



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS
DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLÍTICO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE GUAYABA (*Psidium
guajava L.*) EN RATAS (*Rattus wistar*), REALIZADO EN LOS
LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS,
AREQUIPA 2017.**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICA**

PRESENTADO POR:

MARITZA ANGELINA CCOLQUE HUAMANÍ

ASESORA:

MG. SHANERI MARCILLA TRUYENQUE

AREQUIPA, PERÚ MARZO 2018

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres, mis hermanas por su apoyo incondicional durante mi carrera profesional.

A todos mis docentes, por todos sus conocimientos brindados y motivación para la culminación de mis estudios profesionales y en especial a la Mg. Shaneri Marcilla Truyenque por su apoyo ofrecido en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Con todo mi cariño y amor para las personas que hicieron todo en la vida para que siga logrando mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba; a todos ustedes que siempre estarán en mi corazón, mi más sincero agradecimiento.

ÌNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÌNDICE.....	iii
ÌNDICE DE GRÁFICOS	vii
ÌNDICE DE FIGURAS.....	viii
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN.....	xi

CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO

1.1. Descripción de la realidad problemática	1
1.2. Formulación del problema a investigar	2
1.2.1. Sub problemas	2
1.3. Objetivos de la investigación	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos.....	4
1.4. Justificación de la investigación.....	5
1.4.1. Importancia de la investigación.....	5
1.4.2 Viabilidad de la investigación	6
1.5 Limitaciones del estudio	6
1.6 Antecedentes Investigativos	6
1.7 Bases teóricas.....	10
1.7.1 Guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.).....	10
1.7.2 Ansiedad	11
1.8 Definición de términos básicos.....	17
1.8.1 Variables:	17
1.8.2 Dimensiones:.....	18
1.8.3 Indicadores:.....	18
1.8.4 Unidad de análisis:	19

CAPÍTULO II

HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1 Hipótesis.....	20
2.2 Variables e indicadores	20

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Diseño metodológico	22
3.2 Diseño muestral.....	35
3.2.1 Muestra.....	35
3.2.2 Tamaño de la muestra representativa	35
3.3 Técnicas de recolección de datos	35
3.4 Técnicas estadísticas para el procesamiento de la investigación.....	36

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 Análisis e interpretación de los resultados	37
---	----

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

5.1 CONCLUSIONES	47
5.2 RECOMENDACIONES.....	48

FUENTES DE INFORMACIÓN

ANEXOS

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1: Operacionalización de variables	20
Cuadro N° 2: Diseño de la investigación	34
Cuadro N° 3: Control de calidad a las hojas secas de guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.)	37
CuadroN°4: Análisis organoléptico del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.).....	38
Cuadro N° 5: Identificación de metabolitos secundarios y primarios en el extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.)	39
Cuadro N° 6: Parámetros fisicoquímicos del extracto etanólico de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.).....	40
Cuadro N° 7: Control de pesos de ratas (<i>Rattus wistar</i>).....	41
Cuadro N° 8: Número de veces que el animal cruza el cuadrado central en la prueba de campo abierto.	41
Cuadro N° 9: Número de deambulación de cuadrados que el animal realiza en la prueba de campo abierto.	43
CuadroN°10: Número de conductas verticales que el animal realiza en la prueba de campo abierto.	44
Cuadro N° 11: Resultado de la determinación de cenizas por triplicado de las hojas de guayaba.	67
Cuadro N° 12: Resultado de la determinación de humedad por triplicado de las hojas de guayaba.	67
Cuadro N° 13: Resultado de las mediciones del pH por triplicado del extracto de las hojas de guayaba.....	68
Cuadro N°14: Medición por triplicado la densidad del extracto etanólico y diluciones	68
Cuadro N°15: Medición de sólidos totales del extracto etanólico de hojas de guayaba.....	68
Cuadro N°16: Medición del índice de refracción del extracto etanólico de hojas de guayaba.....	69
Cuadro N° 17: Número de veces que cruzó el animal por el cuadrado central observados en todos los grupos de estudio.	71
Cuadro N° 18: Número de cuadrados deambulados por el animal observados en todos los grupos de estudio.	72

Cuadro N° 19: Número de posiciones verticales observadas en todos los grupos de estudio.....	73
Cuadro N° 20: Control de pesos de ratas	74

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Número de veces que el animal cruza el cuadrado central en la prueba del campo abierto.	42
Gráfico N°2: Deambulaci3n de cuadrados que el animal realiza en la prueba de campo abierto.	43
Gráfico N° 3: Conductas verticales que el animal realiza en la prueba de campo abierto.	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1: Hojas de guayaba	10
FiguraN°2: Muestra para el reconocimiento de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava L.</i>).....	53
Figura N° 3: Recolección de las hojas de guayaba(<i>Psidiumguajava L.</i>).....	53
Figura N° 4: Lavado de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava L.</i>)	54
FiguraN°5: Secado de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava L.</i>).....	54
Figura N° 6: Determinación de cenizas de las hojas de guayaba.....	55
Figura N° 7: Determinación de humedad de las hojas secas de guayaba.....	55
FiguraN°8: Molienda de las hojas secas de guayaba.....	56
Figura N° 9: Pesado de hojas molidas de guayaba (<i>Psidium guajava L.</i>)	56
Figura N° 10: Preparación del macerado de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava L.</i>).....	57
Figura N° 11: Ensayo de Shinoda al extracto de las hojas de guayaba	57
FiguraN°12: Ensayo de Liebermann buchard al extracto de hojas de guayaba .	58
Figura N° 13: Ensayo de FeCl ₃ al extracto de hojas de guayaba.....	58
Figura N° 14: Ensayo de espuma al extracto de hojas de guayaba	59
Figura N° 15: Ensayo de Sudan IIIal extracto de hojas de guayaba.....	59
Figura N° 16: Ensayo de Fehling A y B al extracto de hojas de guayaba.....	60
Figura N° 17: Determinacion de solidos totales al extracto de hojas de guayaba.....	60
Figura N° 18: Medición del pH del extracto etanólico de la hojas de guayaba. .	61
Figura N° 19: Medición de la densidad del extracto de guayaba.....	61
Figura N° 20: Acondicionamiento de los animales	62
Figura N° 21: División de grupos de estudio	62
Figura N° 22: Control de peso de los animales	63
FiguraN°23: Administración de la dosis de medicamento por vía oral con la ayuda de una cánula metálica.	63
FiguraN°24: Conducta de posición central del animal en la prueba de campo abierto.	64
Figura N° 25: Permanencia del animal en la periferia de la caja de la prueba de campo abierto.....	64

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto ansiolítico del extracto etanólico de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.), realizado en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas Filial Arequipa.

Las hojas se recolectaron en la provincia de Camaná distrito de Nicolás de Piérola San Gregorio, se les realizaron controles de calidad como humedad y cenizas, posteriormente se preparó un extracto etanólico por maceración, luego se realizó la determinación de pH, densidad, índice de refracción, sólidos totales e identificación de metabolitos secundarios

Para la evaluación del efecto ansiolítico se trabajó con 30 ratas (*Rattus wistar*) machos divididos en cinco grupos de seis cada uno, al grupo control negativo G1 se le administró 0,5 mL de agua destilada, a los grupos G2, G3 y G4 recibieron 0,5 mL de los extractos diluidos de 30%, 50% y 80% y el G5 (grupo control positivo) recibió diazepam en tabletas 0.8mg/kg de peso, y luego de treinta minutos se aplicó la prueba de campo abierto. Los resultados obtenidos se comprobaron con el ANOVA y se obtuvo un valor de p menor a 0,05 lo que nos indica que si existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados, evidenciando una disminución de ansiedad in vivo con las tres diluciones del extracto etanólico de hojas de guayaba siendo el más óptimo el de 50%.

Por tanto, se concluye que el extracto etanólico de las hojas de guayaba posee efectos ansiolíticos, siendo los terpenos y flavonoides los posibles responsables de este efecto.

Palabras clave: efecto ansiolítico, hojas de guayaba.

ABSTRACT

The present research work was carried out with the objective of evaluating the anxiolytic effect of the ethanolic extract of the leaves of guava (*Psidium guajava* L.), carried out in the laboratories of the Alas Peruanas Branch Filial Arequipa.

The leaves were collected in the province of Camaná district of Nicolás de Piérola San Gregorio, quality controls were performed as moisture and ash, then an ethanolic extract was prepared by maceration, then the determination of pH, density, refractive index was made , total solids and identification of secondary metabolites

For the evaluation of the anxiolytic effect we worked with 30 rats (*Rattus wistar*) males divided into five groups of six each, to the negative control group G1 was administered 0.5 mL of distilled water, to the groups G2, G3 and G4 received 0.5mL of the diluted extracts of 30%, 50% and 80% and the G5 (positive control group) received diazepam in tablets 0.8mg / kg of weight, and after thirty minutes the open field test was applied. The results obtained were checked with the ANOVA and a p-value less than 0.05 was obtained, which indicates that there are statistically significant differences between the groups studied, evidencing a decrease in anxiety in vivo with the three dilutions of the ethanolic extract of guava leaves being the most optimal 50%.

Therefore, it is concluded that the ethanolic extract of the guava leaves has anxiolytic effects, being the terpenes and flavonoids the possible responsible for this effect.

Key words: anxiolytic effect, guava leaves.

INTRODUCCIÓN

Los trastornos de ansiedad son un estado emocional desagradable en las que hay sensación subjetiva de un peligro, malestar, tensión o aprensión, acompañado de una descarga neurovegetativa y cuya causa no está claramente reconocida para la persona.

Con la finalidad de aliviar estos males existen una variedad de tipos de fármacos que se utilizan para aliviar la ansiedad; anteriormente se usaba los barbitúricos que a causa de su toxicidad han sido sustituidos desde 1960 por las benzodiazepinas las cuales son las más comunes y las más recomendados por el personal médico para tratar la ansiedad. Estas sustancias ansiolíticas que son aceptadas en el entorno social, producen alivio y bienestar a la mayoría de personas, sin embargo, el empleo de estas sustancias puede también afectar la salud del individuo cuando su uso es desordenado y culmina alterando la salud mental de la persona.

Frente a esta problemática se plantea una alternativa de tratamiento natural para los trastornos de ansiedad, ya que desde lejanos años a nuestros días, numerosas especies vegetales han sido estudiadas, obteniéndose de ellas importantes compuestos biológicamente activos que han contribuido a aliviar patologías del sistema nervioso.

Dentro de este grupo de plantas, en la medicina tradicional peruana, se reconoce a las hojas de guayaba que se utilizan ampliamente para calmar “los nervios” y además también se le adjudica propiedades como antipiréticas, espasmolítico,

enfermedades digestivas, debido a la presencia diversos metabolitos secundarios tales como flavonoides y terpenos que según bibliografía pueden ser generadores del efecto ansiolítico.

Por lo anterior mencionado; el presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar el efecto ansiolítico del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*) en ratas mediante la prueba de campo abierto, ya que debido a su composición en metabolitos secundarios como flavonoides y terpenos, es probable que tenga efecto ansiolítico y siendo así se estaría aportando información relevante sobre los beneficios de las hojas de guayaba.

El tipo de investigación utilizado en este trabajo fue cuasi experimental transversal-prospectivo, cuya muestra fue el extracto etanólico de las hojas de guayaba, una de las limitaciones que se presento durante el desarrollo del trabajo de investigación fue la falta de un bioterio para el acondicionamiento de los animales el cual se supero con la elaboración de jaulas con las condiciones ideales.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación servirán de base para la comunidad científica particularmente a estudiantes investigadores.

A continuación se detalla una breve descripción de los capítulos que comprenden este trabajo de investigación:

En el capítulo I se presenta el marco teórico conteniendo los antecedentes investigativos relacionados con el tema, bases teóricas del tema donde se analizan críticamente los principales enfoques, teorías o paradigmas relacionados con el tratamiento que ha tenido el problema en las disciplinas relacionados con el mismo, también se define conceptualmente los principales términos que serán utilizados en la investigación como variables, dimensiones, indicadores y unidad de análisis.

En el capítulo II se realiza el planteamiento se la hipótesis del trabajo de investigación así como la operacionalización de las variables de estudio.

En el capítulo III se enuncia el tipo de diseño y se explican los procedimientos que se emplearon para obtener la información las cuales se procesaron.

En el capítulo IV se presentan los resultados de la investigación en cuadros y gráficos por su contenido, los resultados incluyen los datos obtenidos en el

estudio, que contribuyen a dar respuestas a los problemas y objetivos de la investigación.

En el Capítulo V se analizaron e interpretaron los resultados, en correspondencia con las bases teóricas establecidas, los criterios del autor y otros autores.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Descripción de la realidad problemática

De todas las enfermedades mentales, los trastornos de ansiedad son los más comunes, en los servicios de atención primaria en el mundo. Cada día más personas sufren de esta condición ocupando uno de los primeros lugares en cuanto a problemas de salud mental se refiere; un 20% de la población mundial padecerá algún tipo de trastorno de ansiedad en algún momento de su vida, según indican datos estadísticos de la Organización Mundial de la Salud.¹

La ansiedad es un sistema de alerta del organismo frente a situaciones que se consideran amenazantes, pues está relacionado a la percepción de amenaza y a la disposición de respuestas frente a ella. Es importante entender la ansiedad como una sensación o un estado emocional normal ante determinadas situaciones y que constituye una respuesta habitual a diferentes situaciones cotidianas estresantes. Tan sólo cuando sobrepasa cierta intensidad o supera la capacidad adaptativa de la persona, es cuando la ansiedad se convierte en patológica, provocando malestar significativo con síntomas que afectan tanto al plano físico, como al psicológico y conductual.²

¹OPS, OMS. Incrementaran notablemente los trastornos mentales en América Latina y Caribe. Estados Unidos. 2005.

²Lobo A, Campos R. Factores etiopatogénicos en: Trastornos de ansiedad en atención primaria. Madrid: EMISA; 1997. Pág. 76.

Actualmente se dispone de fármacos tranquilizantes, que están indicados para el tratamiento de la ansiedad. Las sustancias ansiolíticas que son aceptadas en el entorno social provocan estabilidad, alivio e incluso placer a la mayoría de personas. Sin embargo, puede también afectar de manera adversa la vida del individuo generando dependencia física del fármaco, efectos adversos o tóxicos que pueden llegar a la muerte por sobredosificación.³

Ante la realidad problemática observada sobre el abuso y la dependencia de estos fármacos y la falta de estudios sobre el posible efecto ansiolítico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*), se ha tomado la iniciativa de realizar el presente trabajo de investigación que será un aporte muy importante a la comunidad investigadora, ya que puede servir de base para futuras investigaciones.

1.2. Formulación del problema a investigar

¿Cuáles serán los resultados de la evaluación del efecto ansiolítico del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*) en ratas (*Rattus wistar*)?

1.2.1. Sub problemas

- A. ¿Qué metabólicos secundarios y primarios presentará el extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*)?
- B. ¿Cuáles serán los parámetros fisicoquímicos del extracto etanólico de la hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*)?
- C. ¿Cuál será el resultado al cuantificar mediante la prueba de campo abierto el tigmotaxismo por el cuadrado central que realiza el animal luego de la administración a diferentes diluciones del extracto etanólico de las hojas de guayaba. (*Psidium guajava L.*).

³ Gómez H. Neurofisiología, Clínica y Tratamiento de los Trastornos de Ansiedad.[en línea] Venezuela: caracas; 2014. URL disponible en: http://cuartasingularidad.com/events/libro_trastorno_de_ansiedad.pdf_2014. Pág. 08-29.

- D.** ¿Cuál será el resultado de la de ambulación espacial que el animal realiza mediante la prueba de campo abierto a diferentes diluciones del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*)?
- E.** ¿Cuál será el resultado al observar mediante la prueba de campo abierto el número posiciones verticales que el animal realiza al aplicar diferentes diluciones del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*)?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto ansiolítico del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*) en ratas (*Rattus wistar*), realizado en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas, Arequipa 2017.

1.3.2 Objetivos específicos

- Identificar metabolitos secundarios y primarios en el extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*).
- Determinar parámetros fisicoquímicos como (pH, densidad, índice de refracción y sólidos totales) del extracto etanólico de la hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*).
- Cuantificar mediante la prueba de campo abierto el tigmotaxismo por el cuadrado central que realiza el animal luego de la administración a diferentes diluciones del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*).
- Determinar mediante la prueba de campo abierto la de ambulación espacial que el animal realiza al administrar diferentes diluciones del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*).
- Observar mediante la prueba de campo abierto el número posiciones verticales que el animal realiza al administrar diferentes diluciones del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*).

1.4 Justificación de la investigación

1.4.1 importancia de la investigación

Existen muchos estudios científicos que se han realizado sobre las propiedades de las hojas de guayaba. Una planta originaria de América, cuya utilidad curativa ha sido reconocida durante distintas épocas en diversos países y que forman parte de los recursos herbolarios de las llamadas medicinas tradicionales y de fácil acceso para la población. Estas innumerables propiedades que se les atribuye a las hojas de guayaba se deben a la riqueza en su composición de metabolitos secundarios como los flavonoides, que debido a su capacidad antioxidante podrían mejorar trastornos psiquiátricos como la ansiedad causados por el estrés oxidativo mediado por especies reactivas del oxígeno (anión superóxido, radical hidroxilo y peróxido de hidrógeno), frente a lo cual la búsqueda y el desarrollo de nuevas terapias antioxidantes son muy necesarios para aliviarlos⁴.

Por otro lado también es importante mencionar la presencia de otros metabolitos secundarios como los terpenos, que debido a que actúan sobre los receptores benzodiazepínicos, poseen efectos sobre el sistema nervioso central.⁵ Así lo confirma un estudio de investigación que fue realizado al extracto de las hojas de guayaba donde se pudo aislar dos sesquiterpenos; elóxido de cariofileno y el β -sileneno con propiedades sobre del sistema nervioso central.

Por lo mencionado anteriormente, este estudio aporta información importante sobre el conocimiento de las propiedades beneficiosas de las hojas de guayaba como ansiolítico mediante la prueba de campo abierto, ampliamente utilizadas, a fin de contribuir con otros investigadores, puesto que ha sido realizado siguiendo rigurosamente el método científico debido a que se presentaron las condiciones necesarias para llevarlo a cabo.

⁴N. Felicity, M. Berk, O. Dean y A. I. Bush, "Estrés oxidativo en trastornos psiquiátricos: base de evidencia e implicaciones terapéuticas", *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, Vol. 11, no. 6, pp. 851-76, septiembre de 2008

⁵Bruneton J. *Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales*. Editorial Acribia 2ª Edición. 2001. pág. 34.

Por lo tanto, cabe mencionar que la importancia de este tipo de investigación no solo radica en la aportación al conocimiento científico, sino que a la vez, permite promover el uso de plantas medicinales de una manera eficaz en beneficio de la salud de las personas, debido que en la actualidad este trastorno es un problema de salud pública en nuestro país.

1.4.2 Viabilidad de la investigación

Este trabajo de investigación fue viable porque conto con todos los recursos y condiciones necesarias para que se desarrolle correctamente.

1.5 Limitaciones del estudio

El acondicionamiento de los animales para la investigación se tornó un poco difícil debido a la falta de un bioterio, pero esto se superó con la creación de jaulas con las condiciones adecuadas para la estadía de los animales.

1.6 Antecedentes Investigativos:

1.6.1 Hojas de *Psidium guajava* L.-2013-Rafael Rodríguez Amado; Ariadna Lafourcade Prada; Liana Pérez Rondón.

En el trabajo se reporta la composición química y existen ensayos preclínicos y clínicos que confirman actividad antidiarreica. No se reportan efectos tóxicos. Existen pocas formas farmacéuticas para esta especie. Las hojas de guayaba son inocuas. Hay que realizar más estudios para garantizar la eficacia. Se deben preparar otras variantes terapéuticas para su uso como antidiarreico.

También se realizaron estudios etnobotánicas y sobre su composición química, donde obtuvieron los siguientes resultados Las hojas de esta planta contienen taninos y fenoles, flavonoides y triterpenos y esteroides, así como de saponinas y compuestos aminados. 7,12 Se ha reportado un aceite esencial y otras sustancias volátiles.13 Contiene, además, ácido guajanoico, β -sitosterol, uvaol, ácido oleanólico y ácido ursólico; ácido 2- α -hidroxiursólico, morin-3-O- α -L-arabopiranosido, hiperina, miricetina-3-O- β -D-glucosido, quercetin-3-O- β -D-glucuronopiranosido, 1-O-galoil- β -D-glucosa. Se ha informado la presencia de ácido ascórbico y de otros flavonoides

así como azúcares reductores y alcaloides. Se ha aislado una nueva benzofenona y un flavonol de naturaleza galoil-glicósido, conjuntamente con 5 nuevos quercetin-glicósidos. Se ha informado el aislamiento de nuevos flavonoides¹⁶ y de 4 nuevos triterpenos.

1.6.2 Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.)-2014-E. Pérez, G. Ettiene, M. Marín, A. Casassa Padron, N. Silva, J. Raga, C. González¹, L. Sandoval y D. Medina.

Las plantas responden a variaciones ambientales, como las causadas por la época del año, la fertilización y los daños ocasionados por plagas y enfermedades, lo cual influye en la producción de metabolitos secundarios que regulan la actividad metabólica, tal como los fitoquímicos fenólicos (FF). Igualmente la producción de FF se ve afectada por el estado fenológico de la planta. Con el objetivo de determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales en plantas de guayabo (*Psidium guajava* L.), se muestrearon hojas jóvenes y recientemente maduras de la parte media de los cuatro cuadrantes de la copa de seis plantas ubicadas en la parcela experimental del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola (CESID-Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA (10°49'46,6''LN; 71°46'29,2''LO). La extracción de los FF se realizó con ultrasonido empleando 0,5g de muestra seca y una mezcla metanol: agua (80:20% v/v). Para la cuantificación por espectrofotometría de absorción UV-VIS, se utilizó como estándar ácido gálico para fenoles totales y catequina para flavonoides totales. Los resultados mostraron mayor contenido de fenoles (9.071,46 mg AG.100 g⁻¹ muestra seca) y flavonoides (2.845,21 mg catequina.100 g⁻¹ muestra seca) en hojas jóvenes en comparación con las recientemente maduras [(fenoles (4.663,57 mg AG.100 g⁻¹ muestra seca) y flavonoides (1.705,83 mg catequina.100 g⁻¹ muestra seca)], destacándose la hoja joven como el mejor estado fenológico de la hoja para la cuantificación de fenoles y flavonoides totales en plantas de guayabo.

1.6.3 Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*)-2014-Viviana Elizabeth Rea Lara.

Se realizó la evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*); estudio realizado en los Laboratorios de Productos Naturales, Análisis Instrumental y Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para ayudar a reducir la ansiedad, en pacientes con trastornos de ansiedad, contribuyendo a mejorar su calidad de vida.

Con las flores de badea recolectadas en el cantón Sushufindi, provincia de Sucumbíos, se elaboró un extracto hidroalcohólico con parámetros de calidad, sus compuestos fueron identificados mediante tamizaje fitoquímico, cromatografía en capa fina (TLC) y espectrofotometría UV-Visible. Para su efecto se realizó un estudio preclínico utilizando 18 ratones *Mus musculus* divididos en 6 lotes de 3 ratones cada uno denominados: G1 (Blanco), G2 (Control positivo químico), G3 (Control positivo natural), G4, G5 y G6 (Experimentos Netos). Como tratamientos, el grupo G1 recibió vehículo (suero fisiológico: glicerina), G2 zopiclona, G3 *Passifloraincarnata* y los grupos G4, G5 y G6 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. Los resultados del estudio preclínico se analizaron mediante un test estadístico Anova y post-estadístico de Tukey HSD 95% de confianza.

Evidenciando 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%. Se concluye que el extracto de flor de badea posee potenciales efectos ansiolíticos, siendo los alcaloides y flavonoides los compuestos responsables de esta actividad. Se recomienda que este estudio sea de interés

terapéutico para elaborar nuevos productos y tratar a pacientes con trastornos de ansiedad.

1.6.4 Actividad tipo-ansiolítico del extracto metanólico de hoja de Rivinahumilis (Phytolaccaceae)-2016- Abril de los Ángeles Aguilar Tirado.

En la actualidad, los trastornos de ansiedad son un problema que afecta a gran parte de la población mundial, siendo más común el de tipo generalizado, caracterizado por una preocupación excesiva e incontrolable por sucesos de la vida. Su tratamiento se basa principalmente en el uso de benzodiazepinas, aunque el empleo de plantas medicinales es extendido a lo largo del mundo; sin embargo, no todas las plantas han sido estudiadas en pruebas conductuales, que validen y/o refuten su uso tradicional. El consumo de su cocimiento se sugiere en el tratamiento del “espanto” y los “nervios”, caracterizados por episodios en que la persona presenta una inquietud o preocupación. No obstante, su aplicación no ha sido validada científicamente, por lo que se planteó como objetivo evaluar la actividad tipo-ansiolítico del extracto metanólico de hoja de Rivinahumilis, en las pruebas conductuales de laberinto de brazos elevados y actividad locomotriz en campo abierto, en ratones de la cepa Balb/C; así como identificar el o los metabolito(s) responsable(s) de la actividad biológica observada. Al respecto, se determinó que dicho extracto (100 mg/Kg) tiene actividad tipo-ansiolítico sin alterar la actividad locomotriz de los individuos. Por otra parte, el extracto fue catalogado como no tóxico en la prueba de toxicidad aguda con *Artemia salina* L. Posteriormente, el fraccionamiento del extracto, mediante columna abierta, produjo cuatro fracciones, de las cuales, la dos (Interfase acetato de etilo/acetona) produce una actividad tipo-ansiolítico, sin alteración de la actividad locomotriz. A partir de dicha fracción, se aisló un metabolito con actividad tipo ansiolítico (100 mg/Kg), sin modificar la actividad locomotriz; cuya estructura química correspondió al 1-metoxi-inositol (pinitol), el cual no había sido aislado previamente de *R. humilis* ni se le había comprobado actividad tipo ansiolítico.

1.7 Bases teóricas

1.7.1 Guayaba (*Psidium guajava* L.)

A. Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: *Psidium*

Especie: *Psidium guajava* L.

Figura N°1: Hojas de guayaba



Fuente:(Dennis. Et. Al. 2008)

Fuente: Rivera Arce

B. Características botánicas

El árbol de guayaba mide de 8 a 9 metros de alto, el tronco torcido, tiene una corteza lisa, marrón-verdoso que se desprende en placas. Las hojas son alargadas, de 8-18 cm de largo, con nervaduras pronunciadas. La flor es blanca, de 2.5 cm de ancho, vistosa. El fruto es redondo, alargado o en forma de pera; mide entre 2.5 y 10 cm de largo; es amarillo-verdoso cuando madura. La pulpa firme, generalmente de color amarillo, encierra una masa jugosa, amarillo rosada con numerosas semillitas duras.⁶

C. Composición química

Los principales componentes de las hojas de guayabo son flavonoides, entre los cuales se encuentran la quercetina y la 3-O-arabinosilquercetina (guyaverina).

⁶Geilfus F. Manual de agroforestería para el desarrollo rural. Turrialba: Costa Rica; 1994. Pág. 23

Taninos, piridoxina, niacina, mirceno, cariofileno, nerolidial, beta bisaboleno, aromancheno, p-selineno, beta sitosterol, triterpenoides, leucociamidinas. Aceites, vitamina A y C, hierro, fósforo y calcio, sales minerales.⁷

D. Usos terapéuticos

1. Usos terapéuticos comprobados

La infusión de hojas y corteza, por su actividad astringente es antidiarreica y antibacteriana, se emplea contra dolores abdominales, disentería, cólicos, inflamación de la boca, faringitis e infecciones respiratorias.⁸

2. Usos populares

La decocción de hojas y corteza sirve para amebiasis, dolor de estómago, parasitismo intestinal, vómitos, anemia, artritis, diabetes, hemorragia, uretritis, asma y resfrió común. La decocción de la raíz se usa para la hidropesía. En baños y lavados es útil para fistulas, leucorreas, piodermia, raspones, tiña, úlceras y enjuagues para lengua hinchada. El fruto se usa para congestión respiratoria y se le atribuyen propiedades astringentes, febrífuga y desinflamante. La resina de sus hojas y corteza se utiliza contra fiebres palúdicas.⁹

1.7.2 Ansiedad

La ansiedad es una sensación normal que experimenta la persona alguna vez en momentos de peligro o preocupación. La ansiedad sirve para poder reaccionar mejor en momentos difíciles. Sin embargo, cuando una persona se encuentra ansiosa con cierta frecuencia sin que parezca haber razón para ello, o cuando esa persona se tensa en exceso, entonces la ansiedad se convierte en un problema que produce sensaciones desagradables. Como la

⁷Desmarchelier C, Witting F. Sesenta plantas medicinales de la Amazonia peruana. 1a ed. Editorial Gráfica Bellido. Lima, 2000. Pág. 56

⁸ Romero P., Fraume F. El milagro de las plantas: aplicaciones medicinales y orofaríngeas. Bogotá: San Pablo; 2005. Pág. 87

⁹ Romero P., Fraume F. El milagro de las plantas: aplicaciones medicinales y orofaríngeas. Bogotá: San Pablo; 2005. Pág. 34

ansiedad es una reacción normal, el objetivo no es hacer que desaparezca, sino aprender a controlarla y reducirla a niveles manejables y adaptativos.¹⁰

A. Neuroquímica de la ansiedad

El sistema neurotransmisor serotoninérgico ha captado la atención de los estudiosos de la ansiedad y la angustia. La serotonina actúa como una ruptura neuroquímica sobre la conducta, de modo que el bloqueo de los receptores de serotonina se asocia con la ansiedad en los humanos.¹¹

La ansiedad es reconocida como uno de los procesos emocionales más importantes con firmes bases neurobiológicas.

B. Causas de la ansiedad

1. Predisposición genética

Una vulnerabilidad biológica primaria condicionada genéticamente se ha encontrado en la mayoría de los trastornos de ansiedad pero con mayor contundencia en el trastorno por pánico, trastorno obsesivo compulsivo y fobia social. Los parientes en primer grado de los pacientes con trastorno por pánico tienen entre cuatro a siete veces más probabilidades de presentar el trastorno. Los parientes de primer grado de pacientes con fobia social tienen más probabilidades de padecer el trastorno.¹²

2. Factores psicosociales

Los estresores psicosociales juegan un papel muy importante en muchos de los trastornos de ansiedad, como factores precipitantes, agravantes o causales. Los problemas de relaciones interpersonales, académicas y laborales, amenazas de pérdidas, necesidades sociales y

¹⁰ López-Ibor JJ, Valdés M. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Barcelona: Masson; 2004. Pág.25

¹¹Clark D., Beck A. Terapia cognitiva para los trastornos de la ansiedad. España: Bilbao; 2012.

¹² Reyes T. Trastornos de ansiedad: Guía práctica para diagnóstico y tratamiento. Honduras: Biblioteca virtual en salud; 2005. Pág. 29

económicas apremiantes, cambios en el sistema de vida, etc. se asocian en la producción de los trastornos de adaptación de tipo ansioso y de la ansiedad generalizada.¹³

3. Factores traumáticos

Enfrentar acontecimientos traumáticos fuera del rango de la experiencia humana normal, como accidentes graves, desastres, asaltos, violaciones, torturas, secuestros, etc., suelen provocar serios daños biológicos cerebrales que se asocian a síntomas graves de ansiedad, como es el caso del estrés agudo y del trastorno de estrés postraumático.¹⁴

4. Factores psicodinámicos

La ansiedad se considera como la respuesta individual a un peligro que amenaza desde dentro en forma de un impulso instintivo prohibido que está a punto de escapar del control del individuo. La ansiedad como señal de alarma provoca que el "yo" adopte medidas defensivas. Si las defensas tienen éxito la ansiedad desaparece y si no sale libremente o se contiene, según el tipo de defensa empleada, puede presentar síntomas conversivos, disociativos, fóbicos, y obsesivocompulsivos.¹⁵

5. Factores cognitivos y conductuales

Se considera que patrones cognitivos distorsionados (sistema de pensamientos negativos) preceden a conductas desadaptadas y trastornos emocionales. La ansiedad se presenta por una sobrevaloración amenazante de los estímulos y una infravaloración de sus potenciales personales. Pacientes con sistemas cognitivos negativos desencadenan ataques de pánico interpretando una palpitación precordial como el aviso de estar a punto de morir de un infarto del miocardio.

¹³ Reyes T. Trastornos de ansiedad: Guía práctica para diagnóstico y tratamiento. Honduras: Biblioteca virtual en salud; 2005. Pág. 30

¹⁴ Reyes T. Trastornos de ansiedad: Guía práctica para diagnóstico y tratamiento. Honduras: Biblioteca virtual en salud; 2005. Pág. 30

¹⁵Kaplan H., Sadock B., Grebb J. Sinopsis de Psiquiatría. 7a. Ed. Estados Unidos; 1994.Pag.30

También, por estímulos externos y por mecanismos de condicionamiento y generalización, se pueden aprender o imitar respuestas o conductas ansiosas de los demás. En un caso concreto tenemos a una niña que con frecuencia observa a su madre que experimenta miedo subirse al ascensor (a raíz de haberse quedado encerrada al faltar el fluido eléctrico) y prefiere utilizar las gradas, aprende a tener fobia a los ascensores.¹⁶

C. Síntomas generales de ansiedad

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.¹⁷

D. Diagnóstico

Se debe recordar que el paciente con trastorno de ansiedad generalizada centrará su consulta y preocupación en síntomas físicos, por lo que se hace necesario preguntar sobre los demás:¹⁸

- Tensión mental: Preocupaciones, sensación de tensión o nerviosismo, dificultades de concentración.
- Tensión muscular: Inquietud, cefalea de tensión, temblores, incapacidad para relajarse.

¹⁶Vásquez J. *Psiquiatría en Atención Primaria*. Madrid; 1998. Pág. 201

¹⁷ Lobo A., Campos R. *Factores etiopatogénicos en: Trastornos de ansiedad en atención primaria*. Madrid: EMISA; 1997. Pág. 36

¹⁸ Vásquez J. *Psiquiatría en Atención Primaria*. Madrid; 1998. Pág. 205

- Síntomas físicos de alarma (hiperactividad vegetativa): Mareos, sudoración, taquicardia, sequedad de boca, molestias epigástricas.

Los síntomas de ansiedad deben de estar presente la mayor parte de los días, durante al menos varias semanas seguidas. Con frecuencia están desencadenados por sucesos estresantes en aquellos pacientes con tendencia crónica a preocuparse.

En los niños el trastorno de ansiedad generalizada se acompaña de quejas somáticas recurrentes y su necesidad constante de seguridad.

E. Tratamiento

1. Tratamiento farmacológico

a. Benzodiazepinas

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 sinónimo de ansiolítico. 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, limitado su empleo y hoy existen importantes condicionamientos para su utilización continuada.¹⁹

- **Mecanismo de acción**

Las benzodiazepinas mimetizan los efectos del GABA. Los receptores para GABA son de varios tipos; los ionotrópicos (GABA_A y GABA_C) y los metabotrópicos (GABA_B). El receptor GABA_A situada en la membrana plasmática del terminal

¹⁹Fernández P. et al. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18a.ed., Madrid: Médica Panamericana; 2008. Pág. 278

postsináptico es el que se relaciona con los receptores de benzodiazepinas. La acción del GABA_A facilita la entrada del ion cloro 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 de las benzodiazepinas que es facilitadora del receptor benzodiazepínico del complejo receptorial GABA_A.²⁰

b. No benzodiazepínicos

• Bloqueantes β-adrenérgicos

Son fármacos eficaces para reducir la ansiedad secundaria a la activación del sistema nervioso simpático. Su indicación en clínica es el tratamiento de enfermedades cardiacas o de la hipertensión. Su empleo en el tratamiento de los trastornos de ansiedad es sintomático.

La eficacia de los b-bloqueantes es notoria en el tratamiento de las manifestaciones orgánicas de la ansiedad, como temblores, taquicardia, palpitaciones, sudación o sofocaciones.

Tienen la ventaja sobre las benzodiazepinas de que no producen dependencia, aunque su empleo en dosis altas, durante periodos prolongados.

• Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRSs)

En este grupo se encuentran catalogados la fluoxetina, la paroxetina y la fluvoxamina, las cuales ejercen efectos antidepresivo y ansiolítico, actuando

²⁰ Fernández P. et al. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18a.ed., Madrid: Médica Panamericana; 2008. Pág. 279

selectivamente en la recaptura del neurotransmisor 5-HT. Los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina son efectivos tanto en el tratamiento de la depresión como de la ansiedad de los tipos obsesivo-compulsivo, trastorno de pánico y fobia social. Sin embargo, a pesar de que varios SSRIs pueden demostrar su eficacia en el tratamiento de GAD, actualmente la paroxetina es el único fármaco de este tipo aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos.²¹

2. Tratamiento no farmacológico

Remedios naturales

Conocidas popularmente como remedios para los nervios infusiones de tila, manzanilla o valeriana. Aunque su evidencia científica no es suficiente, aquellas personas a las que les sienta bien y les es útil para relajarse o facilitar el sueño, tienen en estas infusiones o preparados de herbolario una ayuda sencilla y agradable. Desde hace años se utiliza la melatonina para regular los ciclos del sueño-vigilancia y diferentes estudios muestran que puede ser eficaz para reducir la ansiedad.²²

1.8 Definición de términos básicos

1.8.1 Variables:

- A. Extracto etanólico:** es una sustancia obtenida por extracción de una materia prima, a menudo utilizando un solvente como el etanol.
- B. Efecto ansiolítico:** es aquel que elimina o alivia el síntoma de la ansiedad sin producir sedación o sueño.

²¹ Gorman J. M. Tratamiento del trastorno de ansiedad generalizada (2003) Revista de Psiquiatría Clínica 64: pág. 27.

²² Rapado M. La ansiedad: estrategias prácticas para manejarla paso a paso. Barcelona: Robinbook; 1997. Pág. 78.

1.8.2 Dimensiones:

- A. **Ensayo fitoquímico:** Estudio de los principios activos de las plantas, especialmente de los metabolitos secundarios y que pueden tener aplicación en la medicina o industria.
- B. **Análisis fisicoquímico:** son aquellas características básicas de una sustancia que sirve como indicador de calidad del mismo.
- C. **Prueba de campo abierto:** es una de las pruebas más antiguas, simples y ampliamente utilizadas en psicofarmacología. Se usa concretamente en ratas.

1.8.3 Indicadores:

Indica cómo medir cada uno de los factores de la variable.

- A. **Ensayo de shinoda:** prueba para reconocimiento para flavonoides
- B. **Ensayo de Lieberman bouchard:** ensayo de reconocimiento para terpenos.
- C. **Ensayo de espuma:** prueba para reconocimiento para saponinas.
- D. **Ensayo de FeCl_3 :** prueba para reconocimiento para taninos.
- E. **Ensayo de sudan:** prueba para reconocimiento para grasas y/o aceites.
- F. **Ensayo de Fehling A y B:** prueba para la identificación de azúcares reductores.
- G. **pH:** El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una muestra.
- H. **Densidad:** estima la cantidad de sustancias presentes en la solución.
- I. **Índice de refracción:** Es un valor útil para determinar la concentración de determinadas sustancias disueltas en solución.
- J. **Sólidos totales:** permite estimar los contenidos de materias disueltas y suspendidas presentes en una solución.

1.8.4 Unidad de análisis:

Es la unidad indivisible del cual se obtienen los datos de las variables e indicadores de la investigación.

CAPÍTULO II

HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1 Hipótesis

De acuerdo a la información científica consultada sobre la guayaba, presenta metabolitos secundarios como flavonoides y terpenos a cuyos metabolitos se les atribuye el efecto ansiolítico, por lo tanto; es probable, que el extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*), tenga efecto ansiolítico.

Hipótesis alterna

H1: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*), si presenta efecto ansiolítico sobre ratas (*Rattus wistar*).

Hipótesis nula

Ho: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*), no presenta efecto ansiolítico sobre ratas (*Rattus wistar*).

2.2 Variables e indicadores

Cuadro N° 1: Operacionalización de variables

Variables	Dimensión	Indicadores	Ítems	Escala	Categorización
V.I. Extracto etanólico	Características organolépticas	Color	1	Nominal	Cualitativa
		Olor	1		
		Sabor	1		
	Ensayos Fitoquímicos	Ensayo de Shinoda	1	Nominal	Cualitativa
		Ensayo de Lieberman burchard	1	Nominal	Cualitativa
		Ensayo de la espuma	1	Nominal	Cualitativa
		Ensayo de FeCl ₃	1	Nominal	Cualitativa
		Ensayo de sudan III	1	Nominal	Cualitativa
		Ensayo de Fehling A y B	1	Nominal	Cualitativa
		pH	1	Continua	Cuantitativa
	Ensayos Fisicoquímicos	Densidad	1	Continua	Cuantitativa
		Índice de refracción	1	Continua	Cuantitativa
		Sólidos totales	1	Continua	Cuantitativa
V.D. Efecto ansiolítico	Prueba de campo abierto	Número de veces de cruce por el cuadrado central	3	Discreta	Cuantitativa
Número de cuadrados deambulados					
Número de posiciones verticales					

Fuente: elaboración propia

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Diseño metodológico

3.1.1 Tipo de investigación

Investigación de tipo cuasi-experimental, según el número de veces en que se mide la variable es transversal y según la planificación de la toma de datos prospectivo.

3.1.2 Nivel de investigación.

Es de nivel explicativo

3.1.3 Método de la Investigación

A. Identificación de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.).

Los ensayos de reconocimiento botánico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) se realizaron en la Facultad de Ciencias Biológicas, *HERBARIUM AREQVIPENSE* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, mediante un análisis microscópico y macroscópico.(ANEXO II)

B. Recolección y acondicionamiento de material vegetal

Luego de la recolección se acondiciono la materia vegetal el cual se basó en la preparación de la muestra vegetal, lavado, desinfección, secado y molienda.

La recolección es el acto de tomar los materiales farmacéuticos de las plantas medicinales dependiendo la misma, de la parte del material biológico a utilizar. Dentro de la recolección está la elección que consiste en escoger entre varios individuos de una misma especie aquellos materiales más aptos para la preparación de los medicamentos.²³ Se recolectaron 800 gramos de hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) los cuales se obtuvieron en el distrito de Nicolás de Piérola San Gregorio de la provincia de Camaná (a 72 m.s.n.m.) departamento de Arequipa.

Como etapa siguiente se lavó la materia vegetal recolectada y en seguida se desinfectó con hipoclorito de sodio. El hipoclorito de sodio al 1% reduce la carga bacteriana de las hojas de guayaba.²⁴

Luego se realizó la desecación; este proceso consiste en privar a la planta del agua, evitando por tanto alteración con el tiempo²⁵. El procedimiento utilizado para eliminar el agua de la materia vegetal fue a temperatura de ambiente mediante la desecación natural al aire libre bajo la sombra.²⁶

Posteriormente se realizó la molienda que tiene como objetivo la disminución del tamaño de las partículas de la droga vegetal para adecuarla a la etapa siguiente del proceso de extracción. La extracción de una droga entera o dividida en fragmentos gruesos sería incompleta debido a la pobre penetración del solvente en el tejido vegetal, ya que las membranas celulares actúan como verdaderas barreras que dificultan el proceso de

²³Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos: 1a. ed. Colombia: Bogotá; 2000. Pág. 22

²⁴Martínez M., Cuéllar A. Farmacognosia y productos naturales. 1ra Edición. Cuba: Editorial Félix Varela; 2001. Pág. 40.

²⁵Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad de la Habana Instituto de Farmacia y alimentos. Cuba: Habana; 1996. Pág. 43

²⁶Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega S.A.; 2003. Pág. 15.

extracción. Mientras más pequeñas sea el tamaño de partícula tendrá mayor superficie de contacto con el disolvente.²⁷

Procedimiento

- La recolección se llevó a cabo en horas de la tarde a las 16:30 pm del día 20 de agosto del 2017, la recolección se realizó en bolsas de papel kraft.
- Para el lavado de las hojas se usó agua a chorro, para luego desinfectarlas con hipoclorito de sodio al 1%.
- Se procedió a enjuagar las hojas de guayaba con agua destilada.
- Para el secado de las hojas se colocó en bandejas de plástico con papel kraf a temperatura de ambiente y bajo la sombra, el secado fue durante tres semanas.
- Luego se procedió a pulverizar con la ayuda de un mortero hasta lograr finos fragmentos.
- Se guardó la muestra en un frasco ámbar en un lugar fresco y seco, hasta su posterior uso.

C. Control de calidad a la materia prima

1. Determinación de humedad

Se utilizó el método gravimétrico, que se basa en la pérdida de peso de la muestra por calentamiento en estufa, y se expresa en porcentaje. Los límites de humedad de acuerdo a las farmacopeas son 8-14%.²⁸

Procedimiento

- Se pesó placas Petri
- Se pesó 1 gramo de muestra previamente fragmentada.
- Se colocó la muestra en la placa Petri y se llevó a la estufa a una temperatura de 105 °C x 1 hora.

²⁷Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos Fitoterapéuticos: 1a. ed. Colombia: Bogotá; 2000. Pág. 28-29.

²⁸ García J. Auxiliares de laboratorio de la xuntade Galicia. 1a. ed. España; MAD: 2006. Pág. 195.

- Luego se sacó de la estufa y se colocó en el desecador durante 10 minutos.
- Repetir el procedimiento de secado hasta obtener un peso constante.
- Se realizó los cálculos.

2. Determinación de cenizas

Se realizó mediante el método de calcinación, para lo cual se hizo uso de una mufla a temperaturas que oscilan entre 500 y 600 °C. El proceso consiste en determinar la cantidad de residuo no volátil después de la calcinación de la droga ya que el agua y sustancias volátiles son evaporadas.²⁹

Procedimiento

- Se pesó el crisol en balanza analítica y aparte se pesó 2 gramos de muestra.
- Se preincineró la muestra exponiéndola a la flama del mechero de Bunsen.
- Luego se llevó la muestra incinerada a la mufla a una temperatura de entre 550°C durante 8 horas.
- Finalmente se pesó el crisol con cenizas y se realizó los cálculos.

D. Obtención del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*)

El proceso de extracción se realizó mediante el método de disolución, extracción con solventes mediante maceración, para generar extracción discontinua, que consiste en poner en contacto la droga seca triturada con el disolvente a temperatura de ambiente manteniéndolo en agitación diaria. Los principios activos deben pasar de la droga al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido. Posteriormente

²⁹Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos Fitoterapéuticos: 1a. ed. Colombia: Bogotá; 2000. Pág. 149.

dicho extracto se puede concentrar eliminando mayor o menor cantidad de disolvente.³⁰

Procedimiento

- Se pesó 200 gramos de hojas de guayaba molidas.
- Se colocó en un frasco de color ámbar.
- Luego se le añadió etanol hasta cubrir la muestra exactamente 400 mL.
- Se dejó macerar en un lugar oscuro durante el periodo de quince días con agitación diaria.
- Después de los quince días de maceración, se procedió a filtrar.
- Finalmente se procedió a concentrar el extracto obtenido.

E. Preparación de diluciones a partir del extracto obtenido de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.).

- A partir del extracto etanólico concentrado se realizaron tres diluciones; al 30%, 50% y 80% para la administración a los animales de experimentación.
- Para el control positivo se administró 0,8mg/kg de peso de diazepam, dosis terapéutica para la ansiedad.³¹
- Para el control negativo se administró agua destilada.

F. Características organolépticas del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.).

Es una prueba objetiva que se basa en la percepción a través de los sentidos del investigador.³²

1. Color:

³⁰Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega S.A.; 2003. Pág. 34.

³¹Machado J., Cárdenas M., Rodríguez M. Farmacopendio: Incluye dosificaciones pediátricas. Colombia: Medica Celsus; 2015.Pág.503.

³²Martínez M., Cuéllar A. Farmacognosia y productos naturales. 1ra Edición. Cuba: Editorial Félix Varela; 2001, Pág. 139

Se procedió a colocar el extracto etanólico en un tubo de ensayo y se observó el color a tras luz.

2. Olor:

Se tomó una tira de papel filtro de aproximadamente 1 cm. de anchura por 10 cm. de longitud y se introdujo un extremo en la muestra y se procedió a oler.

3. Sabor:

Se tomó una alícuota y a través del sentido del gusto se probó el extracto.

G. Ensayos fitoquímicos cualitativos al extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.).

1. Ensayo de Shinoda para el reconocimiento para flavonoides

Se fundamenta en la formación de quelatos entre flavonoides y el magnesio metálico, dando lugar a la aparición de diferentes coloraciones que dependen de la estructura química del flavonoide presente. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo, intensos en todos los casos.³³

Procedimiento

- Tomar 1 mL. de la muestra del extracto etanólico de las hojas de guayaba y colocar en un tubo de ensayo.
- Añadir un pequeño trozo de cinta de magnesio.
- Luego agregar unas gotas de ácido clorhídrico concentrado.
- Se considera la reacción positiva a la aparición de una coloración naranja.

³³Lock, O. Investigación Fitoquímica: método en el estudio de productos naturales. Perú: Pontificia Universidad Católica; 1988. Pág. 56

2. Prueba de Libermann Burchard para terpenos

Ocurre una deshidratación con formación de doble enlace, conjugado a un segundo doble enlace, lo que da un producto coloreado.³⁴

Procedimiento

- Agregar a la muestra la mezcla de 1 mL de cloroformo y 1 mL de anhídrido acético.
- Mezclar y agregar por las paredes del tubo de ensayo 3-4 gotas de ácido sulfúrico concentrado.
- Una coloración azul, verde oscuro indica la presencia de triterpenos y/o esteroides.

3. Ensayo de espuma para saponinas

Se realizó a través de la determinación del índice de Espuma el cual se basa en disminuir la tensión superficial del agua, formando espuma abundante.³⁵

Procedimiento

- Se tomó 1 mL de extracto obtenido, se agitó durante un minuto.
- Luego se observó, la cantidad y persistencia de la espuma formada,
- Si se forma abundante espuma estable aproximadamente 5 minutos se considera positiva de la presencia de saponinas en la muestra.

4. Identificación de taninos

³⁴Lock O. Investigación Fitoquímica: método en el estudio de productos naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica; 1988. Pág. 45

³⁵Kuklinsky Cl. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 2da Edición. España: Editorial Omega; 2006. Pág. 116

La identificación se realizó con tricloruro férrico, esta prueba se fundamenta en que al reaccionar los taninos con el FeCl_3 van a formar complejos de Fe^{+3} produciendo diferentes coloraciones (verde a azul) dependiendo de los taninos presentes.³⁶

Se tomó 1 mL de extracto, se le añadió 0.5 mL de Solución de FeCl_3 5%.

5. Ensayo de Sudan III

El reconocimiento se realizó mediante el ensayo de sudan III, los lípidos se colorean selectivamente de rojo-anaranjado con el colorante Sudán III.³⁷

Procedimiento

- Se añadió a un 1 ml de muestra 4 gotas de solución alcohólica de Sudán III.
- Se agito el tubo y se dejó reposar.
- Se observó el cambio de coloración

6. Ensayo de Fehling A y B

Se basa en el poder reductor del grupo carbonilo de un aldehído que pasa a ácido reduciendo la sal cúprica de cobre (II), en medio alcalino, a óxido de cobre (I). Éste forma un precipitado de color rojo.³⁸

Procedimiento

- Se mezcló en un tubo de ensayo 0.5 mL Fehling A y 0.5 mL de Fehling B, se agito y calentó aproximadamente 1 minuto se añadió 0.5 mL del extracto y se llevó a ebullición durante un minuto.

³⁶Kuklinsky Cl. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 2da Edición. España: Editorial Omega; 2006. Pág. 115

³⁷Salama A. Manual de farmaconogsia; análisis microscópico y fitoquímico, y uso de plantas medicinales. 1a. ed. Colombia: Bogotá; 2005. Pag.41.

³⁸Lock O. Investigación Fitoquímica: método en el estudio de productos naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica; 1988. Pág. 47

- Si se reduce el cobre se forma un precipitado de Cu_2O de color rojizo.

H. **Parámetros fisicoquímicos del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.).**

1. **Medición del pH**

La medición del pH se realizó mediante el método de potenciómetro, haciendo uso del potenciómetro un instrumento que tiene un sensor (electrodo) que utiliza el método electroquímico para medir el pH de una disolución. El pH consiste en medir el potencial que se desarrolla a través de una fina membrana de vidrio que separa dos soluciones con diferente concentración de protones.³⁹

Procedimiento

- Antes de medir el pH del extracto hojas de guayaba, el equipo fue calibrado.
- Se tomó 10mL de la muestra del extracto etanólico obtenido.
- Se colocó 10mL en vasos de precipitado para luego introducir el sensor (electrodo) para medir la concentración de iones H^+ en el extracto.
- Esta prueba se realizó por triplicado. (ANEXO IV)

2. **Determinación de la densidad**

La determinación de la densidad se realizó mediante el método de picnometría, para ello se hizo el uso del picnómetro que es un pequeño frasco de vidrio de volumen exacto y conocido. Se pesa en vacío, luego se llena completamente con el líquido cuya densidad se desea

³⁹Patiño M., Valdés N. Química básica: prácticas de laboratorio. Colombia: Instituto tecnológico metropolitano: 2008. Pág. 234

determinar y finalmente se pesa. Con estos datos se puede calcular la densidad del líquido.⁴⁰

Procedimiento

- Se midió la masa del picnómetro vacío, teniendo en cuenta que este seco y limpio y tarar la balanza. Después se llenó con agua hasta el aforo y se pesó de nuevo.
- Luego se llenó completamente el picnómetro con el extracto etanólico de las hojas de guayaba obtenido, en seguida se colocó el tapón teniendo cuidado de que no haya burbujas y que no esté mojado por fuera.
- Seguidamente se pesó el picnómetro conteniendo el extracto etanólico.
- La medición se hizo a temperatura de ambiente en el laboratorio.
- Los cálculos para hallar la densidad se realizaron usando una fórmula (ANEXO VI)
- De igual forma esta prueba se realizó por triplicado.(ANEXO V)

3. Sólidos totales

Se realizó mediante el método de evaporación del solvente a una temperatura de 105°, la determinación de los sólidos totales permite estimar los contenidos de materias disueltas y suspendidas presentes en una solución.⁴¹

Procedimiento

- Se tomó 1mL de la muestra y se colocó a una cápsula de porcelana limpia, seca y previamente tarada.

⁴⁰Osorio R. Manual de técnicas del laboratorio.1a. ed. Colombia: Universidad de Antioquia; 2009. Pág. 190.

⁴¹ Correa C. Fenómenos químicos. 2a. ed. Colombia; Medellín: 2004. Pág. 154.

- La cápsula se colocó en un baño de agua y se evaporó hasta que el residuo estuvo aparentemente seco y se pesó.
- Se repitió el proceso anterior, hasta obtener una masa constante.

4. Índice de refracción

Viene dado por la relación entre la velocidad de la luz en el aire y la velocidad en la sustancia de ensayo. Para su determinación se emplea un refractómetro. Es un valor útil para determinar la concentración de determinadas sustancias disueltas en solución.

Procedimiento

Se tomó unas gotas del extracto de las hojas de guayaba y se colocó en el refractómetro y se hizo la lectura.

I. Evaluación del efecto ansiolítico

Se realizó mediante la prueba de campo abierto, el espacio es dividido en cuadros y cada animal es evaluado individualmente, siendo colocado siempre en la misma posición inicial. La conducta de ansiedad en el campo abierto es provocada por dos factores: la evaluación individual y agorafobia. Altos niveles de ansiedad conducen al individuo a disminuir la proporción entre la frecuencia de cruce del cuadro central respecto al número de cuadros cruzados en la periferia y el aumento en la frecuencia vertical. Generalmente, la prueba dura cinco minutos.⁴²Tanto ratas como ratones caminan cerca de las paredes, lo cual se denomina tigmotaxis.⁴³

⁴²Bourin M., Petit De Moliere B. Modelos animales de ansiedad en ratones. *Farmacología Fundamental y Clínica*: 2013; (21): 567-574.

⁴³Prutt L., Belzung C. El campo abierto como un paradigma para medir los efectos del fármaco son similares a los comportamientos de ansiedad: *European Journal of Pharmacology* 463: pag.33.

Para esta prueba se utilizó una caja cuadrada con las siguientes medidas; 72×72cm, con 36 cm de altura, fue elaborada con fórmica, el piso se dividió en 16 cuadrados iguales de 18×18 cm de color negro. Una de las paredes estaba hecha de un material transparente para que las ratas puedan ser visibles.⁴⁴

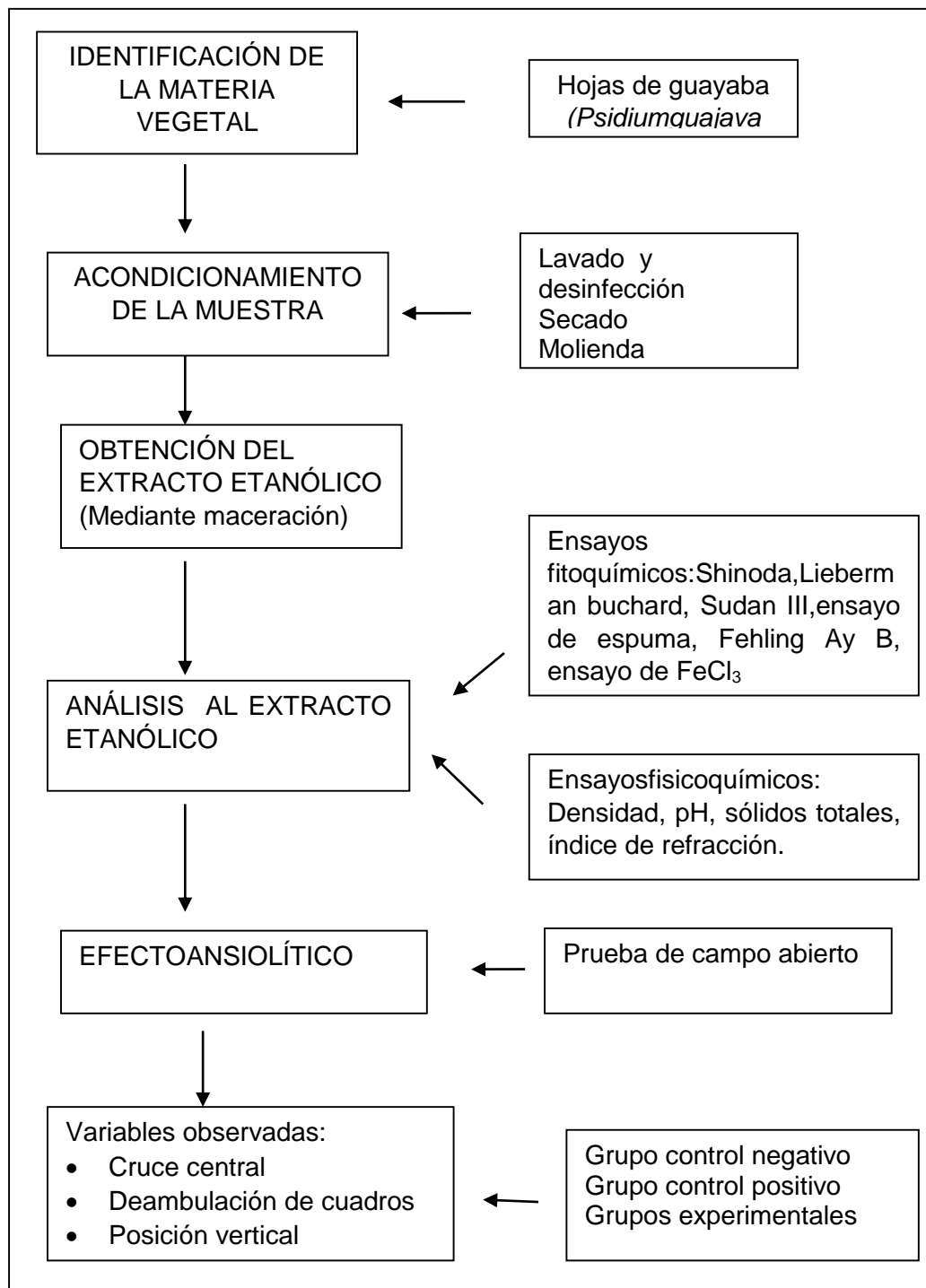
Procedimiento

- Para empezar la prueba de campo abierto se separó a los animales en cinco jaulas con seis ratas cada una.
- Luego se procedió a pesar cada una de ellas.
- La administración de los tratamiento fue de 0,5 mL y 0,3 mL por vía oral con la ayuda de la una cánula metálica.
- 30 minutos después de administrar el tratamiento los animales fueron colocados en el cuadro central de la caja para empezar la prueba de campo abierto, permitiéndoles explorar el aparato durante 5 minutos,
- Se observó y contó la frecuencia de las siguientes conductas: cruce central, deambulación de cuadrados y posición vertical.

⁴⁴Brown, R. Ansiedad, comportamiento exploratorio y actividad motora en 14 cepas puras de ratones. Base de datos de ratón de laboratorio de Jackson. (California) 2013; (1): pág. 34-50.

3.1.4 Diseño de la investigación

Cuadro N° 2: Diseño de la investigación



Fuente: elaboración propia

3.2 Diseño muestral

3.2.1 Muestra

Extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*).

Las hojas de recolectaron de la provincia de Camaná, para lo cual se usaron criterios de inclusión y exclusión:

- Inclusión: hojas frescas, no dañadas.
- Exclusión: hojas secas, dañadas.

3.2.2 Tamaño de la muestra representativa

Se tomó 800 gramos de hojas frescas de guayaba con un muestreo no probabilístico intencional a criterio del investigador, luego se realizó el secado y molienda utilizándose 200 gramos, lo que sirvió para la preparación del extracto junto con 400 mL de etanol para obtener un concentrado de 50 mL, el cual fue utilizado para hacer la evaluación del efecto ansiolítico en 18 ratas agrupadas en tres grupos de seis considerando las diluciones de 30%, 50% y 80% y dos grupos control positivo y negativo.

3.3 Técnicas de recolección de datos

3.3.1 Instrumentos

- La observación
- Ficha de recolección de datos
- Picnómetro
- Potenciómetro

3.3.2 Fuentes primarias: El reconocimiento botánico de las hojas de guayaba se realizó en la Facultad de Ciencias Biológicas, *HERBARIUM AREQVIPENSE*(HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, mediante un análisis microscópico y macroscópico, el análisis organoléptico, los ensayos fitoquímicos de reconocimientos, ensayos físicos y la prueba de campo abierto para medir la ansiedad en ratas, realizados en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas Filial Arequipa.

3.3.3 Fuentes secundarias: Se utilizaron libros y artículos de investigación estos últimos no mayor a cinco años de antigüedad.

3.3.4 Cobertura de Estudio

Material biológico de análisis

Se emplearon 30 ratas (*Rattus wistar*) machos de cuatro meses de edad, de 250 a 310 gramos de peso corporal para la evaluación que se obtuvieron del Bioterio de la Universidad Católica de Santa María. (ANEXO N° III)

Para lo cual se utilizaron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Inclusión: animales machos de la especie *Rattus wistar* de 250 a 310 gramos de peso, de 4 meses de edad.

Exclusión: animales hembras.

Se alojaron en un ambiente adecuado con condiciones de temperatura adecuados, con alimentación a base de maíz y agua que fueron administrados a libre demanda.

3.4 Técnicas estadísticas para el procesamiento de la investigación

Para procesar los datos obtenidos en el presente trabajo de investigación se utilizó cuadros y gráficos y posteriormente se utilizó el estadístico ANOVA para validar la hipótesis alterna planteada.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 Análisis e interpretación de los resultados

Para iniciar el trabajo se recolectó las hojas de guayaba y su reconocimiento botánico se realizó en la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; los resultados de pueden apreciar en anexos, posteriormente, se realizaron los controles de calidad a las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*).

Cuadro N° 3: Control de calidad a las hojas secas de guayaba (*Psidium guajava L.*).

Parámetros	Resultados
Humedad	5.93%
Cenizas	9.5 %

Fuente: elaboración propia

El valor de humedad hallado de las hojas de guayaba fue de 5.93% el cual es ideal de acuerdo a la bibliografía revisada. En cuanto al valor de cenizas

hallado fue de 9.5%. Las cenizas dan una idea del contenido en materia mineral de la planta, que suele ser alrededor del 5%.

Posteriormente se realizó las pruebas organolépticas del extracto como parte de la caracterización del concentrado obtenido después del proceso de extracción por maceración, los resultados se pueden observar en el cuadro N° 4.

Cuadro N°4: Análisis organoléptico del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.)

Caracteres organolépticos	Resultados
Color	Verde
Olor	Característico
Sabor	Amargo-astringente

Fuente: elaboración propia

Los resultados del extracto de las hojas de guayaba muestran una coloración verde, esta prueba fue de naturaleza cualitativa y según la percepción del investigador, de igual modo sucede con el sabor que fue amargo-astringente, por lo que podemos presumir que podría tratarse de la presencia de fenoles, entre ellos; flavonoides que dan esta particular característica, sin embargo, con este tipo de prueba no podemos aseverar la presencia de estos compuestos y para afirmar la presencia de flavonoides, se realizaron ensayos fitoquímicos que nos permitieron identificar estos metabolitos así como también terpenos.

Los resultados realizados para la identificación de metabolitos secundarios como terpenos y flavonoides, se pueden observar en el cuadro N ° 5.

Cuadro N° 5: Identificación de metabolitos secundarios y primarios en el extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.).

Metabolitos	Ensayos	Reacción positiva	Resultado
Flavonoides	Shinoda	Rojo naranja con precipitado	+++
Terpenos	Lieberman-bouchard	Verde intenso	++
Taninos	Tricloruro férrico	Coloración verde azulado	++
Saponinas	Ensayo de espuma	Formación de espuma	+
Aceites y/o grasas	Sudan III	Coloración rojiza	+
Azúcares reductores	Fehling A Fehling B	Precipitado naranja	+

Fuente: elaboración propia

Leyenda: (+)= poco (++)= regular (+++)=abundante

Los resultados obtenidos tras la realización de los ensayos de reconocimiento de metabolitos secundarios dieron positivo, ya que presentaron cambios en la coloración en los ensayos realizados pudiendo suponer que estos metabolitos han sido los responsables del efecto ansiolítico, ya que los estudios realizados a al extracto hidroalcohólico de la flor de badea (*Passiflora quadrangularis*), por la investigadora Rea Lara, Viviana Elizabeth, demuestran que dichos metabolitos son los responsables del efecto ansiolítico.

Además se determinaron parámetros fisicoquímicos como parte de la caracterización del extracto observándose en el cuadro N° 6.

Cuadro N° 6: Parámetros fisicoquímicos del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.).

Parámetros fisicoquímicos	Resultados
Densidad g/mL	0,8547 ^a
pH	4.66 ^a
Índice de refracción	30 ^a
Sólidos totales	10.76 ^a

Fuente: elaboración propia

a: muestra se trabajó por triplicado

La densidad hallada mediante picnometría del extracto concentrado de las hojas de guayaba en comparación con la densidad del etanol, se puede notar diferencias.

En cuanto a los valores de pH hallados se pueden apreciar diferencias como en el caso del etanol puro de 96° que bibliográficamente tiene un pH débilmente alcalino en comparación con el extracto concentrado obtenido que fue un pH ácido, lo que es probable que la presencia de metabolitos secundarios como los flavonoides y terpenos hayan influido en la variación del pH.

Los sólidos totales encontrados demuestran la presencia de sustancias en el extracto etanólico de las hojas de guayaba.

El índice de refracción nos muestra la presencia de aceites esenciales.

Como parte de la etapa de la evaluación del efecto ansiolítico, se tuvo que hacer un control cuidadoso de peso para la administración del medicamento ya que como se trabajó con diazepam de 10 mg; para nuestro control positivo, se tuvo en cuenta la relación dosis vs peso. También se consideró la administración mínima en mililitros de las diluciones realizadas a partir del extracto concentrado para evitar un daño gástrico al animal.

Los resultados se pueden observar en el cuadro N° 7.

Cuadro N° 7: Control de pesos de ratas (*Rattus wistar*)

Grupos de estudio	Peso de ratas en gramos
G5	263.28
G1	278.16
G2,G3,G4	279.46

Fuente: elaboración propia

Leyenda: G1=Grupo 1 control negativo, G2=Grupo 2 experimental, G3=Grupo 3 experimental, G4=Grupo 4 experimental, G5=Grupo 5 control positivo .

Para la evaluación de la prueba de campo abierto, se consideró una correcta administración del extracto así como las sustancias controles, para lo cual se utilizó una cánula metálica para evitar la pérdida de dosis por insalivación del animal, el tiempo administración fue media hora antes ya que este es el tiempo aproximado donde la sustancia alcanza su máxima concentración plasmática.

Una de las conductas que se midió en la prueba de campo abierto fue el número de veces de que el animal cruza por el cuadrado central, lo que puede observarse en el cuadro N° 8.

Cuadro N° 8: Número de veces que el animal cruza el cuadrado central en la prueba de campo abierto.

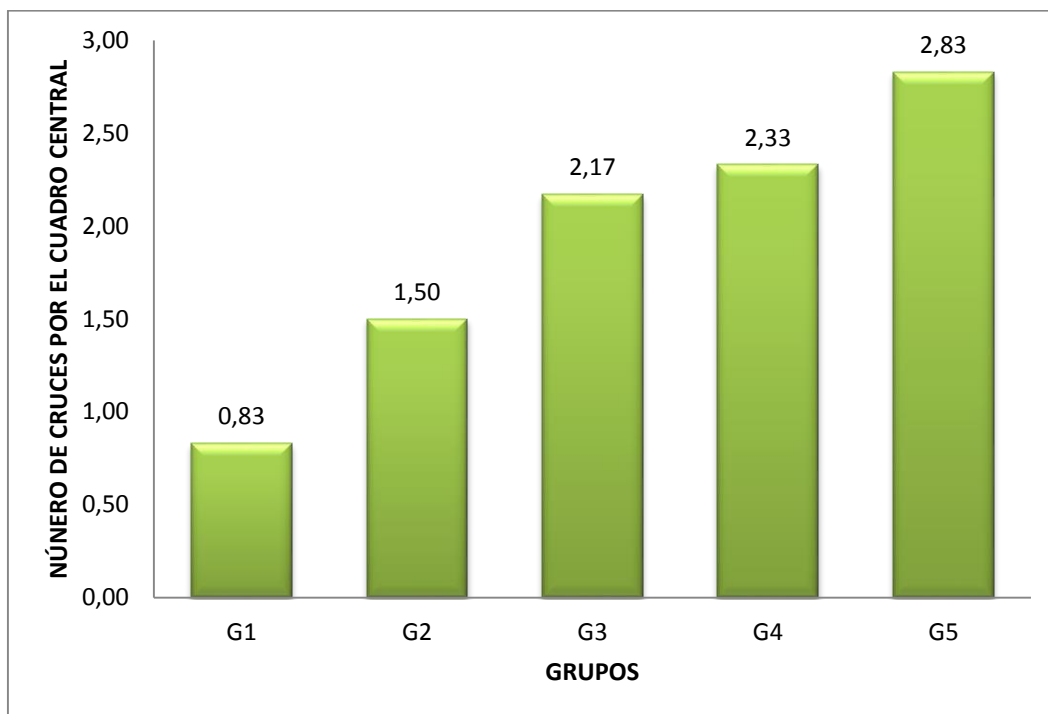
Grupos de estudio	Número de cruces por el cuadrado central
G1	0.83 ^a
G2	1.50 ^a
G3	2.17 ^a
G4	2.33 ^a
G5	2.83 ^a

Fuente: elaboración propia

a: seis animales por grupo

Leyenda: G1=Grupo 1 control negativo, agua destilada, G2=Grupo 2 experimental extracto al 30%, G3=Grupo 3 experimental extracto al 50 %, G4=Grupo 4 experimental extracto al 80 %, G5=Grupo 5 control positivo diazepam 10 mg tabletas.

Gráfico N° 1: Número de veces que el animal cruza el cuadrado central en la prueba del campo abierto.



Fuente: Cuadro N° 8: elaboración propia

Los resultados indican que mientras mayor sea el número de veces que el animal ingresa al cuadrado central es indicativo que la ansiedad disminuye, perdiendo el interés por escapar lo que se puede apreciar en los grupos G2, G3 y G4 que fueron los grupos experimentales tratados con el extracto al 30%, 50% y 80%; quienes cruzaron con mayor frecuencia el cuadrado central de la caja en comparación con el G1 (control negativo) que fue menor, lo que indica que hubo una disminución de ansiedad ya que los roedores prefieren permanecer de manera espontánea en la periferia de la caja en lugar de la parte central del campo abierto. Y según el estadístico aplicado (ANOVA) el valor de p hallado fue de 0.000271, por lo tanto se puede establecer diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio. (ANEXO XII)

Otra conducta observada en la prueba de campo abierto, fue la deambulación de cuadrados, cuyos resultados se pueden observar en el cuadro N°9.

Cuadro N° 9: Número de deambulación de cuadrados que el animal realiza en la prueba de campo abierto.

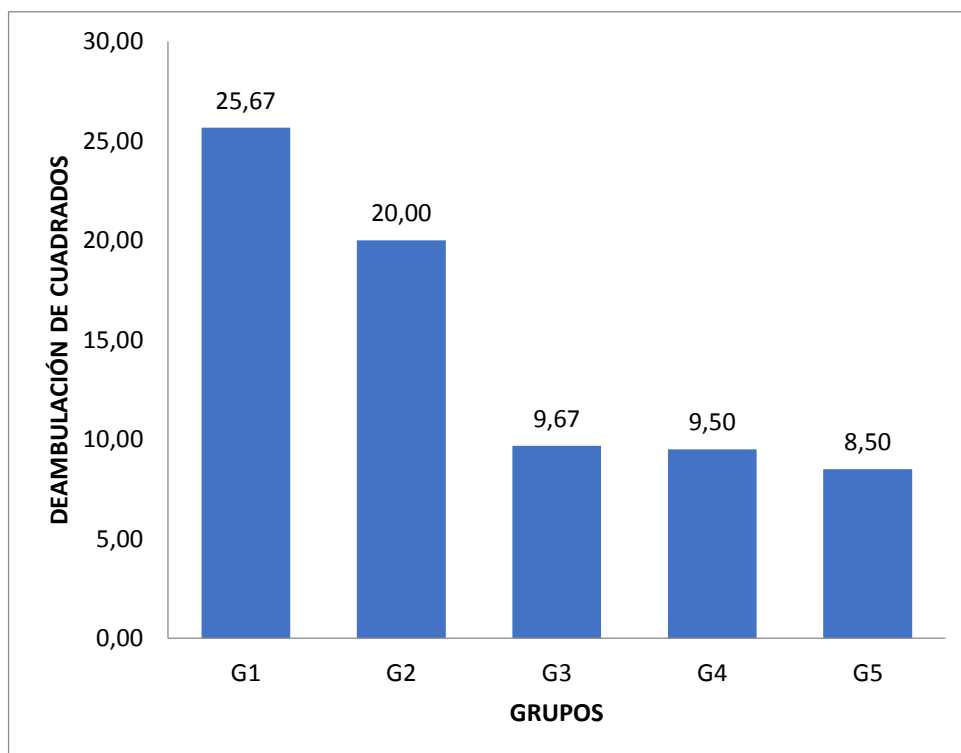
Grupos de estudio	Número de deambulación de cuadrados
G1	25.67 ^a
G2	20.00 ^a
G3	9.67 ^a
G4	9.50 ^a
G5	8.50 ^a

Fuente: elaboración propia

a: se trabajó con grupos de seis

Legenda: G1=Grupo 1 control negativo, agua destilada, G2=Grupo 2 experimental extracto al 30%, G3=Grupo 3 experimental extracto al 50 %, G4=Grupo 4 experimental extracto al 80 %, G5=Grupo 5 control positivo diazepam 10 mg tabletas

Gráfico N° 2: Deambulación de cuadrados que el animal realiza en la prueba de campo abierto.



Fuente: Cuadro N° 9

En los grupos G2, G3, G4 que son los grupos experimentales en comparación con el G1 que fue el grupo control negativo (agua destilada) se puede notar una disminución en cuanto a la deambulaci3n de cuadrados, y la frecuencia m1s baja en la deambulaci3n de cuadrados se observ3 en el G5 que fue el control positivo (diazepam), por tanto, se puede indicar que existe una disminuci3n de la ansiedad y este efecto es proporcional a la concentraci3n del extracto, mientras mayor concentraci3n mayor efecto ansiol3tico es mayor por la disminuci3n en la deambulaci3n de cuadrados que mostro el animal en esta prueba.

Este resultado coincide con el trabajo de investigaci3n realizado por Abril de los 1ngeles Aguilar, en donde tambi3n hubo una disminuci3n en la deambulaci3n de cuadrados.

Para comprobar esta afirmaci3n se aplic3 el estadístico ANOVA y el valor de p hallado fue 5.1136 E-12, menor a 0.05 lo que indica que si diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio. (ANEXO XII).

Tambi3n se observ3 la conducta o posici3n vertical de los animales en la prueba de campo abierto cuyos resultados se pueden observar en el cuadro N3 10.

Cuadro N3 10: N3mero de conductas verticales que el animal realiza en la prueba de campo abierto.

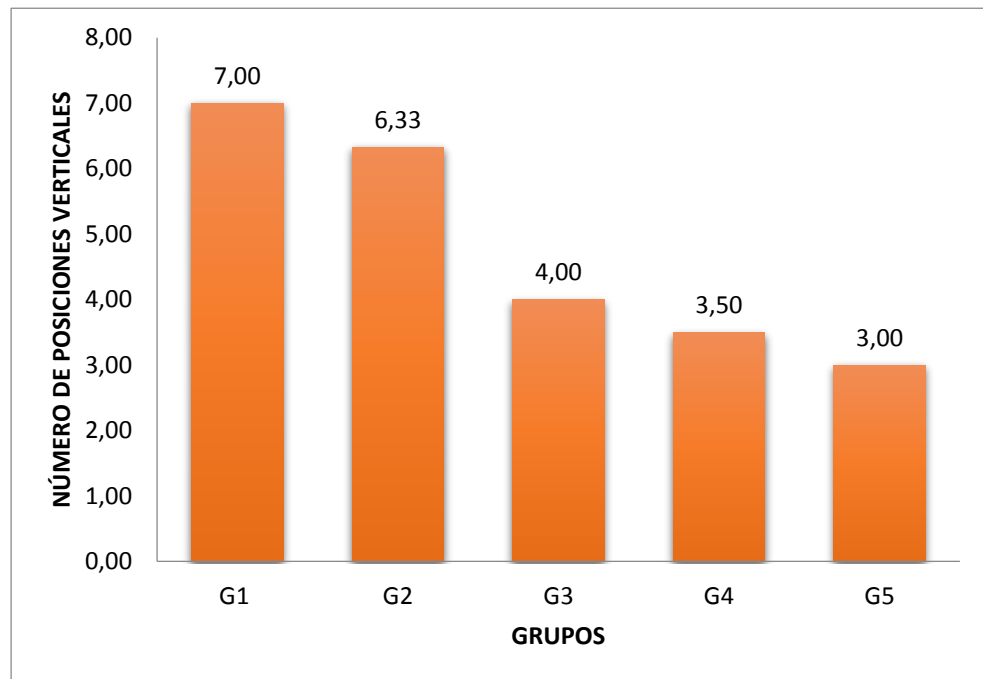
Grupos de estudio	N3mero de conductas verticales
G1	7.00 ^a
G2	6.33 ^a
G3	4.00 ^a
G4	3.50 ^a
G5	3.00 ^a

Fuente: elaboraci3n propia

a: se trabaj3 con grupos de seis

Leyenda: G1=Grupo 1 control negativo, agua destilada, G2=Grupo 2 experimental extracto al 30%, G3=Grupo 3 experimental extracto al 50 %, G4=Grupo 4 experimental extracto al 80 %, G5=Grupo 5 control positivo diazepam 10 mg tabletas.

Gráfico N° 3: Conductas verticales que el animal realiza en la prueba de campo abierto.



Fuente: Cuadro N° 11

Los resultados obtenidos que se muestran en el cuadro y gráfico expresan que la conducta vertical de los roedores fue mayor en el caso del G1 que fue nuestro control negativo en comparación con grupos G2, G3 y G4 que fueron los experimentales y el grupo G5 que presentó menor frecuencia de posiciones verticales en comparación con los otros grupos de estudio; este resultado coincide con la teoría que nos dice que a menor frecuencia de posiciones verticales hay una disminución en la ansiedad de los animales por la inhibición del sistema nervioso.

Este resultado se confirmó con la prueba de estadístico ANOVA ya que el valor hallado de p fue de 0.01 valor inferior a 0.05 lo cual nos indica que si existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio. (ANEXO XII)

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Para la evaluación del efecto ansiolítico de las hojas de guayaba se realizaron distintas pruebas de caracterización al extracto etanólico, tales como pruebas fisicoquímicas, análisis organoléptico y ensayos fitoquímicos para el reconocimiento de taninos, saponinas, aceites, azúcares reductores, flavonoides y terpenos y de acuerdo a las coloraciones observadas dieron positivo, estos resultados obtenidos coinciden con el trabajo de los investigadores Rafael Rodríguez Amado; Ariadna Lafourca de Prada y Liana Pérez Rondón en cuyo trabajo encontraron los metabolitos anteriormente mencionados en este trabajo. Posteriormente se evaluó el efecto ansiolítico en ratas mediante la prueba de campo abierto, para lo cual se administró el extracto etanólico de las hojas de guayaba diluidos al 30%, 50% y 80% observándose una clara disminución de la ansiedad en los animales. Al evaluar el número de cruces por el cuadrado central de la caja hubo un aumento en comparación con el grupo control negativo, también se observó una disminución en la deambulación de cuadrados y posiciones verticales, este resultado coincide con el trabajo de investigación realizado por Abril de los Ángeles Aguilar, en donde también hubo una disminución en la deambulación de cuadrados al aplicar la prueba de campo abierto para evaluación la actividad ansiolítica. Por lo tanto el extracto etanólico de las hojas de guayaba tiene efecto ansiolítico en ratas.

5.1 CONCLUSIONES

Primera: El extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*) presenta efecto ansiolítico en ratas (*Rattus wistar*).

Segunda: En el extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*) se identificó metabolitos secundarios como flavonoides, terpenos, saponinas, taninos, aceites y/o grasas, azúcares reductores mediante los diferentes ensayos, compuestos pertenecientes a estos grupos químicos han evidenciado actividad ansiolítica.

Tercera: El pH del extracto concentrado de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*) fue de 4.62 esta variación puede deberse a la presencia de los compuestos de las hojas presentes en el extracto ya que el etanol puro tiene un pH débilmente alcalino. La densidad hallada fue de 0.8540 g/mL diferente a la densidad del etanol puro de 96° que bibliográficamente es de 0.8056 g/mL, esta diferencia puede deberse a la presencia de compuestos presentes en el extracto.

Los sólidos totales encontrados demuestran la presencia de sustancias en el extracto etanólico de las hojas de guayaba, así como el índice de refracción hallado que fue un valor de 30.

Cuarta: La cuantificación del tigmotaxismo por el cuadrado central en la prueba de campo abierto la dilución más efectiva fue al 50% del extracto etanólico con una media de 2.17; lo que denota la disminución de la ansiedad en el grupo experimental, al compararse la media de 0.83 observado en el grupo control negativo. Y esto se debe a que mientras mayor sea el número de veces que pase el animal por el cuadrado central de la caja menor será la ansiedad ya que no busca escapatoria en la periferia.

Quinta: En la deambulacion espacial la ansiedad disminuyo en los tres grupos experimentales pero con mejor efectividad al administrar la dilucion al 50% con una media de 9.67 en el grupo G3, ya que con la dilucion al 80% se mantuvo casi constante. Mientras mayor sea la deambulacion espacial en la caja mayor será la ansiedad en el animal debido al temor a lo desconocido.

Sexta: Las posiciones verticales disminuyeron en número en los grupos experimentales siendo más óptima con la dilución al 50% con una media de 4.00 y con la dilución al 80% tuvo una media de 3.5 no habiendo diferencias significativas por lo que la dilución más efectiva es al 50%. Lográndose demostrar la disminución de la ansiedad en el animal a menor número de posiciones verticales.

5.2 RECOMENDACIONES

- 5.2.1 Cuantificar de los metabolitos secundarios de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*) involucrados en el efecto ansiolítico.
- 5.2.2 Evaluar el efecto toxicológico que puedan el extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*).
- 5.2.3 Utilizar otro solvente de mayor polaridad para extraer los metabolitos responsables en el efecto ansiolítico y comparar con el utilizado en este trabajo.
- 5.2.4 Realizar el trabajo de investigación con un mayor número de animales de experimentación.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. OPS, OMS. Incrementaran notablemente los trastornos mentales en América Latina y Caribe. Estados Unidos. 2005.
2. Lobo A, Campos R. Factores etiopatogénicos en: Trastornos de ansiedad en atención primaria. Madrid: EMISA; 1997.
3. Gómez H. Neurofisiología, Clínica y Tratamiento de los Trastornos de Ansiedad.[en línea] Venezuela: caracas; 2014. URL disponible en: http://cuartasingularidad.com/events/libro_trastorno_de_ansiedad.pdf
2014-08-29
4. N. Felicity, M. Berk, O. Dean y A. I. Bush, "Estrés oxidativo en trastornos psiquiátricos: base de evidencia e implicaciones terapéuticas", Int. J. Neuropsychopharmacol., Vol. 11, no. 6, pp. 851-76, septiembre de 2008.
5. Bruneton J. Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales. Editorial Acribia 2ª Edición. 2001.
6. Geilfus F. Manual de agroforestería para el desarrollo rural. Turrialba: Costa Rica; 1994.
7. Desmarchelier C, Witting F. Sesenta plantas medicinales de la Amazonia peruana. 1a ed. Editorial Gráfica Bellido. Lima, 2000.
8. Romero P., Fraume F. El milagro de las plantas: aplicaciones medicinales y orofaríngeas. Bogotá: San Pablo; 2005.
9. Romero P., Fraume F. El milagro de las plantas: aplicaciones medicinales y orofaríngeas. Bogotá: San Pablo; 2005.
10. López-lbor JJ, Valdés M. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Barcelona: Masson; 2004.
11. Clark D., Beck A. Terapia cognitiva para los trastornos de la ansiedad. España: Bilbao; 2012.
12. Reyes T. Trastornos de ansiedad: Guía práctica para diagnóstico y tratamiento. Honduras: Biblioteca virtual en salud; 2005.
13. Reyes T. Trastornos de ansiedad: Guía práctica para diagnóstico y tratamiento. Honduras: Biblioteca virtual en salud; 2005.
14. Reyes T. Trastornos de ansiedad: Guía práctica para diagnóstico y tratamiento. Honduras: Biblioteca virtual en salud; 2005.
15. Kaplan H., Sadock B., Grebb J. Sinopsis de Psiquiatría. 7a. Ed. Estados Unidos; 1994.
16. Vásquez J. Psiquiatría en Atención Primaria. Madrid; 1998.

17. Lobo A, Campos R. Factores etiopatogénicos en: Trastornos de ansiedad en atención primaria. Madrid: EMISA; 1997.
18. Vázquez J. Psiquiatría en Atención Primaria. Madrid; 1998.
19. Fernández P. et al. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18a.ed., Madrid: Médica Panamericana; 2008.
20. Fernández P. et al. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18a.ed., Madrid: Médica Panamericana; 2008.
21. Gorman J. M. Tratamiento del trastorno de ansiedad generalizada (2003) Revista de Psiquiatría Clínica 64: 24-29.
22. Rapado M. La ansiedad: estrategias prácticas para manejarla paso a paso. Barcelona: Robinbook; 1997.
23. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos Fitoterapéuticos: 1a. ed. Colombia: Bogotá; 2000.
24. Martínez M., Cuéllar A. Farmacognosia y productos naturales. 1ra Edición. Cuba: Editorial Félix Varela; 2001.
25. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad de la Habana Instituto de Farmacia y alimentos. Cuba: Habana; 1996.
26. Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega S.A.; 2003.
27. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos Fitoterapéuticos: 1a. ed. Colombia: Bogotá; 2000.
28. García J. Auxiliares de laboratorio de la xunta de Galicia. 1a. ed. España; MAD: 2006.
29. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos Fitoterapéuticos: 1a. ed. Colombia: Bogotá; 2000.
30. Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega S.A.; 2003.
31. Machado J., Cárdenas M., Rodríguez M. Farmacopendio: Incluye dosificaciones pediátricas. Colombia: Medica Celsus; 2015.
32. Martínez M., Cuéllar A. Farmacognosia y productos naturales. 1ra Edición. Cuba: Editorial Félix Varela; 2001.
33. Lock, O. Investigación Fitoquímica: método en el estudio de productos naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica; 1988.
34. Lock, O. Investigación Fitoquímica: método en el estudio de productos naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica; 1988.

35. Kuklinsky Cl. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 2da Edición. España: Editorial Omega; 2006.
36. Kuklinsky Cl. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 2da Edición. España: Editorial Omega; 2006.
37. Salama A. Manual de farmaconogisia; análisis microscópico y fitoquímico, y uso de plantas medicinales. 1a. ed. Colombia: Bogotá; 2005.
38. Lock O. Investigación Fitoquímica: método en el estudio de productos naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica; 1988.
39. Patiño M., Valdés N. Química básica: prácticas de laboratorio. Colombia: Instituto tecnológico metropolitano; 2008.
40. Osorio R. Manual de técnicas del laboratorio. 1a. ed. Colombia: Universidad de Antioquia; 2009.
41. Correa C. Fenómenos químicos. 2a. ed. Colombia; Medellín: 2004.
42. Bourin M., Petit De Moliere B. Modelos animales de ansiedad en ratones. Farmacología Fundamental y Clínica: 2013; (21): 567-574.
43. Prutt L., Belzung C. El campo abierto como un paradigma para medir los efectos del fármaco son similares a los comportamientos de ansiedad: EurpeanJournal of Pharmacology 463: 3-33.
44. Brown, R. Ansiedad, comportamiento exploratorio y actividad motora en 14 cepas puras de ratones. Base de datos de ratón de laboratorio de Jackson. (California) 2013; (1): 34-50.
45. Hoffman E.J. y Mathew S.J. (2008) Trastornos de ansiedad: una revocación integral de farmacoterapias. Mount Sinai Journal of medicine 75: 248-262.
46. Deza J., Muñoz S., metodología de la investigación científica. Perú: Centro de investigación, Fondo Editorial; 2008.
47. Sánchez H. Metodología y diseños en la investigación científica. Perú: Lima; 2006.

ANEXOS
ANEXO I
FIGURAS DEL DESARROLLO METODOLÓGICO

Figura N° 2: Muestra para el reconocimiento de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.)



Fuente: elaboración propia

Figura N° 3: Recolección de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.)



Fuente: elaboración propia

Figura N° 4: Lavado de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.)



Fuente: elaboración propia

Figura N° 5: Secado de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.)



Fuente: elaboración propia

Figura N° 6: Determinación de cenizas de las hojas de guayaba



Fuente: elaboración propia

Figura N° 7: Determinación de humedad de las hojas secas de guayaba



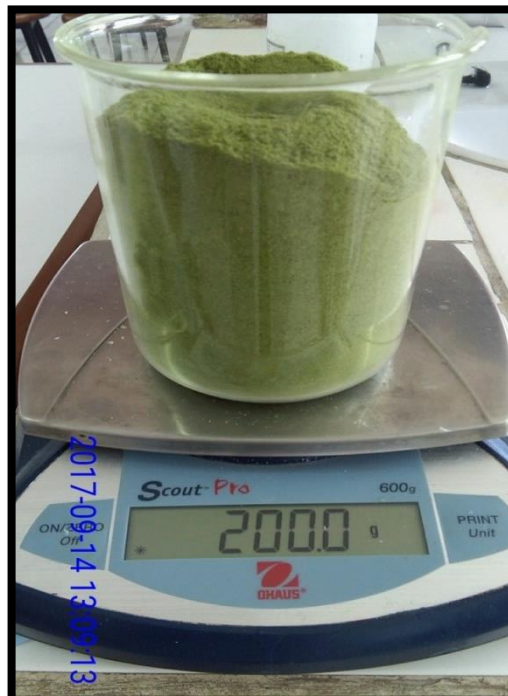
Fuente: elaboración propia

Figura N° 8: Molienda de las hojas secas de guayaba.



Fuente: elaboración propia

Figura N° 9: Pesado de hojas molidas de guayaba (*Psidium guajava* L.)



Fuente: elaboración propia

Figura N° 10: Preparación del macerado de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.)



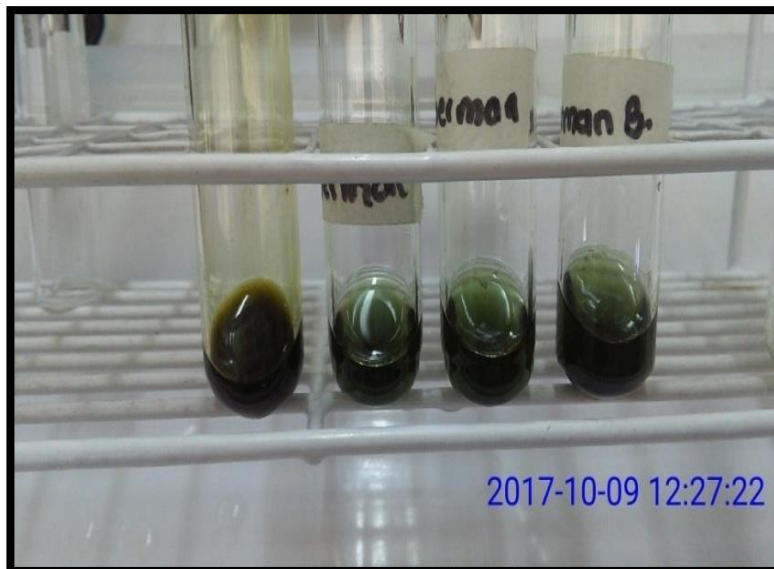
Fuente: elaboración propia

Figura N° 11: Ensayo de Shinoda al extracto de las hojas de guayaba



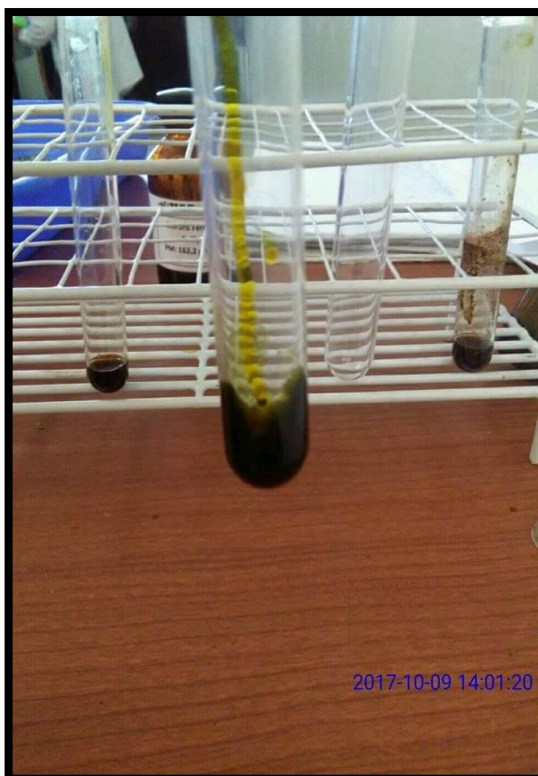
Fuente: elaboración propia

Figura N° 12: Ensayo de Liebermann buchard al extracto de hojas de guayaba



Fuente: elaboración propia

Figura N° 13: Ensayo de FeCl_3 al extracto de hojas de guayaba.



Fuente: elaboración propia

Figura N° 14: Ensayo de espuma al extracto de hojas de guayaba



Fuente: elaboración propia

Figura N° 15: Ensayo de Sudan III al extracto de hojas de guayaba



Fuente: elaboración propia

Figura N° 16: Ensayo de Fehling A y B al extracto de hojas de guayaba



Fuente: elaboración propia

Figura N° 17: Determinación de solidos totales al extracto de hojas de guayaba.



Fuente: elaboración propia

Figura N° 18: Medición del pH del extracto etanólico de la hojas de guayaba.



Fuente:elaboracion propia

Figura N° 19: Medición de la densidad del extracto de guayaba.



Fuente:elaboracion propia

Figura N° 20: Acondicionamiento de los animales



Fuente: elaboración propia

Figura N° 21: División de grupos de estudio



Fuente: elaboración propia

Figura N° 22: Control de peso de los animales



Fuente: elaboración propia

Figura N° 23: Administración de la dosis de medicamento por vía oral con la ayuda de una cánula metálica.



Fuente: elaboración propia

Figura N° 24: Conducta de posición central del animal en la prueba de campo abierto.



Fuente: elaboración propia

Figura N° 25: Permanencia del animal en la periferia de la caja de la prueba de campo abierto



Fuente: elaboración propia

ANEXO II

Constancia de reconocimiento botánico de las hojas de guayaba
(*Psidium guajava* L.)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA 19- 2017-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Se hace constar que las muestras frescas de hojas y tallos de la planta traída al laboratorio por la Srta: MARITZA ANGELINA CCOLQUE HUAMANI para el análisis botánico corresponde a la especie *Psidium guajava* L. "guayaba" de la familia Myrtaceae. Dicha muestra fue obtenida de los campos de cultivo de la localidad de San Gregorio. Provincia de Camana. Dpto. Arequipa. para el estudio de la Tesis de pregrado titulada: **EVALUACION DEL EFECTO ANSIOLITICO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) EN RATAS (RATTUS Wistar) REALIZADO EN EL LABORATORIO DE LA UNIVERSIDAD ALAS PERUANA, AREQUIPA, 2017** de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruana

Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE: ROSIDAE
ORDEN: MYRTALES
FAMILIA: MYRTACEAE
GENERO: *Psidium*
ESPECIE: *Psidium guajava* L.

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que se estime conveniente.

Arequipa 10 de Agosto del 2017




Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)

ANEXO III

Autorización de compra de animales en el bioterio de la Universidad Católica de Santa María



Universidad Católica de Santa María

(51 54) 382038 Fax:(51 54) 251213 ✉ ucsm@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe Apartado: 1350

AREQUIPA - PERÚ

UCSM-COORD. LAB. N° : 006-Coord.Lab.2017 (BIOTERIO)

UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS

EXPEDIENTE N° : 201700046625

CCOLQUE HUAMAN/MARITZA ANGELINA

Arequipa, 2017 octubre, 12

Pase al Asistente de Bioterio:

Sr. Jose Aida Fuentes

Se autoriza la compra de ratas de experimentación del Bioterio - UCSM, para que la Srta. Maritza Ccolque Huaman, alumna de la Universidad Alas Peruanas desarrolle su proyecto de investigación en su Institución "EVALUACIÓN DEL EFECTO ANSIOLITICO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE GUAYABA (Psidium guajava L.) EN RATAS (Rattus Wistar) REALIZADO EN EL LABORAOTRIO DE LA UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS AREQUIPA 2017".

Compra Cantidad : 30 ratas

Fecha : 12 de Octubre

Atentamente,

JMZS/CLyG
rtr

J. Zambrano
Dra. JESUS MARÍA ZAMBRANO SALAS DE CALLE
COORDINADORA DE LABORATORIOS
Y GABINETES
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO IV**Parámetros de calidad de las hojas de guayaba**

Cuadro N° 11: Resultado de la determinación de cenizas por triplicado de las hojas de guayaba.

Muestras	Cenizas
Hojas de guayaba	9.50%
Hojas de guayaba	9.51%
Hojas de guayaba	9.51%

Cuadro N° 12: Resultado de la determinación de humedad por triplicado de las hojas de guayaba.

Muestras	Humedad
Hojas de guayaba	5.92%
Hojas de guayaba	5.93%
Hojas de guayaba	5.93%

ANEXO V

Pruebas fisicoquímicas al extracto etanólico de las hojas de guayaba

Cuadro N° 13: Resultado de las mediciones del pH por triplicado del extracto de las hojas de guayaba.

Muestras	pH
extracto cc	4,66
extracto cc	4,65
extracto cc	4,67

Fuente: elaboración propia

Cuadro N° 14: Medición por triplicado la densidad del extracto etanólico y diluciones

Muestras	Densidad g/mL
extracto cc	0,8570 g/mL
extracto cc	0,8539 g/mL
extracto cc	0,8534 g/mL

Fuente: elaboracion propia

Cuadro N° 15: Medición de sólidos totales del extracto etanólico de hojas de guayaba.

Muestras	Sólidos totales
extracto cc	10.76
extracto cc	10.76
extracto cc	10.75

Fuente: Elaboración propia

Cuadro N°16: Medición del índice de refracción del extracto etanólico de hojas de guayaba.

Muestras	Índice de refracción
extracto cc	30
extracto cc	29
extracto cc	30

Fuente: Elaboración propia

ANEXO VI

Fórmula para determinar las cenizas de las hojas de Guayaba (*Psidium guajava* L.)

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(P_1 - P_2)}{m} \times 100$$

Donde:

- P₁= Peso de la placa más muestra.
- P₂= Peso de la placa más muestra seca
- m= Peso de la muestra.

Fuente: Elaboración propia

Fórmula para hallar la densidad del extracto etanólico de las hojas de Guayaba (*Psidium guajava* L.)

$$\rho = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \times \rho_w$$

Dónde:

- m₀: masa del picnómetro vacío
- m₁: masa del picnómetro con agua
- m₂: masa del picnómetro con el líquido a investigar
- ρ_w: densidad del agua a la temperatura de 20°

Fuente: Elaboración propia

Fórmula para hallar sólidos totales del etanólico de las hojas de Guayaba (*Psidium guajava* L.)

$$ST = \frac{(A-B) \times 1000}{V \text{ mL}}$$

Fuente: Elaboración propia

Cuadro N° 17: Número de veces que cruzó el animal por el cuadrado central observados en todos los grupos de estudio.

GRUPOS	CRUCE CENTRAL
G5	3
G5	2
G5	3
G5	2
G5	4
G5	3
G1	2
G1	0
G1	1
G1	1
G1	0
G1	1
G2	2
G2	1
G2	2
G2	2
G2	1
G2	1
G3	2
G3	2
G3	3
G3	3
G3	1
G3	3
G4	2
G4	3
G4	2
G4	3
G4	2
G4	2

Fuente: elaboración propia

ANEXO VIII

Cuadro N° 18: Número de cuadrados deambulados por el animal observados en todos los grupos de estudio.

GRUPOS DE ESTUDIO	DEAMBULACIÓN DE CUADRADOS
G5	8
G5	8
G5	9
G5	7
G5	9
G5	10
G1	28
G1	29
G1	20
G1	30
G1	29
G1	25
G2	28
G2	18
G2	17
G2	22
G2	16
G2	19
G3	10
G3	9
G3	9
G3	11
G3	10
G3	9
G4	9
G4	9
G4	8
G4	10
G4	9
G4	11

Fuente: elaboración propia

ANEXO IX

Cuadro N° 19: Número de posiciones verticales observadas en todos los grupos de estudio.

GRUPOS DE ESTUDIO	POSICIÓN VERTICAL
G5	2
G5	4
G5	2
G5	4
G5	3
G5	3
G1	3
G1	8
G1	8
G1	9
G1	9
G1	5
G2	6
G2	4
G2	6
G2	9
G2	4
G2	9
G3	2
G3	3
G3	5
G3	4
G3	5
G3	5
G4	3
G4	4
G4	3
G4	4
G4	3
G4	4

Fuente: elaboración propia

ANEXO X**Cuadro N° 20: Control de pesos de ratas**

N°	Pesos en gramos
R1	250.7
R2	261.7
R3	248.0
R4	259.5
R5	271.6
R6	288.2
R7	288.7
R8	270.1
R9	260.0
R10	281.7
R11	267.1
R12	301.4
R13	291.7
R14	272.9
R15	319.2
R16	323.4
R17	266.9
R18	258.1
R19	266.2
R20	289.2
R21	274.1
R22	266.9
R23	260.5
R24	267.5
R25	264.3
R26	279.2
R27	291.9
R28	294.7
R29	291.3
R30	277.9

Fuente: Elaboración propia

ANEXO XI

Ficha de recolección de datos

Ficha de características organolépticas del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guayaba L.*)

Características organolépticas	Concentraciones del extracto etanólico			
	Extracto cc	80%	50%	30%
Color				
Sabor				
Olor				
Aspecto				

Fuente: elaboración propia

Ficha de ensayos fitoquímicos del extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guayaba L.*)

Metabolitos secundarios	Extracto etanólico de las hojas de guayaba					
	Ensayo Shinoda	Ensayo de Liebermann Bouchard	Ensayo de FeCl ₃	Ensayo de espuma	Ensayo de Sudan III	Ensayo de Fehling A y B
Flavonoides						
Terpenos						
Taninos						
Saponinas						
Aceites y/o grasas						
Azúcares reductores						

Fuente: elaboración propia

Ficha de ensayos fisicoquímicos al extracto etanólico de las hojas de guayaba (*Psidium guayaba* L.)

Ensayos fisicoquímicos Al extracto etanólico	Medición n° 1	Medición n°2	Medición n° 3	Promedio	Desviación estándar (μ)
Densidad					
pH					
Sólidos totales					
Índice de refracción					

Fuente: elaboración propia

Ficha de recolección de datos de la prueba de campo abierto

Grupos de estudio	Variables medidas		
	Posición vertical	Deambulaci3n	Cruce central
G1			
G1			
G1			
G1			
G1			
G2			
G2			
G2			
G2			
G2			
G3			
G3			
G3			
G3			
G3			
G4			
G4			
G4			
G4			
G4			
G5			
G5			
G5			
G5			
G5			

Fuente: elaboración propia

ANEXO XII

Prueba de hipótesis para el número de veces que cruzo el animal por el cuadro central en la prueba de campo abierto.

Cruce central

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	15.1333333	4	3.78333333	7.99295775	0.00027064	2.75871047
Dentro de los grupos	11.8333333	25	0.47333333			
Total	26.9666667	29				

Prueba de hipótesis para el número de deambulaciones de cuadrados que el animal realiza en la prueba del campo abierto.

Deambulaciones de cuadrados

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1606.46667	4	401.616667	54.8656648	5.1136E-12	2.75871047
Dentro de los grupos	183	25	7.32			
Total	1789.46667	29				

Prueba de hipótesis para el número de posiciones verticales que realiza el animal en la prueba del campo abierto.

Posición vertical

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	76.5333333	4	19.1333333	6.94915254	0.00066283	2.75871047
Dentro de los grupos	68.8333333	25	2.75333333			
Total	145.366667	29				

GLOSARIO DE TÉRMINOS:

Agorafobia: Consiste en un miedo y una ansiedad intensos de estar en lugares de donde es difícil escapar o donde no se podría disponer de ayuda. La agorafobia generalmente involucra miedo a las multitudes, a los puentes o a estar solo en espacios exteriores.

Dilución: Es diluir un volumen conocido de soluto en un volumen conocido del solvente.

Estudio Fitoquímico Estudio de los principios activos de las plantas, especialmente de los metabolitos secundarios y que pueden tener aplicación en la medicina o industria.

Flavonoides Son pigmentos fenólicos presentes en la mayor parte de los órganos vegetales.

Terpenos: Los terpenos e isoprenoides son una vasta y diversa clase de compuestos orgánicos derivados del isopreno (o 2-metilbuta-1,3-dieno), un hidrocarburo de 5 átomos de carbono.

Metabolitos Secundarios: Compuestos químicos sintetizados por estas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, ya que no intervienen en el metabolismo primario.

Medicina tradicional

La medicina tradicional es todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales.

Organoléptico: Calificativo de ciertas propiedades, por ejemplo color, olor, sabor, que son susceptibles de medir por los órganos sensoriales.

Principio activo Sustancia química responsable de la actividad farmacológica y del uso terapéutico de una droga.

