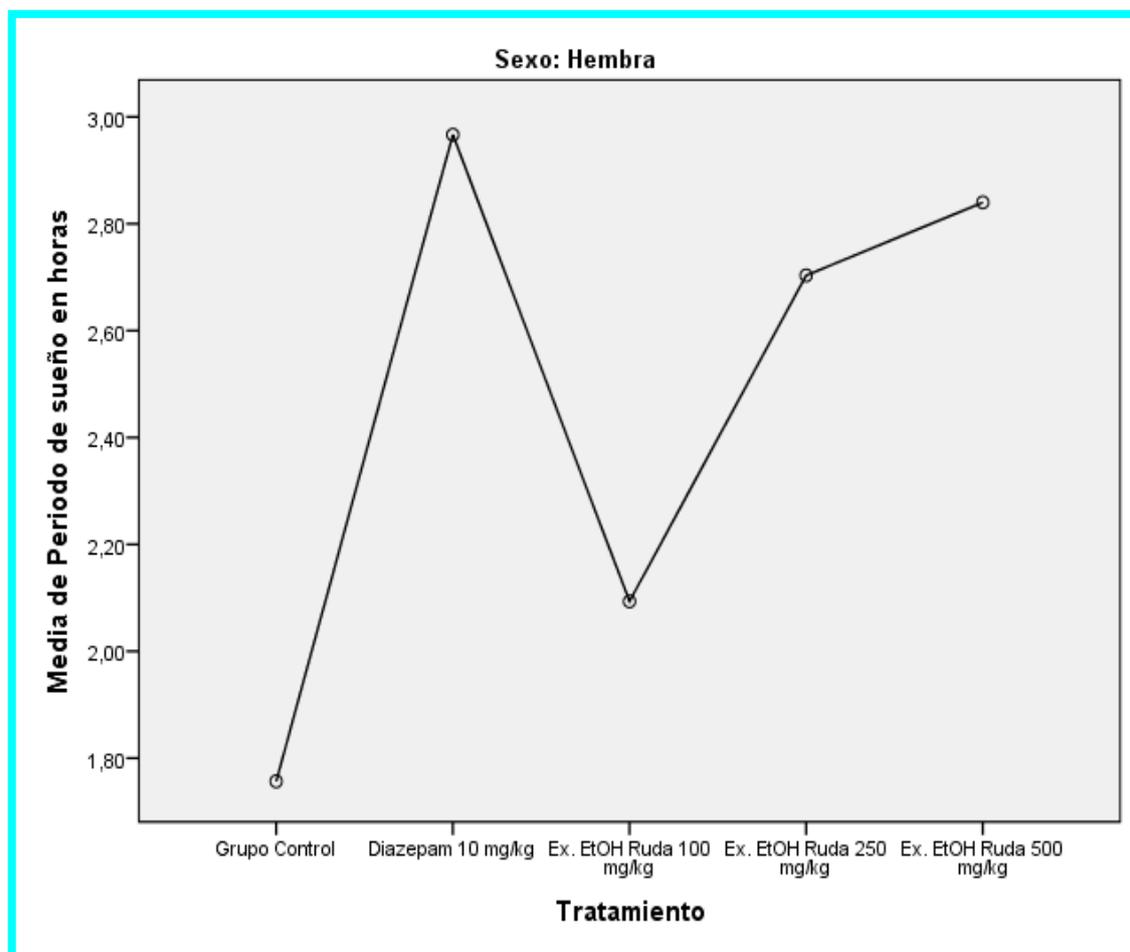


Figura 15. Promedio de horas de sueño en ratones hembras por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico

En la **figura 15** se observa el promedio de horas de sueño en ratones hembras tratados con las concentraciones de 100, 250 y 500 mg/kg observándose que la concentración de 500 mg/kg tuvo mayor actividad sedante.

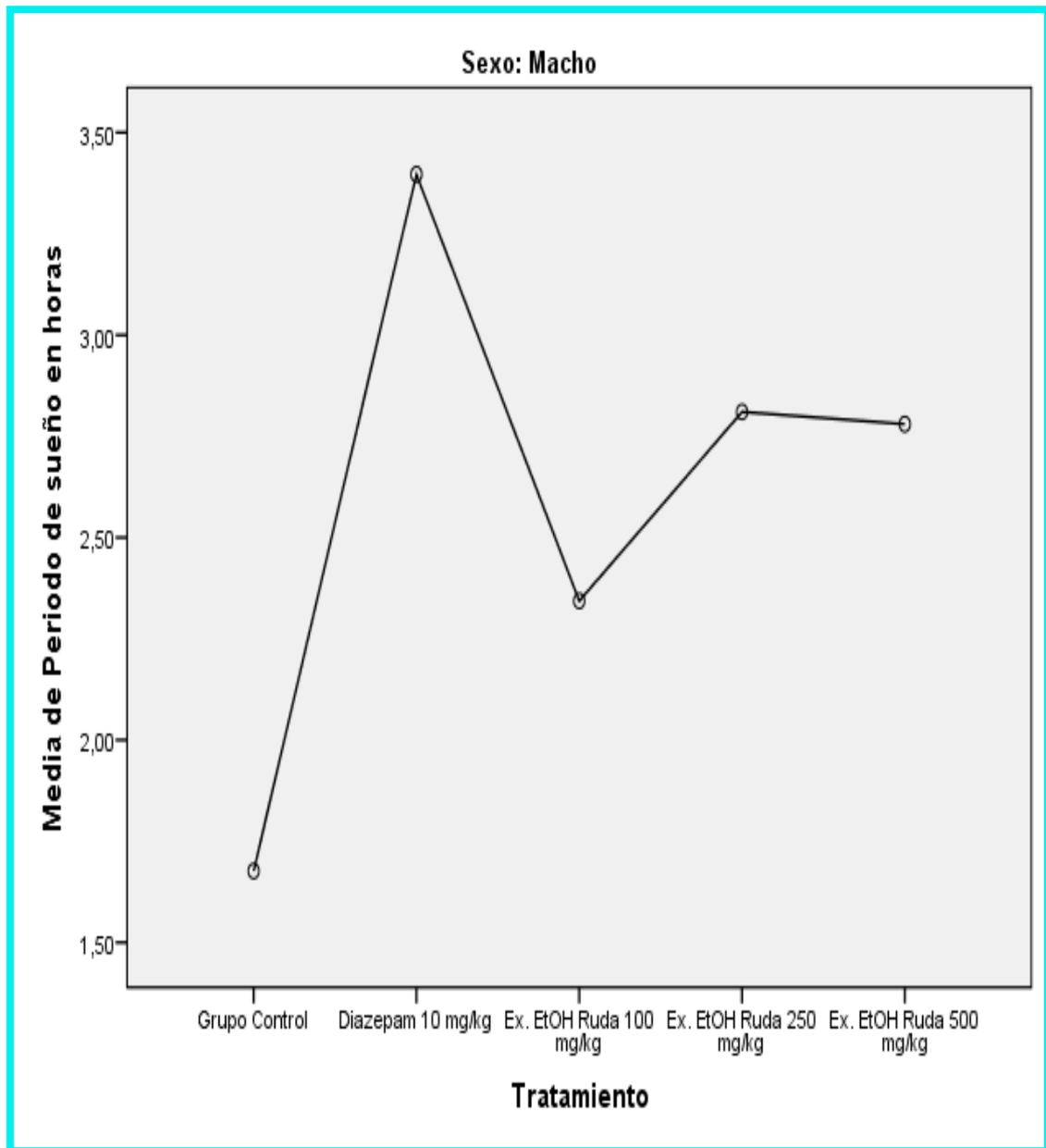


Figura 16. Promedio de horas de sueño en ratones machos por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico

En la **figura 16** se observa el promedio de horas de sueño en ratones machos tratados con las concentraciones de 100, 250 y 500 mg/kg observándose que la concentración de 250 mg/kg tuvo mayor actividad sedante.

Tabla 7. Prueba de homogeneidad de varianzas de la actividad sedante por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones

Sexo	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Hembra	3,310	4	20	.031
Macho	2,080	4	20	.121

En la **tabla 7** se observa que no se puede probar la homogeneidad de las varianzas del número promedio de horas de sueño en el caso de las ratones hembras (p valor = 0,031) no se puede continuar con la prueba ANOVA, motivo por el cual en este caso realizamos la prueba de Kruskal Wallis que no supone varianzas iguales.

Tabla 8. Prueba de Kruskal-Wallis de la actividad sedante en ratones por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico

SEXO		PERIODO DE SUEÑO EN HORAS
Hembra	Chi-cuadrado	19,324
	gl	4
	Sig. asintótica	.001
Macho	Chi-cuadrado	19,250
	gl	4
	Sig. asintótica	.001

En la **tabla 8** se observa que la prueba de Kruskal Wallis resulta ser significativa para ambos sexos (p valor = 0,001) se concluye que al menos existe un grupo en el cual hay un efecto sedante significativo. Para determinar que tratamientos son significativos procedemos a las comparaciones múltiples mediante Games-Howell prueba que no necesita que las varianzas sean iguales u homogéneas.

En el caso de los ratones machos la prueba ANOVA también resultó ser significativa confirmando los resultados de la prueba de Kruskal Wallis.

Tabla 9. Comparaciones múltiples Games-Howell por el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones

Sexo	I	J	Diferencia de medias (I-J)	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
HEMBRA	Grupo Control	Ex. EtOH Ruda 100 mg/kg	-.336*	.035	-.648	-.026
		Ex. EtOH Ruda 250 mg/kg	-.946*	.000	-1.315	-.578
		Ex. EtOH Ruda 500 mg/kg	-1,08*	.000	-1,428	-.738
	Diazepam 10 mg/kg	Ex. EtOH Ruda 100 mg/kg	.873	.051	-.004	1,750
		Ex. EtOH Ruda 250 mg/kg	.263	.744	-.593	1,120
		Ex. EtOH Ruda 500 mg/kg	.127	.970	-.735	.988
MACHO	Grupo Control	Ex. EtOH Ruda 100 mg/kg	-.667	.137	-1,532	.199
		Ex. EtOH Ruda 250 mg/kg	-1,133*	.001	-1,643	-.623
		Ex. EtOH Ruda 500 mg/kg	-1,103*	.001	-1,614	-.593
	Diazepam 10 mg/kg	Ex. EtOH Ruda 100 mg/kg	1,053*	.021	.193	1,914
		Ex. EtOH Ruda 250 mg/kg	.586*	.014	.142	1,031
		Ex. EtOH Ruda 500 mg/kg	.616*	.011	.173	1,060

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

La **tabla 9** se observa la salida de las comparaciones múltiples proporcionada por el SPSS mediante el método de Games-Howell el cual compara los promedios de horas de sueño en ratones de los grupos Control y Diazepam Versus los extractos de extractos EtOH Ruda a 100, 250 y 500 mg/kg para ambos sexos.

Comparación de ratones hembras y machos mediante el método de Games-Howell:

En el caso de los ratones hembras: Al comparar el Grupo control versus nuestros tres extractos la prueba resulta ser significativa (p valor menor a 0,05) lo cual indica que hay un efecto sedante en nuestros tres extractos. Por otro lado, la comparación de los extractos vs el Diazepam permite concluir que principalmente los Extractos EtOH Ruda a 250 y 500 mg/kg tiene un efecto sedante similar al diazepam (p valor mayor a 0,05) debido a que el p valor de extracto EtOH Ruda a 100 mg/kg presenta un valor muy cercano al umbral de decisión (p valor = 0,051) no se considera que tenga un efecto sedante comparable al diazepam siendo el efecto de este extracto inferior.

En el caso de los ratones machos: Al comparar el Grupo control versus nuestros tres extractos la prueba resulta ser significativa solo en el caso de los extractos EtOH Ruda a 250 y 500 mg/kg (p valor menor a 0,05) lo cual indica que hay un efecto sedante en dichos extractos. Por otro lado, la comparación de los extractos vs el Diazepam permite concluir que ambos Extractos EtOH Ruda a 250 y 500 mg/kg tienen un efecto sedante inferior al diazepam debido a que su p valor menor a 0,05 y además las diferencias observadas son negativas. El extracto EtOH Ruda a 100 mg/kg no presenta efecto sedante significativo.

4.4. Actividad ansiolítica del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” en ratones.

4.4.1. Método Enterramiento de esferas

Tabla 10. Valores descriptivos de la actividad ansiolítica por el método Enterramiento de esferas en ratones

RATON	ID	SEXO	PESO EN GRAMOS	MINUTOS	SEGUNDOS	N'ESFERAS ENTERRADAS	TRATAMIENTO	OBS
1	CABEZA NEGRA	0	30,2	16	0	20	1	Enterró todas las esferas.
2	LOMO ROJO	0	33	17	10	20	1	Enterró todas las esferas.
3	CABEZA AZUL	0	32,9	27	30	20	1	Enterró todas las esferas.
4	CABEZA ROSADA	0	33,4	19	20	20	1	Enterró todas las esferas.
5	LOMO ROSADO	0	33,6	27	12	14	1	Enterró 14 esferas.
6	OREJA ROSADA	1	34,6	27	0	20	1	Enterró todas las esferas.
7	PATA NEGRA	1	32,4	18	0	20	1	Enterró todas las esferas.
8	COLA AZUL	1	30	27	30	20	1	Enterró todas las esferas.
9	RAYA VERDE	1	32	11	0	19	1	Enterró 19 esferas.
10	COLA ROSADA	1	30,8	29	0	19	2	Enterró 19 esferas.
11	COLA NEGRA	0	36,5	1	0	2	2	Enterró 2 esferas.
12	COLA AZUL	0	33,3	18	25	20	2	Enterró todas las esferas.
13	COLA VERDE	0	35,1	29	0	5	2	Enterró 6 esferas.
14	COLA ROSADA	0	35	12	0	20	2	Enterró todas las esferas.
15	LOMO ROJO	0	35,2	11	0	1	2	Enterró 1 esfera.
16	LOMO VERDE	1	35	20	0	17	2	Enterró 17 esferas.
17	LOMO ROSADO	1	33,2	7	0	6	2	Enterró 6 esferas. A los 20 minutos el ratón se durmió
18	LOMO NEGRO	1	31	30	0	13	2	Enterró 13 esferas.
19	LOMO AZUL	1	31	25	0	14	2	Enterró 14 esferas.
20	CABEZA ROSADA	1	34,5	16	0	13	3	Enterró 13 esferas.
21	COLA NEGRA	0	36,6	29	0	16	3	Enterró 16 esferas.
22	CABEZA NEGRA	0	36,5	10	0	1	3	Enterró 1 esfera.
23	LOMO AZUL	0	36,1	30	0	19	3	Enterró 19 esferas.
24	CABEZA ROJA	0	30	1	0	1	3	Enterró 1 esfera.
25	COLA AZUL	0	34	12	0	15	3	Enterró 15 esferas. A los 27 minutos el ratón se durmió
26	LOMO ROJO	1	31,5	25	0	8	3	Enterró 8 esferas.
27	LOMO AZUL	1	33,5	25	0	1	3	Enterró 1 esfera y se durmió.
28	COLA ROJA	1	33	22	0	7	3	Enterró 7 esferas.
29	COLA AZUL	1	32,2	15	0	6	3	Enterró 6 esferas.
30	CABEZA ROJA	1	31,5	15	0	10	4	Enterró 16 esferas. A los 24.20 segundos se durmió.
31	COLA ROJA	0	33,5	19	0	14	4	Enterró 14 esferas. A los 27 minutos se durmió.
32	LOMO AZUL	0	29,5	9	0	1	4	Enterró 1 esfera. A los 19 minutos se durmió.
33	CABEZA NEGRA	0	35	29	0	1	4	Enterró 1 esferas.
34	COLA AZUL	0	33	29	0	8	4	Enterró 8 esferas.
35	COLA NEGRA	0	33	2	0	2	4	Enterró 2 esferas.
36	LOMO ROJO	1	34	30	0	14	4	Enterró 14 esferas.
37	CABEZA AMARILLA	1	35	30	0	20	4	Enterró todas las esferas se mostró muy inquieto.
38	COLA AZUL	1	33,5	24	0	10	4	Enterró 10 esferas.
39	CABEZA NEGRA	1	30	10	0	3	4	Enterró 3 esferas y a los 16 minutos se durmió.
40	LOMO AZUL	1	33	29	0	18	5	Enterró 18 esferas. A los 20 minutos se durmió.
41	LOMO VERDE	0	35,5	26	0	9	5	Enterró 9 esferas.
42	CABEZA ROSADA	0	33	23	0	4	5	Enterró 4 esferas.
43	LOMO AZUL	0	37	30	0	18	5	Enterró 18 esferas.
44	COLA NEGRA	0	35	13	0	20	5	Enterró todas las esfera el ratón se mostró muy inquieto.
45	COLA VERDE	0	36	28	0	1	5	Enterró 1 esfera.
46	COLA VERDE	1	38,5	0	0	0	5	No enterró ninguna.
47	LOMO ROSADO	1	30	30	0	17	5	Enterró 17 esferas. Se mostró muy inquieta
48	COLA AZUL	1	35,2	0	0	0	5	No enterró ninguna. A los 15 minutos se durmió.
49	COLA NEGRA	1	35	26	0	3	5	Enterró 3 esferas.
50	CABEZA AZUL	1	36	0	0	0	5	No enterró ninguna.

Tabla 11. Estadísticas descriptivas de la actividad ansiolítica por el método Enterramiento de esferas en ratones

Sexo	Tratamiento	N°	Media	Desviación estándar (s)	Mínimo	Máximo
Hembra	Grupo Control	5	18,80	2,68	14	20
	Diazepam 10 mg/kg	5	9,60	9,61	1	20
	Ex. EtOH Ruda 5 mg/kg	5	10,40	8,71	1	19
	Ex. EtOH Ruda 10 mg/kg	5	13,00	6,78	3	20
	Ex. EtOH Ruda 15 mg/kg	5	10,40	8,38	1	20
	Total	25	12,44	7,78	1	20
Macho	Grupo Control	5	19,60	0,55	19	20
	Diazepam 10 mg/kg	5	12,60	4,04	6	17
	Ex. EtOH Ruda 5 mg/kg	5	6,40	3,36	1	10
	Ex. EtOH Ruda 10 mg/kg	5	5,20	5,72	1	14
	Ex. EtOH Ruda 15 mg/kg	5	4,00	7,38	0	17
	Total	25	9,56	7,39	0	20

La tabla 9 se observa que el número de esferas enterradas promedio para cada uno de los tratamientos según sexo. En primer lugar, observamos que los promedios para ambos sexos en nuestros extractos a 5, 10 y 15 mg/kg presentan valores menores comparados al grupo control (Agua destilada) y adicionalmente en el caso de los ratones machos estos valores también son menores al diazepam. Lo cual sugiere actividad ansiolítica.

En cuanto a la desviación estándar (s) las cuales nos hablan de la homogeneidad de los resultados en comparación con el promedio de grupo, al observar los valores el grupo que tuvo respuestas más homogéneas fue el grupo control tanto para machos como hembras ($s = 2,68$; $s = 0,55$) mientras que el grupo más heterogéneo fue el grupo tratado a base de Diazepam para el caso de las hembras ($s= 9,61$) y Extracto etanólico al 15 mg/kg para el caso de los machos ($s= 7,38$), la diferencia nos hace sospechar de que existe variabilidad entre los grupos.

Además de esto la tabla presenta los valores extremos observados en el experimento. Los resultados se ilustran en las **figuras 17 y 18**:

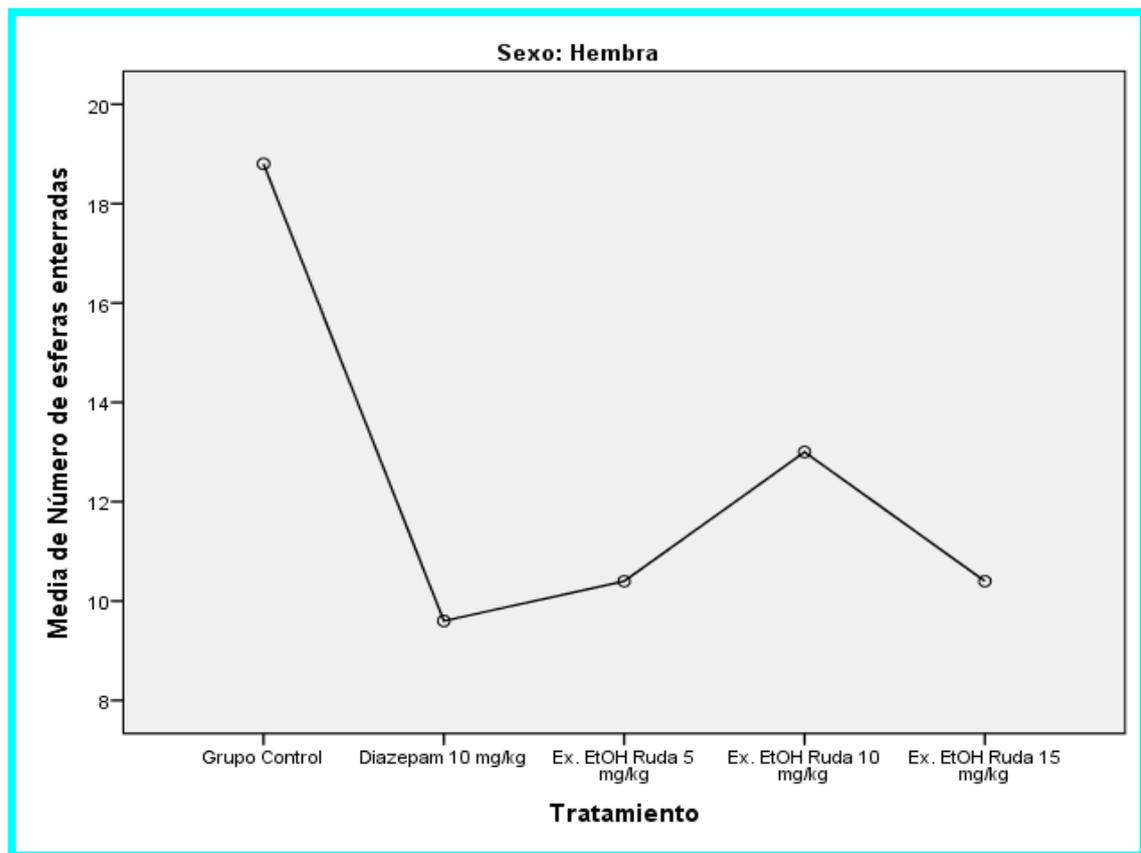


Figura 17. Número promedio de esferas enterradas por ratones hembras en el método Enterramiento de esferas.

En la **figura 17** se observa el promedio de esferas enterradas en ratones hembras tratados con las concentraciones de 5, 10 y 15 mg/kg observándose que la concentración de 5 y 15 mg/kg tuvo mayor actividad ansiolítica.

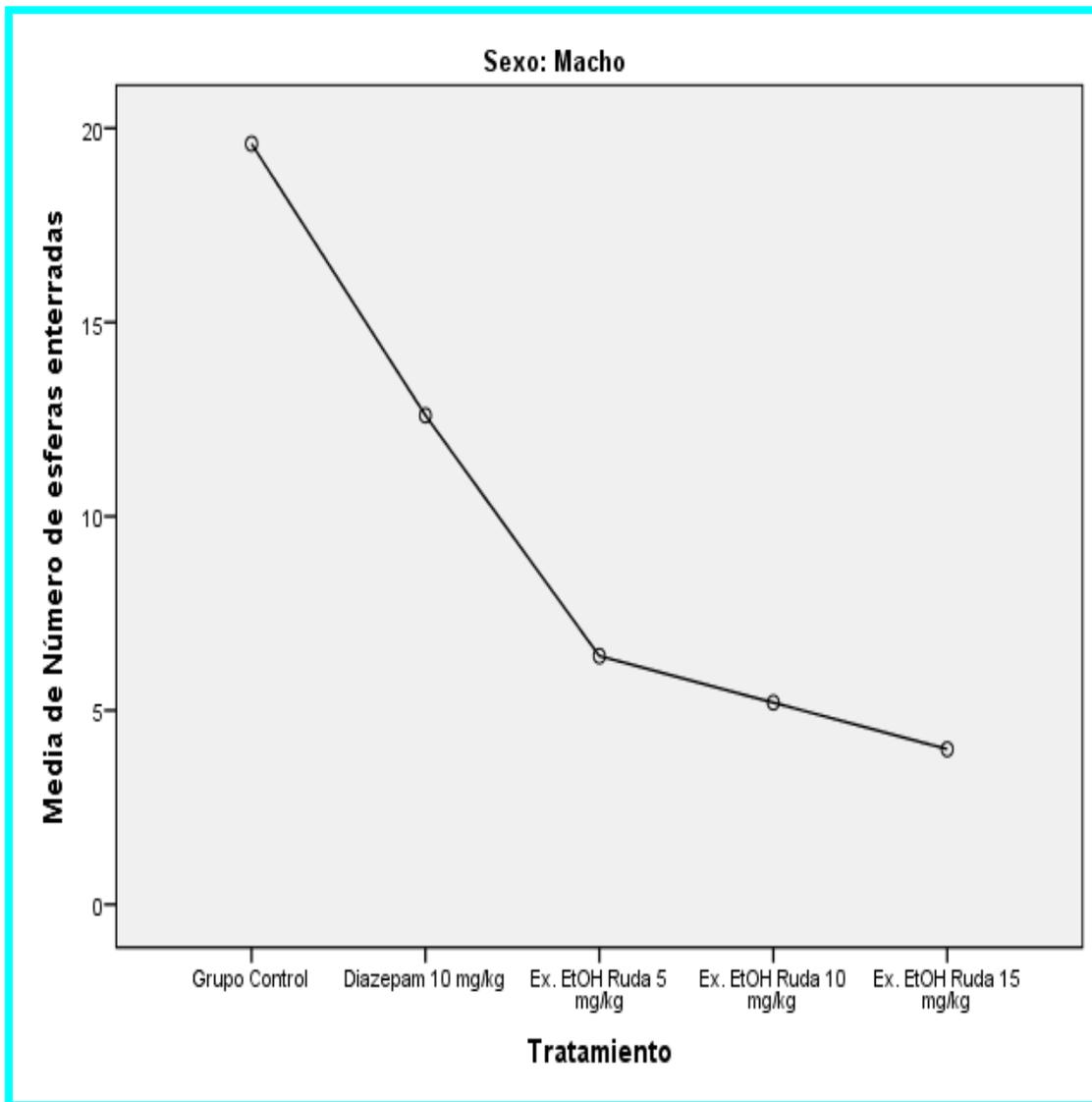


Figura 18. Número promedio de esferas enterradas por ratones machos en el método Enterramiento de esferas.

En la **figura 18** se observa el promedio de esferas enterradas en ratones machos tratados con las concentraciones de 5, 10 y 15 mg/kg observándose que la concentración de 15 mg/kg tuvo mayor actividad ansiolítica.

Tabla 12. Prueba de homogeneidad de varianzas del análisis ansiolítico en ratones por el método Enterramiento de esferas.

Sexo	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Hembra	4,372	4	20	.011
Macho	2,337	4	20	.090

La **tabla 12** nos muestra la salida proporcionada por el SPSS para probar la hipótesis de Homogeneidad de las varianzas de los grupos (una prueba por cada sexo) dado que en el caso de los ratones machos el p valor es mayor a 0,05 (0,90), se acepta la hipótesis de Homogeneidad de las varianzas lo cual permite realizar una prueba ANOVA. En el caso de los ratones hembras no se puede probar la homogeneidad de las varianzas por lo cual realizaremos en este caso la prueba de Kruskal Wallis la cual no supone varianzas iguales.

Tabla 13. Prueba ANOVA de la actividad ansiolítica en ratones por el método Enterramiento de esferas.

Sexo		Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	p valor
HEMBRA	Entre grupos	285,760	4	71,440	1,225	.332
	Dentro de grupos	1166,400	20	58,320		
	Total	1452,160	24			
MACHO	Entre grupos	849,760	4	212,440	9,228	.000
	Dentro de grupos	460,400	20	23,020		
	Total	1310,160	24			

En la **tabla 13** presenta las pruebas ANOVA, la cual compara los promedios de esferas enterradas por ratones considerando homogeneidad de las varianzas, dado que en el caso de los ratones macho el p valor es menor al 5% (p valor = 0,000), decimos que la prueba es significativa es decir existen diferencias en los promedios de esferas enterradas por ratones macho de los diversos tratamientos, por lo que procedemos a las comparaciones múltiples DMS.

Tabla 14. Prueba de Kruskal Wallis de la actividad ansiolítica por el método Enterramiento de esferas en ratones

Sexo		Número de esferas enterradas
Hembra	Chi-cuadrado	5,540
	GI	4
	p valor	.236
Macho	Chi-cuadrado	15,398
	GI	4
	p valor	.004

En la **tabla 14** se observa la prueba Kruskal Wallis de los ratones hembras el p valor resulta ser mayor a 0,05 (p valor = 0,236) lo cual indica que no existen diferencias en los promedios de esferas enterradas por ratones hembras de los diversos tratamientos, en el caso de los ratones macho se confirma el resultado de la prueba ANOVA (p valor = 0,004)

Tabla 15. Comparaciones múltiples DMS de la actividad ansiolítica por el método Enterramiento de esferas en ratones machos.

I		I	Diferencia de medias (I-J)	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
MACHOS	Grupo Control	Ex. EtOH Ruda 5 mg/kg	13,20*	.000	6,87	19,53
		Ex. EtOH Ruda 10 mg/kg	14,40*	.000	8,07	20,73
		Ex. EtOH Ruda 15 mg/kg	15,60*	.000	9,27	21,93
	Diazepam 10 mg/kg	Ex. EtOH Ruda 5 mg/kg	6,20	.054	-.13	12,53
		Ex. EtOH Ruda 10 mg/kg	7,40*	.024	1,07	13,73
		Ex. EtOH Ruda 15 mg/kg	8,60*	.010	2,27	14,93

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

La **tabla 15** muestra la salida de las comparaciones múltiples proporcionada por el SPSS mediante la técnica de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) la cual compara los promedios de esferas enterradas por ratones machos en los grupos Control y Diazepam Versus los extractos de extractos EtOH Ruda a 5, 10 y 15 mg/kg.

Al comparar el Grupo control versus nuestros tres extractos la prueba resulta ser significativa (p valor menor a 0,05) lo cual indica que hay un efecto ansiolítico en nuestros tres extractos. Por otro lado, la comparación de los extractos vs el Diazepam permite concluir que el Ex. EtOH Ruda 5 mg/kg tiene un efecto ansiolítico similar al diazepam y los extractos Ex. EtOH Ruda a 10 y 15 mg/kg presentan diferencias significativas al Diazepam, es decir tienen un efecto superior al diazepam 10 mg/kg.

Tabla 16. Efecto Inhibidor de la ansiedad en ratones en el método Enterramiento de esferas

	TRATAMIENTO	MEDIA	EFEECTO INHIBIDOR DE LA ANSIEDAD
HEMBRA	Grupo Control	18,80	0%
	Diazepam 10 mg/kg	9,60	47%
	Ex. EtOH Ruda 5 mg/kg	10,40	43%
	Ex. EtOH Ruda 10 mg/kg	13,00	30%
	Ex. EtOH Ruda 15 mg/kg	10,40	43%
MACHO	Grupo Control	19,60	0%
	Diazepam 10 mg/kg	12,60	36%
	Ex. EtOH Ruda 5 mg/kg	6,40	67%
	Ex. EtOH Ruda 10 mg/kg	5,20	73%
	Ex. EtOH Ruda 15 mg/kg	4,00	80%

En la **tabla 16** se observa el efecto inhibidor de la ansiedad, el cual los ratones hembras, están solo de referencia ya que no se demuestra un efecto significativo. En el caso de los ratones machos el Ex.EtOH Ruda 15 mg/kg presenta el mayor efecto (80%) seguido del Ex. EtOH Ruda 10 mg/kg (73%) y finalmente Ex. EtOH Ruda 5 mg/kg (67%). Estos valores se visualizan a continuación en la **figura 19**.

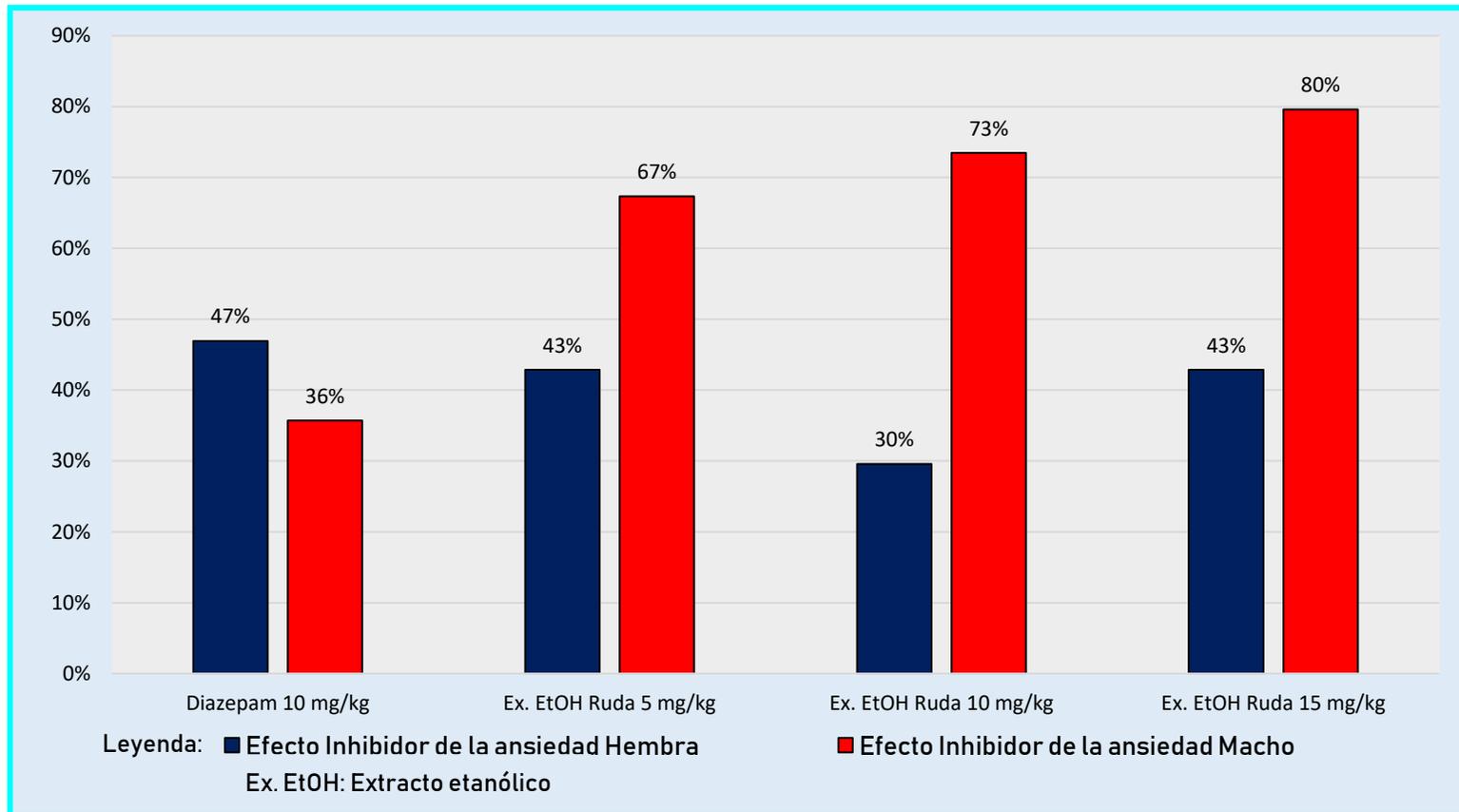


Figura 19. Efecto Inhibidor de la ansiedad en ratones en el método Enterramiento de esferas.

En la **figura 19** se observa el efecto Inhibidor de la ansiedad en ratones hembras y machos tratados con las concentraciones de 5, 10 y 15 mg/kg observándose que la concentración de 15 mg/kg tuvo mayor efecto Inhibidor ansiolítico en ratones machos.

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación de tipo experimental, se busca comprobar la actividad sedante y ansiolítica del extracto etanólico de las hojas *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”, para ello se realizó dos métodos de estudio (Sueño inducido por Pentobarbital Sódico y Enterramiento de esferas) a distintas concentraciones con 5 grupos experimentales, donde se pudo determinar que el extracto etanólico de las hojas *Ruta Chalepensis* L. “Ruda” si presenta actividad sedante y ansiolítica. Basándose en los métodos de estudio de Bonilla (2014)⁽¹⁶⁾, esta investigación coincide con su estudio realizado en el Salvador donde realizaron pruebas farmacológicas (Sueño inducido por Pentobarbital Sódico, Enterramiento de esferas, Suelo agujereado y Laberinto en cruz elevado), donde se pudo determinar mediante los métodos de estudio que la especie vegetal *Erythrina berteroana* (Pito), no posee propiedades sedantes pero si, propiedades ansiolíticas.

En la prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”; que se muestra en la tabla 3, se observa que es soluble en solventes polares (agua, metanol y etanol) lo que indicaría presencia de alcaloides polares por lo que se puede concluir que los componentes químicos son de estructura y naturaleza polar, donde este resultado concuerda con los datos obtenidos en la investigación “Efecto de diferentes aceites esenciales sobre el crecimiento in vitro de *Fusarium* sp.”, donde determinaron que las hojas de *Ruta Chalepensis* L. son solubles en solventes polares: agua y etanol⁽³⁴⁾.

Los resultados de las pruebas cualitativas, confirman que las hojas de la *Ruta Chalepensis* L., contienen alcaloides en su composición química, lo que concuerda con los datos obtenidos en la investigación “Fagodisuasión de un extracto de ruda (*Ruta chalepensis* L., Rutaceae) y sus particiones sobre larvas de *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae)”, donde determinaron que el follaje de ruda contiene alcaloides de acridona y quinolina en su composición química⁽³⁵⁾.

En la presente investigación se evaluó el efecto del extracto etanólico de *Ruta Chalepensis* L., a dosis de 5 mg/kg, 10 mg/kg y 15 mg/kg, con el método de Enterramiento de esferas, que es un modelo no condicionado que analiza la parte conductual en ratones y prueba posibles compuestos ansiolíticos. Esta

investigación coincide con su estudio Marble burying and spontaneous motor activity in mice: Interactions over days and the effect of diazepam, donde indica que la presente prueba de Enterramiento de esferas es un modelo no condicionado, adecuado para probar posibles compuestos ansiolíticos⁽³⁶⁾.

En la tabla 11 y figura 18 nos muestran el promedio de número de esferas enterradas donde observamos que los promedios por ratones machos en nuestros extractos 5, 10 y 15 mg/kg se reduce conforme aumenta la dosis de la sustancia de ensayo presentando así diferencias significativas. Esta investigación coincide con el estudio realizado en El Salvador; donde se evaluaron 3 dosis del extracto acuoso de las flores de *Erythrina Berteroana* (Pito), las cuales a pesar de la existencia de una diferencia estadísticamente significativa respecto a sus controles positivos, los valores promedios de la cantidad de esferas enterradas se reduce conforme aumenta la dosis de la sustancia de ensayo. En la investigación Determinación de la toxicidad, Actividad Sedante y Ansiolítica del extracto acuoso de las flores de *Erythrina Berteroana* (Pito) en ratones NIH por Bonilla J⁽¹⁶⁾.

Se observó en la Tabla 15 que el grupo diazepam disminuye de manera significativa el Enterramiento de esferas ($p < 0,05$) en el ratón con respecto al grupo blanco en machos, verificando el efecto ansiolítico ya conocido de este fármaco lo cual concuerda con lo encontrado por Ene H y Barak N, en la investigación sobre el efecto de la asenapina, en una batería de pruebas para las conductas de tipo ansiedad, esta prueba mostró como un experimentó de complemento que el diazepam reduce la ansiedad, probado con la prueba de Enterramiento de esferas⁽³⁷⁾.

El Sueño inducido por Pentobarbital Sódico es una de las pruebas de sedación que permite medir la influencia de los medicamentos o plantas medicinales sobre la duración del sueño inducida por un hipnótico. Donde en la tabla 6 nos muestra el promedio de horas de sueño de los tres extractos, lo cual el que reporto mayor periodo de sueño fueron en el caso de los ratones hembras el grupo tratado con Ex EtOH Ruda 250 mg/kg (Media = 2 horas 84 minutos) y en el caso de los ratones macho el grupo tratado con Ex. EtOH Ruda 250 mg/kg (Media = 2 horas 81 minutos). Esta investigación coincide con el estudio, Efectos farmacológicos sobre el sistema nervioso central inducidos por cumarina, aislada de *Hygrophila tyttha*

leonard, donde comprueban que las sustancias hipnóticas tienden a acortar el período de latencia y/o prolongar el período de sueño⁽³⁸⁾.

Los resultados obtenidos en el método de Sueño inducido por Pentobarbital Sódico, demuestran que la sustancia de ensayo a las dosis administradas, si poseen propiedades sedantes como se observa en la tabla 6 donde nos muestra el mayor promedio de duración de sueño con un valor de 2 horas 84 minutos y en la tabla 7 se observa que la prueba de Kruskal Wallis resulta ser significativa para ambos sexos (p valor = 0,001) lo que concluye que al menos existe un grupo en el cual hay un efecto sedante significativo. Esta investigación coincide con el estudio realizado en la planta *Woodfordia fruticosa* que muestra el mayor promedio de duración del sueño con un valor de 2 horas 89 minutos que resulta estadísticamente muy significativo ($p < 0,001$) lo que indica una actividad sedante. En la investigación Análisis de los efectos de plantas medicinales de Bangladesh en la duración del Sueño inducido por Pentobarbital Sódico en ratones por Chakma T⁽³⁹⁾.

VI. CONCLUSIONES

Se realizó la prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" comprobando que es soluble en solventes polares: Agua, metanol y etanol.

En el análisis cualitativo del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" se identificó la presencia de alcaloides.

Se determinó mediante el método Sueño inducido por Pentobarbital Sódico, comprobando la actividad sedante del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" en los ratones hembras con una concentración de 500 mg/kg y en los ratones machos con una concentración 250 mg/kg con un (p valor = 0,000) comparable con diazepam de 10 mg/kg.

Se determinó mediante el método Enterramiento de esferas, comprobando la actividad ansiolítica en los ratones machos del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" con sus concentraciones de 10 y 15 mg/kg, siendo superior al diazepam de 10 mg/kg con una porcentaje de efecto inhibidor de ansiedad al 73% y 80% respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con la investigación farmacológica a diferentes concentraciones de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda", para otorgarle sustento científico a las propiedades medicinales que se le atribuyen.
2. Se recomienda la utilización de este estudio como base para las investigaciones en cuanto al estudio cualitativo, componentes y concentraciones que permitan establecer el uso de los efectos sedantes y ansiolíticos que poseen las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda".
3. Realizar estudios de toxicidad crónica de la especie vegetal *Ruta Chalepensis* L. "Ruda".
4. El estudio de nuevas especies naturales con efecto sedante, es útil para tener muchas alternativas en la terapia farmacológica en el tratamiento de pacientes con enfermedades crónicas como Parkinson, epilepsia y drogadicción.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Vásquez S. Automedicación en el Perú. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas Dirección de Acceso y Uso de Medicamentos. 2008 [Internet]. [citado 2017 abril 05]. Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/upload/uploaded/pdf/automedicacion_junio_2008.pdf.
2. Aguado M, Núñez M, Dos Santos L, Bregni C. La Automedicación en Estudiantes de Farmacia de la Universidad Nacional del Nordeste, Acta Farm. 2005 [Internet]. [citado 2017 mayo 11];24 (2). Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/24/2/LAJOP_24_2_5_3_WA44D3E949.pdf
3. Rosas I, Simón K, Mercado F. Mecanismo celular y molecular de la adicción a benzodiazepinas. Salud Mental [revista en la Internet]. 2013 [citado 2017 Mayo 02]; 36(4):325–329. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533252013000400007&lng=es.
4. Licata S, Platt D, Cook J, Sarma P, Griebel G, Rowlett J. Contribution of GABAA Receptor Subtypes to the Anxiolytic-Like, Motor, and Discriminative Stimulus Effects of Benzodiazepines: Studies with the Functionally Selective Ligand SL651498 [6-Fluoro-9-methyl-2-phenyl-4-(pyrrolidin-1-yl-carbonyl)-2,9-dihydro-1H-pyridol[3,4-b]indol-1-one]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. [Citado 2017 mayo 04]. Disponible en: <http://jpet.aspetjournals.org/content/313/3/1118>
5. Organización Mundial de la Salud. La salud mental y los adultos mayores. Ginebra. 2016 [Internet]. [citado 2017 abril 28] 72 (6). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs381/es/>.
6. Kulisevsky J, Luquin M, Arbelo J, Burguerad J, Carrillo F, Castro A, et al. Enfermedad de Parkinson avanzada. Características clínicas y tratamiento. Parte II. Neurología, Volumen 28, 558-583 [Internet]. [Citado 2017 mayo 03]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213485313001187>.

7. Brunton L, Dandan R. Las base farmacológicas de la terapéutica. 12° edición. New York: McGraw-Hill Interamericana 2012[Internet]. [citado 2017 mayo 02]. Disponible en: <http://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1468§ionid=93493176>.
8. Ramos J. Búsqueda de un tratamiento farmacológico para la dependencia de la marihuana. Adicciones ,2006 [Internet]. [citado 2017 mayo 2]; 185-9. Disponible en: <http://www.adicciones.es/index.php/adicciones/article/view/File/351/352>.
9. Velayos J. Medicina Del Sueño Enfoque Multidisciplinario [Internet].Bueno Aires: Panamericana, 2009 [citado 2017 mayo 4].Disponible en : https://books.google.com.pe/books?id=zNfZaRv_csC&printsec=frontcover&dq=Medicina+Del+Sue%C3%B1o+Enfoque+Multidisciplinario&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiHs66phsLZAhUSv1MKHctBTcQ6AEIJjAA#v=onepage&q=Medicina%20Del%20Sue%C3%B1o%20Enfoque%20Multidisciplinario&f=false
10. Claro M, Podestá M, Rosales A, Fernández M, Méndez T, Gómez A. Sedación y analgesia en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos en el paciente pediátrico. Arch. argent. pediátr. [Internet]. 2006 Dic [citado 2018 Mayo 27]; 104(6): 512-519. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-00752006000600006&lng=es.
11. Organización Mundial de la Salud. Día Mundial de la Salud Mental: la depresión es el trastorno mental más frecuente. Ginebra.2012 [Internet]. [citado 2017 abril 30]. Disponible en.: http://www2.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=7305%3A2012-día-mundial-saludMental-depresion-trastorno-mental-más-frecuente&Itemid=1926&lang=es.
12. Buendía J. Efecto sedante del extracto alcohólico de hojas y flores de *Melissa officinalis* “Toronjil” más *Matricaria chamomilla* “Manzanilla” sobre la ansiedad inducida en ratones albinos. Cybertesis Perú [online].2015. [citado 2017 abril 10].Disponible en :http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4758/Buend%C3%ADa_oj.pdf?sequence=1&isAllowed=y

13. Cardenas J. Validación del efecto sedativo, antiedematizante y toxicidad de *Valeriana officinalis* (Valeriana); *Melissa officinalis* (Melisa); *Thymus vulgaris* (Tomillo); *Foeniculum vulgare* (Hinojo); *Passiflora incarnata* (Flor de la Pasión o Maracuyá) en ratones. [Tesis Profesional en Enfermería] Perú: Universidad Nacional del Callao. 2012. [citado 2017 Junio 30]. Disponible en: https://unac.edu.pe/documentos%20organizacion/vri/cdcitra/Informes_Finales_Investigacion/IF_SETIEMBRE_2012/IF_CARDENAS%20TENORIO_FCS.pdf
14. Velasquez G. Efecto del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* (Tumbo Serrano) en la ansiedad, en *Mus musculus* var. *albinus*. Rev. Investig. Vet. Perú-Trujillo [online]. 2016, [citado 2017-04-13], Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5848/Gil%20Velasquez%20Jenner%20Omar%202016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
15. Arévalo G, Boncún B, Ruiz G, et al. Estudio fitoquímico y efectos sedativo e hipnótico de *Solanum melongena* var. *esculentum* (Dunal) Nees en *Cavia porcellus* en comparación con diazepam. Revista farmacología. Vol. 2 N° 2 [online]. 2014. [citado 2017 Junio 13]. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabiocq/article/view/759/683>
16. Bonilla J. Determinación de la toxicidad, actividad sedante y ansiolítica del extracto acuoso de las Flores de *Erythrina berteroana* (Pito) en ratones NIH. Rev Universidad de el Salvador Facultad de Química y Farmacia [Internet]. 2013 Dic [citado 2017 Ene 19]; 19(4): 383-398. Disponible en: http://ri.ues.edu.sv/3259/1/161_03226.pdf
17. Rea V. Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de Flor de Badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo [Internet]. 2014 Sep [citado 2017 Ene 19]; 15(3): 96-104. Disponible en: <http://dspace.espe.edu.ec/bitstream/123456789/3793/1/56T00486%20UDCTFC.pdf>

18. Villafaña M, Ángel A. Actividades sedante y antidepresivas de soulatrolido, un compuesto aislado de *Calophyllum brasilense* Cambess(Calophyllaceae). Verano de la Investigación Científica [Internet]. 2017 [citado 14 Feb 2018]; Vol.Nº.2. Disponible en: [file:///C:/Users/ALVARADO%20LOPEZ/Downloads/2176-7369-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ALVARADO%20LOPEZ/Downloads/2176-7369-1-PB%20(1).pdf)

19. Oviedo V, García M, Díaz C, et al. Extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica en ratones. Verano de la Investigación Científica [Internet]. 2009 [citado 04 Feb 2018]; Vol. 38 (1). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v38n1/v38n1a07.pdf>

20. Schmelzer G, Gurib A. Medicinal plants 2.1^{era} Edición. Netherlands:Prota. 2008.

21. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana [Internet]. Mexico; Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.2009 [actualizado 14 Feb 2017; citado 4 set 2017]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/12576>.

22. Cronquist A. An integrated system of classification of flowering plants. 2^{da}.E d.New York: Columbia Univ; 1988.

23. Virgili G. Guía medicinal y espiritual de plantas tropicales. [Internet]. República Dominicana. Angels Fortune, 2017[citado 12 diciembre 2017; 10 mayo 2018].Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=RLNCDwAAQBAJ&dq=uso+de+la+ruta+chalepensis+en+el+peru&source=gbs_navlinks_s

24. A guide to medicinal plants in North Africa. [en línea]. IUCN Centre for Mediterranean Cooperation; 2005. [fecha de acceso 18 de septiembre del 2017]. [citado 2017 Mayo 12]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=CBbU4Q0WY&pg=PA210&dq=ruta+chalepensis&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjO3vCw093XAhVJct8KHVBrBs8Q6AEIOjAD#v=onepage&q=ruta%20chalepensis&f=false>.

25. Lock O. Investigación fitoquímica. Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 2^{da} ed. Peru.1994.
26. Osuna L, Tapia M, Aguilar A. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: Estudio etnobotánica, fitoquímico y farmacológico.1^{era} ed. España. Universitat de Barcelona.2005.
27. Sierra C, Ortega V, Zubeidat I. Ansiedad, angustia y estrés: tres conceptos a diferenciar. Revista Mal-estar E Subjetividade [en línea] 2003, 3 (Marco) : [Citado 18 de febrero de 2018] Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/271/27130102.pdf>.
28. Battaglia M, Ogliari A. Anxiety and panic: from human studies to animal research and back. Neuroscience and Biobehavioral Reviews; 2005.
29. Mendoza N. Farmacología médica. Editorial Médica Panamericana. México.2008.
30. Korolkovas A, Burckhalter J. Compendio esencial de Química farmacéutica [Internet].España; Madrid: Reverte, 1983 [Citado 04 febrero del 2018]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=LFwAqUISb2UC&pg=PA125&dq=sedante&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwjggqzN_7HZAhWHzlMKHbDOAHQQ6AEIKzAB#v=onepage&q=sedante&f=true.
31. Sarrais F, de Castro P. El insomnio. Anales Sis San Navarra [Internet]. 2007 [citado 2018 Feb 19];30(Suppl 1):121-134.Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S11376627200700020001.
32. Tripathi K. Farmacología en odontología: fundamentos. [Internet]. 1ed. Buenos aires: Madrid. Médica Panamericana, 2008. [Citado 02 marzo 2015; 22 febrero 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=9631OEbYetUC&pg=PA139&dq=Mecanismo%20de%20acci%C3%B3n%20de%20los%20barbit%C3%BAricos&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwj9o37fA>.
33. Villar del Fresno A. Farmacognosia general. Madrid: Síntesis; 1999.

34. Ruiz K, Paz S, Echeverría C, Mosquera S. Efecto de diferentes aceites esenciales sobre el crecimiento in vitro de *Fusarium* sp. [En línea] [Citado: 25 de enero del 2018]. Disponible en: <http://iicta.bogota.unal.edu.co/wp-content/uploads/2017/02/808D036.pdf>
35. Barboza J, Hilje L, Durón J, Cartín V, Calvo M. Fagodisuasión de un extracto de ruda (*Ruta chalepensis*, Rutaceae) y sus particiones sobre larvas de *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Rev. biol. trop* [Internet]. 2010 Mar [citado 2018 May 29]; 58(1): 01-14. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442010000100001
36. Archer T, Frederickson A. Marble burying and spontaneous motor activity in mice: interactions over days and the effect of diazepam. [En línea] [Citado 29 de enero del 2018]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.14679450.1987.tb00761.x/abstract>.
37. Ene H, Barak N, Kara N, et al. Effects of repeated asenapine in a battery of tests for anxiety-like behaviours in mice. [En línea] [Citado 29 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/acta-neuropsychiatrica/article/effects-of-repeated-asenapine-in-a-battery-of-tests-for-anxiety-like-behaviours-in-mice/0CA73B4495E4F25098C40>
38. Ariza S, Rueda D, Rincón J, Linares E, Guerrero M. Efectos farmacológicos sobre el sistema nervioso central inducidos por cumarina, aislada de *Hygrophila tytha* Leonard. [En línea] [Citado 20 de enero del 2018]. Disponible en: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/vitae/article/viewFile/613/523>
39. Chakma T, Khan M, Rahman T, Choudhuri M, Rajia S, Alamgir M. Análisis de los efectos de plantas medicinales de Bangladesh en la duración del sueño inducido por pentobarbital en ratones. [En línea] [Citado 20 de enero del 2018]. Disponible en: <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/27934/1/Ars%20Pharm%202006%3b47%282%29211-217.pdf>

ANEXOS 1.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 260-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa) recibida de **Lesly ALVARADO LOPEZ y CINTHIA CASTRO BOLAÑOS**, estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de Universidad NORBERT WIENER, ha sido estudiada y clasificada como: ***Ruta chalepensis*** L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ROSIDAE

ORDEN: SAPINDALES

FAMILIA: RUTACEAE

GENERO: *Ruta*

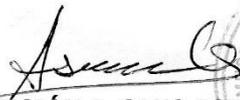
ESPECIE: *Ruta chalepensis* L.

Nombre vulgar: "ruda macho"

Determinada por: Blgo. Severo Baldeón Malpartida

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 10 de noviembre de 2017


Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb



Figura 20. Proceso de selección de las hojas de la *Ruta Chalepensis* L. "Ruda" para el estudio cualitativo.



Figura 21. Maceración etanólica de las hojas de la especie vegetal *Ruta Chalepensis* L. "Ruda".



Figura 22. Filtración de la especie vegetal *Ruta Chalepensis* L. “Ruda”.

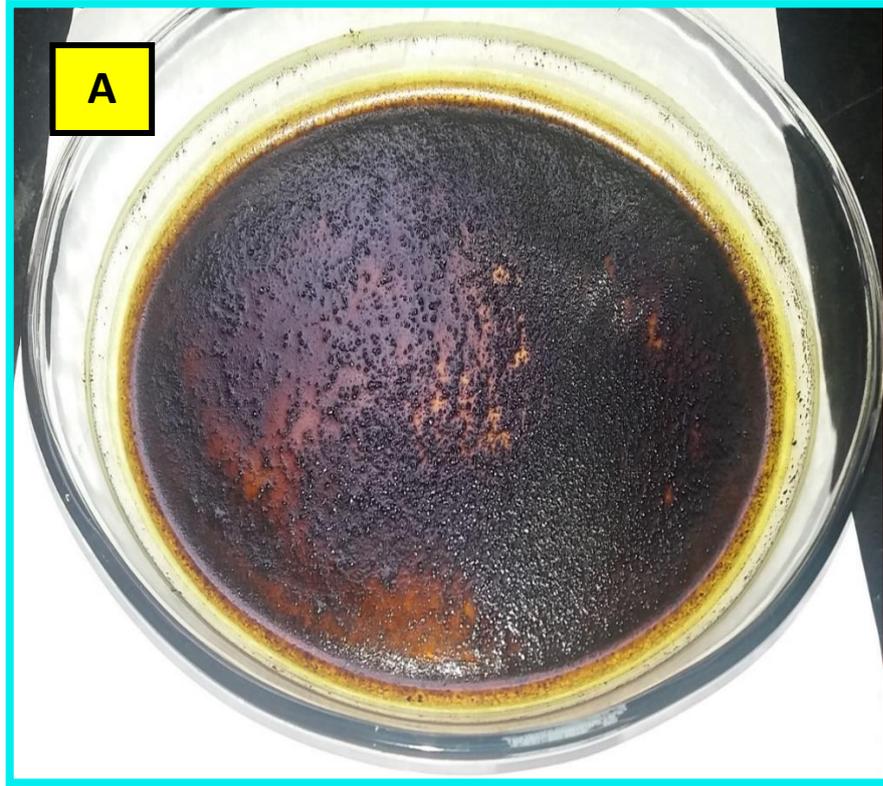


Figura 23. (A) y (B) Obtención del extracto seco de las hojas de la especie *Ruta Chalepensis* L. "Ruda".

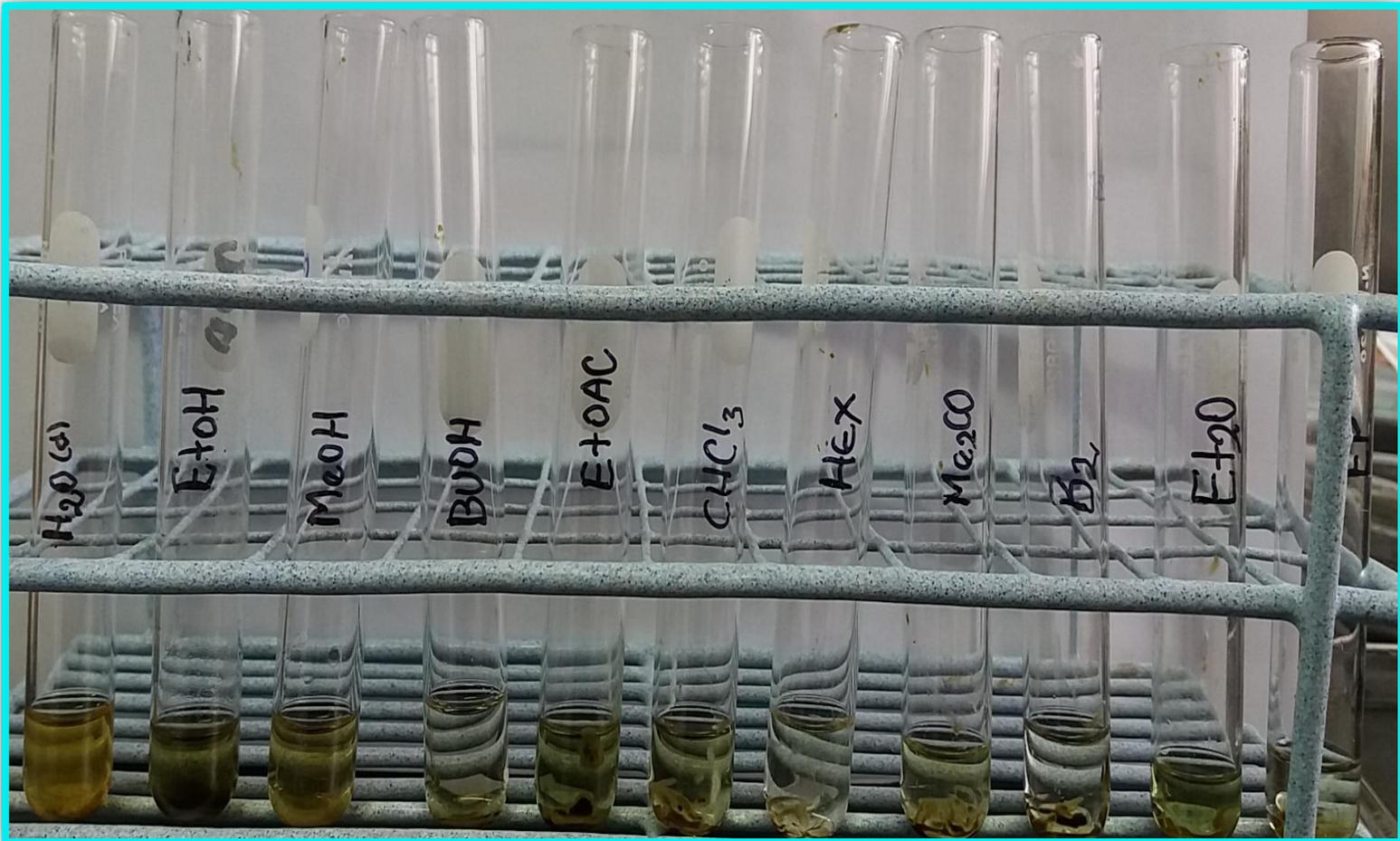


Figura 24. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda"

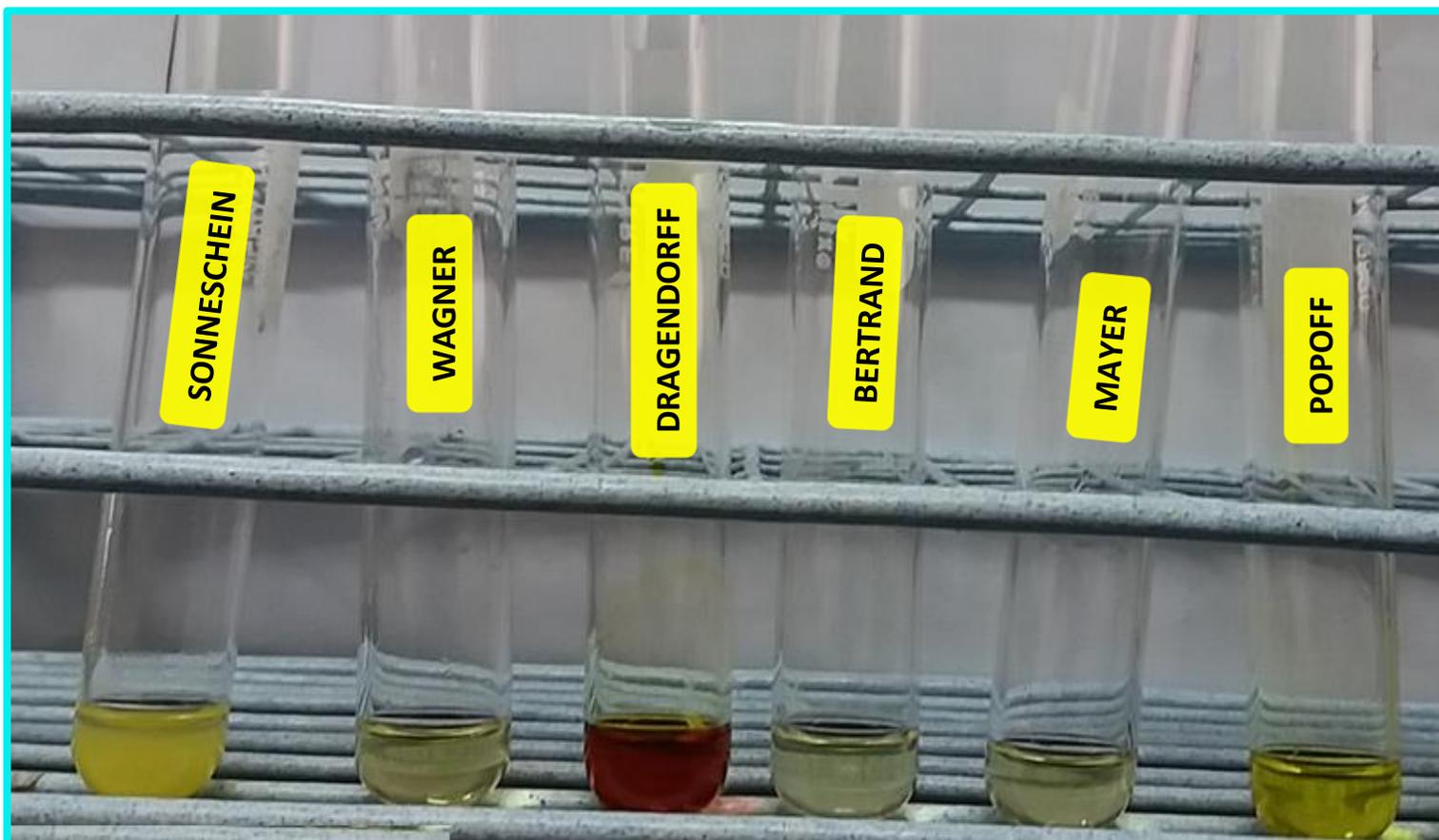


Figura 25. Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Ruta Chalepensis* L. "Ruda".