

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

“Validación farmacológica de la acción sedante e hipnótica de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) en combinación con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión), flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) o pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria) en infusión”

Informe de Tesis

Presentado por

Alba Carolina Barrios Valenzuela

Para optar al título de

Química Farmacéutica

Guatemala, julio de 2007

ÍNDICE

	Página
1. Resumen	03
2. Introducción	05
3. Antecedentes	06
4. Justificación	18
5. Objetivos	19
6. Hipótesis	20
7. Materiales y Métodos	21
8. Resultados	28
9. Discusión de Resultados	34
10. Conclusiones	39
11. Recomendaciones	40
12. Referencias	41
13. Anexos	45

1. RESUMEN

El presente trabajo de investigación es un estudio farmacológico con el propósito de validar la actividad sedante e hipnótica que se le ha atribuido a la asociación de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión), flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) o pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria).

Para realizar este estudio, se eligió la valeriana como factor común, ya que a ésta se le ha comprobado un efecto sedante al utilizarla de manera aislada en dosis de 1000mg/kg. Se evaluaron las combinaciones en diferentes pruebas para determinar la actividad sedante e hipnótica. A través de tres pruebas se determinó la actividad sedante, siendo estas la placa agujereada, rota rod y chimenea; mientras que para evaluar la actividad hipnótica se utilizó la prueba de potenciación de sueño. Para cada una de éstas se utilizaron 25 ratones albinos machos con un peso de 20-23 gramos, asignando 5 ratones por lote experimental. Los lotes fueron asignados como control negativo (agua), control positivo con el que se utilizó como fármaco referencia al haloperidol, un control interno de infusión de *Valeriana prionophylla* (valeriana) al 10%, en una dosis de 1000 mg/kg y a los últimos lotes, a los que se administró por vía oral, la combinación de plantas, manteniendo constante la dosis de la infusión de Valeriana en 1000mg/kg y variando la dosis de la infusión de la planta en la combinación, a una dosis de 750mg/kg en el cuarto lote y 1000mg/kg para el quinto. Adicionalmente en la prueba de potenciación de sueño, se utilizó como fármaco hipnótico al pentobarbital sódico.

Los resultados muestran que la combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión) a dosis de 1000mg/kg es positiva solamente en la prueba de la chimenea, determinándose que la asociación no ejerce un efecto sedante mayor al observado en el uso aislado de valeriana y para el efecto hipnótico, ejerce una acción contraria al combinarlas y utilizarlas como tal en ratones machos albinos, disminuyendo el tiempo de sueño.

Mientras, para la combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) y flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo), a dosis de 1000mg/kg se presenta un efecto antagónico notorio en todas las pruebas, sin embargo, a dosis de 750mg/kg, esta incompatibilidad no es tan evidente; es decir, ejerce un efecto sedante e hipnótico menor al observado en el uso aislado de valeriana en ratones machos albinos.

Por último, para la combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) con pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria) en cualquiera de las dosis, no ejerce un efecto sedante e hipnótico mayor al observado en el uso de valeriana aislada en ratones machos albinos.

2. INTRODUCCIÓN

Tres mil años antes de Cristo, los sumerios, grabaron en tablillas de arcilla todos los conocimientos que, hasta aquella época, poseían sobre las propiedades curativas de las plantas. Sin embargo, éstas han sido utilizadas desde tiempos remotos para la cura y paliación de enfermedades.

El gran interés suscitado en torno a la fitoterapia no obedece a un hecho puntual o a una moda. La época actual está marcada por la búsqueda de una vida más sana y de mejor calidad; para conseguirlo, el hombre se ha dado cuenta de la necesidad de volver los ojos a los valores esenciales que se han conservado en la naturaleza.

Dada la importancia actual del empleo de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud, ha realizado mesas redondas en las que se discute el hecho de que el manejo sustentable de plantas medicinales y productos fitoterapéuticos es un punto importante para las regiones ricas en biodiversidad. Al mismo tiempo, concuerdan que el estudio del uso tradicional de plantas medicinales debe ser preservado, de modo que, permita un mayor acceso a tratamientos terapéuticos a través de productos seguros, eficaces y de calidad.

Guatemala, siendo un país rico en biodiversidad, ha iniciado el estudio experimental de ciertas plantas medicinales de aplicación tradicional, evaluándose su efecto y su toxicidad. Al presente, Roca realizó el único estudio sobre una combinación de plantas a las que se les atribuía efectos sedantes e hipnóticos. Sin embargo, existen varias combinaciones de plantas que no han sido evaluadas a pesar de su uso en la medicina popular y en productos de formas farmacéuticas definidas que son comercializados en el mercado guatemalteco.

Por tanto, este trabajo pretende iniciar el estudio de combinaciones de plantas medicinales utilizadas con frecuencia como sedantes-hipnóticas, para evaluar el sinergismo atribuido y su toxicidad. En este caso, se utilizará el rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) en combinación con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión), flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) o pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria).

3. ANTECEDENTES

Las plantas medicinales tienen propiedades curativas que ya eran conocidas en la antigüedad, aunque también se han añadido al conjunto terapéutico otras plantas cuya utilidad ha sido descubierta recientemente. Hasta el desarrollo de la química y la síntesis de compuestos orgánicos, las plantas medicinales eran prácticamente la única fuente de principios activos capaces de mejorar el estado de salud de los humanos. Las plantas medicinales continúan teniendo una gran importancia para personas que no tienen acceso a los medicamentos de última generación. Además, muchos de éstos han sido desarrollados a partir de los principios activos encontrados en plantas (12.1, 12.2, 12.3).

Actualmente en Guatemala se comercializan varios productos que contienen una o varias plantas medicinales. En el “Reglamento para el Control Sanitario de los Medicamentos y Productos Afines” del Ministerio de Salud, se denota en el Artículo 45 los requisitos necesarios para la inscripción de productos fitoterapéuticos. Sin embargo, no se requieren pruebas tan exigentes como las necesarias para un producto farmacéutico de origen sintético. Por esto, es posible que existan varios medicamentos que incluyen en sus fórmulas combinaciones que no se han evaluado clínicamente. Éstos en su mayoría son comercializados por su supuesta actividad sedante e hipnótica (12.4, 12.5, 12.6).

En la literatura consultada, se encuentra un único estudio de cinco plantas medicinales combinadas en un elixir con propiedades hipnóticas y sedantes. El elixir contenía pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria) al 2%, hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión) al 1%, fruto de *Pimpinella anisum* (anís) al 2%, flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) al 3% y rizomas de *Valeriana prionophylla* (valeriana) al 2%. Sin embargo se concluye que el elixir comercializado posee una actividad ligeramente hipnótica, mientras el elixir preparado experimentalmente posee una actividad ligeramente sedante (12.7).

A continuación, se describen las características de las especies en estudio de manera separada, con el fin de conocer sus propiedades individuales:

3.1 *Valeriana prionophylla*

3.1.1 Nombre Científico

Valeriana prionophylla

3.1.2 Nombres Comunes

Valeriana

3.1.3 Descripción Botánica

Hierba perenne, vivaz, rizoma pequeño productor de estolones subterráneos de los que salen múltiples raíces, 1-2 cm de grueso; tallo hueco, acanalado, 70-170 cm de alto. Hojas imparipinadas, 7-21 segmentos dentados lanceolados, márgenes dentados. Tallo floral que surge al 2º o 3º año, redondo, estriado, hasta 1.5 m de alto. Flores en umbelas, pequeñas, tubulares, irregulares, blancas o rosadas. Frutos en aquenio coronado de un vilano plumoso. Los frutos son oblongo-ovados, de 4 puntas y semilla única (12.8, 12.9).

3.1.4 Propiedades Organolépticas

Olor, penetrante, extremadamente molesto; parecido al ácido valérico y se vuelve más fuerte conforme la edad. Sabor, inicialmente dulce, convirtiéndose en un sabor un tanto amargo, algo alcanfórico. Sin embargo, el sabor no es desagradable (12.9, 12.10).

3.1.5 Hábitat

Nativa de Centro América, cultivada en Costa Rica y Guatemala, se encuentra en lugares húmedos y umbrosos, silvestre o cultivada, en clima templado o de montaña, en bosques hasta de 2100 msnm (12.7, 12.8).

3.1.6 Sembrado y Recolección

Se adapta a varios tipos de suelo, prefiere lugares frescos y húmedos. Se propaga por semilla o por división de pies. Se plantan con 30-40 cm entre cada planta, requieren de mucho cuidado y humedad. La planta se corta a los dos años, se extraen los rizomas en otoño, se lavan y secan inmediatamente a la sombra (40-50°C) (12.8).

3.1.7 Composición Química

Los componentes varían considerablemente dependiendo de la variedad de la especie, edad de la planta, condiciones de crecimiento y del tipo y edad del extracto. *Valeriana prionophylla* contiene en rizomas, bajas cantidades de: acevaltrato, didrovaltrato hidroxí-isovalérico y homovaltrato. El aceite volátil (rango de 0.2-2.8%) contiene acetato de bornilo e isovalerianato de bornilo

como los componentes principales. Otros constituyentes significativos incluyen al β -cariofileno, valeranona, valeranal, ácido valérico, α - y β -pineno, β -inona, isovalerato de eugenilo, isovalerato de isoeugenilo, alcohol patchouli, valerianol, borneol, camfeno, β -bisaboleno, ledol, ácido isovalérico, terpinoleno y algunos otros sesquiterpenos y monoterpenos. Un segundo grupo importante de constituyentes (rango de 0.05%-0.67%) es la serie de valepotriatos, de los cuales son abundantes el valtrato e isovaltrato. También se encuentran presentes, aunque en menor cantidad, el dihidrovaltrato, isovaleroxi-hidroxi-dihidrovaltrato y 1-acevaltrato. Contiene alcaloides como la actinidina, valerianita, valerina y catinina, entre otros. Posee colina, metil 2-pirrolil cetona, ácidos caféico y clorogénico, β -sitosterol, taninos y gomas. Actualmente no existen estudios para *Valeriana prionophylla* que reporten cual de sus componentes es al que se le atribuye la actividad sedante, sin embargo, se cree que los iridoides son los responsables de la misma (12.9, 12.11, 12.12, 12.13 12.14).

3.1.8 Farmacognosia

La materia médica es el rizoma y la raíz de la planta. Macroscópicamente son rizomas truncados, de 2-4 cm de largo, de color café oscuro. En la parte superior posee un tallo circular y cicatrices que marcan donde se localizaban las hojas; raíces de 2-15 cm de largo, arrugadas longitudinalmente y quebradizas. Microscópicamente es un polvo café oscuro, numerosos gránulos de almidón de 3-20 μm de diámetro, esferoides, agregados: esclereidos escasos, hipodermis asociada con capa pilífera, tejido tegumentario de capas de células grandes con parches de gránulos café. Cenizas totales no mayores de 15%, cenizas solubles en ácido 7% y materia orgánica extraña no más de 5% (12.8).

3.1.9 Usos Medicinales Atribuidos

La infusión y tintura de la raíz se usan oralmente para tratar afecciones nerviosas. Algunos de los usos descritos en farmacopeas y en sistemas tradicionales de medicina son: como coadyuvante digestivo, en espasmos del músculo liso y dolores gastrointestinales de origen nervioso. Cuando es asociada con papaverina, belladona y otros espasmolíticos, se ha demostrado que es útil en el

tratamiento de los estados espásticos del músculo liso como lo es el espasmo por colitis (12.8, 12.9, 12.13).

Otros usos en la medicina popular, no apoyados en datos experimentales ni clínicos son: en el tratamiento de epilepsia, encías heridas, cefaleas, náusea, desórdenes en tracto urinario, infecciones vaginales y laringitis; como emenagogo, antídoto a tóxicos y diurético (12.9, 12.12).

La decocción de raíz se aplica tópicamente en cataplasmas o compresas para curar contusiones, heridas, llagas y raspones, así como resolver tumores y enfermedades de los ojos; administrada como enema se utiliza para tratar afecciones intestinales. En otros lugares también se recomienda como diaforético y para expulsar gusanos intestinales (12.8, 12.14).

3.1.10 Farmacología

Actualmente el único estudio presentado para *Valeriana prionophylla* es el realizado por Roca, cuyo objetivo era validar la actividad sedante-hipnótica causada por la infusión del rizoma de la planta. Para esto, se utilizó la solución por vía oral en dosis de 750 y 1000 mg/kg, observando los efectos en ratones, por medio de las pruebas farmacológicas: Placa Agujereada, Rota Rod, Chimenea y Potenciación del sueño. En este estudio se concluye que la infusión posee acción ligeramente sedante a dosis de 1000 mg/kg, dando positivos el test de placa agujereada y el de la chimenea (12.7).

Para *V. officinalis* se demuestra que la infusión o tintura poseen actividad sedante en varios modelos animales tales como: registro de movimientos durante el sueño en ratones, observación en características de conducta en gatos, potenciación del tiempo de sueño y pérdida de función motora en rota-rod; estas pruebas se acompañan de registros con electroencefalograma, medida de la temperatura rectal y otros parámetros (12.8).

Se han realizado varias investigaciones clínicas para la raíz de *V. officinalis* y éstas han demostrado la efectividad de la misma como un ayudante para conciliar el sueño y como sedante menor. En un estudio doble-ciego, la valeriana (450 mg o 900 mg de un extracto acuoso de la raíz) disminuyó significativamente la latencia de sueño comparado con el placebo. Otros estudios adicionales han

demostrado que la infusión incrementó significativamente la calidad de sueño en pacientes con sueño irregular y pobre, pero no produjo ningún efecto en los despertares nocturnos. Los extractos han demostrado claramente una depresión de la actividad del Sistema Nervioso Central. No obstante, la identidad del constituyente activo sigue siendo controversial. Actualmente, aún no es conocido si la actividad de la raíz de valeriana reside solamente en un compuesto, en un grupo de compuestos, en algún compuesto desconocido o si es un efecto sinérgico (12.9).

3.1.11 Efectos Adversos y/o Tóxicos

En algunas personas puede producir inquietud durante el sueño. Efectos adversos menores han sido reportados con el uso crónico de *V. officinalis*, que incluyen: cefaleas, excitabilidad e insomnio. Dosis muy altas pueden causar bradicardia, arritmias y disminuir la motilidad intestinal (12.8, 12.9).

3.2 *Passiflora edulis*

3.2.1 Nombre Científico

Passiflora edulis

3.2.2 Nombres Comunes

Flor de la Pasión, Granadilla, Pasiflora, Pasionaria, Burucuyá (12.15, 12.16)

3.2.3 Descripción Botánica

Planta herbácea, glabra o raramente pilosa, estípulas de 1 cm de largo, enteras o ligeramente glandulares, pecíolos de 4 cm de largo, biglandulares en el ápice; hojas de 5 a 11 cm de largo y de 4 a 10 cm de ancho, son trilobuladas debajo de la mitad, los lóbulos son de 2 a 4 cm de ancho, agudos o acuminados, hojas redondeadas o ligeramente acorazonadas en la base, cerradas, de poco grosor, pedúnculos robustos de 6cm de largo o más, cortos; brácteas ovadas de 2 a 2.5 cm de largo, 1 a 1.5 cm de ancho, obtusas o agudas, pronunciadamente serradas, dentadas, en forma de peine o casi laceradas, sin embargo, son glandulares en los márgenes; flores de 7 cm de ancho; sépalos oblongos, de 3 a 3.5 cm de largo y 1cm de ancho, corniculados, de color verde en la parte externa y blanco en el interior; pétalos oblongos de 2.5 a 3 cm de largo, obtusos, blancos; filamentos

de la corona se presentan en series de 4 a 5 unidades, las dos series exteriores son filiformes o ligeramente liguliformes de 1.5 a 2.5 cm de largo, color blanco o púrpura en la base; ovario ovoide o globular, con finos vellos suaves y tupidos, o glabro en algunos casos. Fruto ovoide o globular, de 4 a 5 cm de largo, amarillo, amarillo verdoso o púrpura, semillas ovaladas, de 5 a 6 mm de largo y 3 a 4 mm de ancho con retículas diminutas (12.17).

3.2.4 Hábitat

Planta nativa desde Brasil hasta norte de Argentina; además, se cultiva por sus frutos o por su uso ornamental; es raramente cultivada en Guatemala y tal vez es naturalizada ocasionalmente (12.17).

3.2.5 Sembrado y Recolección

La altitud y latitud no parecen afectar el crecimiento de la planta, sin embargo la temperatura que éstas conllevan sí. *P. edulis* crece mejor en un clima subtropical o tropical; tolera una amplia variedad de tierras, aunque prefiere tierras húmedas con pH de 6.5 a 7.5. Las plantas salvajes son encontradas en: bosques, cerca de ríos y en algunos sitios abandonados. Florece en su segundo año, en primavera y a principios del verano y de nuevo por un periodo más corto en otoño y a principios del invierno. Crece al menos 3 m al año (12.18, 12.19, 12.20).

La materia médica es la parte aérea seca. Por esto, se debe coleccionar el follaje en tiempo de floración o follaje con frutos al final y después de la floración. Éstos se secan a la sombra (12.7).

3.2.6 Composición Química

Se ha reportado que *P. edulis* es rica en glucósidos que incluye del tipo flavonósidos, passicapsina y passibiflorina, glucósidos cianogénicos, vixentina, isovitexina, kampferol, crisina, umbeliferota, ácido caféico, ácido clorogénico, quercentina, neohesperidina y otros. Sin embargo, la concentración de estos compuestos en hojas depende en gran parte de la época de recolección, variando entre 1.5 y 2.1%. También contiene varios derivados del fenol como: hidroxib-ionol, vomifoliol, dehidrovomifoliol, linalol y α -terpeneol. Los alcaloides reportados son harmano, harmina, harmalina y harmalol,

presentándose la mayor concentración en las hojas. Se reportan también carotenoides, L-ácido ascórbico, antocianinas, γ -lactonas, saborizantes, aceites volátiles, aminoácidos, carbohidratos y minerales (12.7, 12.21, 12.22).

3.2.7 Usos Medicinales Atribuidos

P. edulis es utilizada en Suramérica para cefaleas, trastornos hepáticos y en dolor de riñones. Es un excelente sedante que provoca un sueño natural, por lo que está indicado en los casos de insomnio y ansiedad, especialmente en caso de padecer frecuentes despertares nocturnos. La *Passiflora edulis* es un remedio popular para el tratamiento del insomnio y del nerviosismo. También tiene un suave efecto relajante antiespasmódico sobre la musculatura lisa del cuerpo, incluyendo la del sistema digestivo. Se conoce además por sus propiedades antihelmínticas, antidiarreico, diurético, estimulante, tónico, antihipertensivo, antianémico, antimalárico, como protector gástrico y en algunos casos como anticonvulsivante. (12.7, 12.23, 12.24, 12.25).

3.2.8 Farmacología

En 1988 De Ribeiro describió que el extracto hidroalcohólico de las hojas frescas tiene actividad diurética. También se ha descubierto la actividad antibacteriana contra *E. coli*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomona aeruginosa*. En el 2001, se realizó un estudio farmacológico comparativo de extractos hidroalcohólicos demostrando actividad del efecto sedante por vía intraperitoneal en ratas. Sin embargo el extracto metabólico no presenta actividad sedante significativa por vía oral (12.17)

En 2003, Bonilla realiza la validación farmacológica de la acción hipnótica y sedante de las hojas de *P. edulis* en infusión; sin embargo, solamente se reporta una ligera actividad sedante y no presenta actividad hipnótica (12.15).

En el 2005, Roca presenta de nuevo un estudio sobre la infusión de las hojas de la planta porque se cree que los resultados de Bonilla son ambiguos. Por esto, al realizarlo, se observa que esta planta no posee acción sedante o hipnótica, ya que todas las pruebas realizadas resultan negativas (12.7).

3.2.9 Efectos Adversos y/o Tóxicos

En 2003, Bonilla realiza el estudio de toxicidad aguda (DL-50) en ratones machos albinos, administrando de 1 a 5 g/kg de la infusión al 10% de *P. edulis*. Luego de 8 días de observación, se demostró que la planta carece de efectos tóxicos, a las dosis evaluadas (12.15).

Sin embargo, otro estudio demuestra que *P. edulis* puede provocar toxicidad hepatobiliar y pancreática en animales y humanos (12.22).

Por lo general la *P. edulis* es muy bien tolerada, pero a dosis muy altas puede provocar náuseas y vómitos, por su sabor amargo. También se han reportado cefaleas, taquicardias, disminución del tiempo de reacción frente a estímulos externos, pudiendo dar convulsiones y paro respiratorio (12.7).

3.3 *Tilia platyphyllos*

3.3.1 Nombre Científico

Tilia platyphyllos

3.3.2 Nombres Comunes

Tilo, Flor de Tilo, Tila (12.26)

3.3.3 Descripción Botánica

Árbol de gran porte hasta 33 m de alto, tronco recto y grueso deshojado en invierno. Hojas grandes, alternas y simples, 8-14 cm de largo, cordadas con lados desiguales, aserradas, manojos de penachos de pelos blancos en la parte basal de las venas secundarias, al envés resalta una nervadura palmeada. Inflorescencias con 3-6 flores y una gran bráctea blanquecina, membranosa. Fruto en aquenio globoso, veloso, ovoide, cinco costillas longitudinales, al madurar es seco y no abre jamás (12.8, 12.26).

3.3.4 Hábitat

Nativos de bosques y bosquesillos cerrados o abiertos de toda Europa, se encuentra acompañado de hayas, arces, serbales y otras especies de árboles de sombra, en alturas entre 1000-1500 msnm. Cultivado en China, los Balcanes, Turquía y Europa para el mercado internacional (12.8).

3.3.5 Sembrado y Recolección

Prefiere suelos calcáreos o calizos, generalmente son árboles plantados y pueden vivir hasta 1000 años. Las flores se colectan inmediatamente después de abrirse a mediados del verano en tiempo seco y secar a la sombra a temperaturas no mayores de 35°C en un lugar bien aireado. En Guatemala se importa de Europa y en ocasiones de Norte América o México (12.8, 12.27).

3.3.6 Composición Química

Posee mucílago, esencia compuesta por farnesol, un alcohol sesquiterpénico de la serie alifática. La planta es apreciada por su efecto sudorífico, antiespasmódico y sedante. Además, contiene azúcares, taninos, hesperidina grasa, hidrocarburos, glicósidos, flavonoides y cumarinas (12.14, 12.26, 12.28).

Las flores contienen también hesperidina, β -fitosterina, saponinas, ácidos orgánicos, leucoantocianidinas, aminoácidos libres y tocoferol (12.8).

3.3.7 Usos Medicinales Atribuidos

Las flores del tilo son muy apreciadas como antiespasmódico. Se emplean con frecuencia en los calambres del estómago. La infusión disminuye considerablemente la acidez del estómago, por lo que se recomienda tomar en casos de hiperacidez gástrica. También se utiliza para bajar la fiebre, aliviar escalofríos, afecciones respiratorias, cefalea, reumatismo, ciática y algunos cánceres y tumores. Se le cita ligeramente sedante, por lo que las flores de tilo son universalmente renombradas, en particular bajo la forma de la infusión. A pesar de ser esta una acción comprobada, no se sabe a qué componente químico se debe (12.8, 12.10, 12.14, 12.28).

El extracto provoca hipotensión y disminución de la tonicidad cardiaca (12.28).

3.3.8 Farmacología

Según estudio de Roca, la infusión de la flor con bráctea de *T. platyphyllos* posee acción ligeramente hipnótica a dosis de 750 mg/kg dando positivo el test de Potenciación de Sueño (12.7).

Estudios antibacterianos han demostrado que la tintura de flores es ligeramente activa contra *S. aureus*, pero inactiva contra *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*. Estudios farmacológicos demuestran que la infusión de flores tiene escasa

actividad diurética en ratas. Las semillas presentan una actividad bifásica en el duodeno de rata aislado, que se manifiesta por una corta relajación seguida de un efecto espasmogénico. La madera y corteza presentan una actividad colerética fuerte y prolongada en conejos (12.8).

3.3.9 Efectos Adversos y/o Tóxicos

Las flores del tilo deben ser más o menos amarillentas; un tinte rosado traduce vejez. El uso de flores viejas puede inducir una intoxicación narcótica. Se reporta también que el uso frecuente de las infusiones de tilo puede resultar perjudicial para el corazón. Quienes tienen problemas cardiacos deben evitar su consumo (12.28).

3.4 *Citrus aurantium*

3.4.1 Nombre Científico

Citrus aurantium

3.4.2 Nombres Comunes

Naranja agria, naranja amarga, naranja de Sevilla (12.8, 12.29)

3.4.3 Descripción Botánica

Árbol leñoso de 3-10 m de alto, tronco grueso, erecto, corona compacta, corteza suave, café, ramas verdes, espinas no muy puntiagudas de 2-8 cm de largo. Hojas compuestas, siempre verdes, aromáticas, alternas, peciolo alado, ancho, 6-13 cm de largo, finamente dentadas, con pequeñas glándulas de aceite. Flores muy olorosas, individuales o grupos en las axilas foliares, 3-4 cm de ancho, 5 pétalos blancos, separados, hasta 24 estambres, 5-12% son masculinas. Frutos en baya, redondos u oblongo-ovalados, 7-8 cm de ancho, pericarpio rugoso, grueso, amargo, con glándulas de aceite; 10-12 segmentos con paredes amargas y pulpa ácida, varias semillas (12.8, 12.26, 12.30).

3.4.4 Hábitat

La especie es nativa del sudeste asiático; ampliamente cultivada en forma comercial en los trópicos y subtropicos de ambos hemisferios. En Guatemala se cultiva en forma semicomercial en Baja Verapaz, Escuintla, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (12.8).

3.4.5 Sembrado y Recolección

Crece en clima subtropical, suelos bajos y en la capa freática alta. Se propaga por semillas, se siembran en bolsas durante 1-2 años; no requiere mayor cuidado, en España se dice que hay árboles hasta de 600 años. Las hojas se colectan en primavera y se secan a la sombra; las flores se colectan al comenzar a abrirse y se secan rápidamente pero con sumo cuidado a la sombra y sobre paños de tela. Los frutos se recolectan poco antes de la madurez, el epicarpio se remueve sin dejarlo demasiado grueso y se seca a la sombra (12.8).

3.4.6 Composición Química

Toda la planta contiene aceite esencial y principios amargos (flavonoides). Las hojas y la cáscara dan la esencia llamada *petit grain*, que se compone de limoneno, linalol, canfeno, geraniol, metil antranilato, citral y linalilo. También contienen alcaloides, taninos y triterpenos. En las flores se halla la hesperidina, esencia de azahar, glucósidos y cumarinas. La cáscara del fruto maduro contiene neohesperidina, nobiletina, y 5-O-desmetilnobiletina. La corteza contiene flavonoides, principios amargos; la raíz y la corteza contienen alcaloides, taninos y terpenos. La pulpa contiene hesperidina e isohesperidina, ácidos hesperidínico y salicílico, pectina y azúcares. (12.8, 12.14).

3.4.7 Usos Medicinales Atribuidos

La corteza contiene un tónico estomacal que facilita la expulsión de los gases intestinales. El fruto es depurativo de la sangre, diurético y digestivo, la decocción de las hojas está recomendada para la dispepsia, afecciones del sistema nervioso, antipirético, taquicardia, convulsiones y epilepsia, la infusión de las flores se emplea para facilitar el parto, contra las palpitations del corazón y la arteriosclerosis. De las flores y de las hojas se prepara una infusión calmante (12.10, 12.14, 12.26, 12.31).

3.4.8 Farmacología

El producto más importante es la hesperidina que es antiespasmódica y ligeramente hipnótica. En un estudio realizado por Cabrera, se comprobó la actividad cicatrizante de la planta en ratas albinas. La administración intravenosa

de un extracto acuoso de su pericarpio, a la dosis de 1.5 mg/kg, induce una rápida respuesta vasopresora, seguida de una caída de la tensión arterial. Se reportan efectos: antimicótico y antihemorrágico sobre el sistema gastrointestinal. Muestra un efecto de relajación, *in Vitro*, sobre el útero de rata en estro. Efecto antiespasmódico sobre el íleon de cobayo. El aceite presenta una actividad antibacteriana y fungicida. También se reporta una actividad antihemorrágica (12.14, 12.30, 12.32, 12.33).

3.4.9 Efectos Adversos y/o Tóxicos

El contacto con el zumo y posterior exposición al sol pueden desencadenar fenómenos de fotosensibilidad causados por bergapteno. Los extractos acuoso y etanólico de hojas, corteza y raíz (500 mg/kg) no son tóxicos para peces del género de *Mollinesia* (12.8).

4. JUSTIFICACIÓN

Guatemala es un país rico en flora y fauna, gracias a su clima y sus condiciones geográficas. La flora en especial, ha sido aprovechada desde tiempos inmemorables para la cura y paliación de síntomas de enfermedades que aquejan a la población guatemalteca. Debido a su bajo costo y a las enseñanzas a través de generaciones, siguen siendo utilizadas de forma continua, especialmente en áreas rurales del país.

La alta incidencia de reacciones indeseables por parte de los medicamentos químicos y sintéticos, ha llevado a la población mundial a consumir aquellos productos naturales que por generaciones han realizado su acción sin producir, en muchos casos, los efectos no deseados que acarrear los fármacos.

Actualmente en Guatemala se comercializan varios productos fitoterapéuticos con el objetivo de calmar, sedar o incluso poder conciliar el sueño, ya que se les atribuyen propiedades sobre el sistema nervioso central. Estos productos son elaborados a partir de una o varias especies de plantas medicinales. A algunas de éstas se les han realizado ensayos farmacológicos para comprobar las propiedades que popularmente se les han atribuido (hipnótico – sedante), pero solamente de forma individual. Sin embargo, no se han realizado estudios para las combinaciones de plantas que se utilizan popularmente o que se comercializan en el país para este fin, en diferentes formas farmacéuticas y producidas por diversos laboratorios nacionales e internacionales.

Observando esto, es importante realizar los mismos ensayos farmacológicos a estas combinaciones de infusiones utilizadas en fitoterapia, para poder comprobar que se da un efecto sinérgico benéfico y seguro al asociarlas en una misma forma farmacéutica. De este modo, se evalúa la efectividad y toxicidad aguda de la combinación de la infusión de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión), flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) o pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria), combinaciones ampliamente utilizadas en el país.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Contribuir a la validación de plantas medicinales utilizadas popularmente como sedantes e hipnóticas en Guatemala.

5.2 Específicos

5.2.1 Determinar el efecto sedante e hipnótico producido por el sinergismo de la combinación de la infusión de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión), flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) o pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria) en ratones machos albinos.

5.2.2 Determinar el grado de toxicidad de la combinación de la infusión de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión), flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) o pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria), a través de la determinación de la dosis letal media (DL50) en ratones albinos.

6. HIPÓTESIS

Al combinar la infusión de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión), flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) o pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria) se da una mayor actividad sedante e hipnótica, de baja toxicidad, comparada con el uso aislado de *Valeriana prionophylla* (valeriana) al evaluarlo en ratones machos albinos.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo de Trabajo

Plantas de uso medicinal en Guatemala, a las que se les atribuyen propiedades hipnóticas y sedantes.

7.2 Muestra

7.2.1 Infusión de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) / hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión).

7.2.2 Infusión de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) / flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo).

7.2.3 Infusión de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) / pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria).

7.3 Medios

7.3.1 Recursos Humanos

- Autora: Br. Alba Carolina Barrios Valenzuela
- Asesora: Licda. María Alejandra Ruiz Mayén
- Asesor Estadístico: Lic. Federico Nave

7.3.2 Recursos Institucionales

- Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Departamento de Farmacología y Fisiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.3.3 Recursos Materiales

- Tabla cuadrada de madera con 16 agujeros para Prueba de Curiosidad.
- Rota Rod (eje de madera que gira, sobre el cual están colocados discos verticales a intervalos de 10 cm).

- Tubo de vidrio de 30 cm de largo con una marca situada a 20 cm de la base, para Prueba de Chimenea.
- Ratones albinos machos (sujetos de experimentación) de 20 a 23 g de peso.
- Fármaco de referencia: Haloperidol.
- Fármaco hipnótico: Pentobarbital.
- Balanza para animales.
- Jeringas de 1 ml.
- Sondas orogástricas.
- Lámpara de luz amarilla.
- Cajas de observación.
- Material y equipo de Laboratorio.
- Material de oficina.

7.4 Procedimiento

7.4.1 Revisión Bibliográfica

7.4.2 Identificación de la planta

Realizada por expertos en el Herbario de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.4.3 Preparación de las infusiones

Para realizar la infusión, se pesan 10 gramos de cada planta en la combinación y éstas se agregan a los 100 ml de agua en ebullición. Se dejan reposar debidamente tapadas por 10-15 minutos. Pasado ese tiempo se cuele la infusión.

7.4.4 Diseño de la Investigación

Para las cuatro pruebas se utilizaron ratones elegidos al azar. Se aplicaron cinco tratamientos: control positivo, control negativo, infusión de valeriana sola y las dos dosis para la combinación de las plantas. Se realizaron 5 réplicas de cada uno y se empleó un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Para todas las pruebas:

Ho: La sumatoria de rizoma de *Valeriana prionophylla* con hojas de *Passiflora edulis*, flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* o pericarpio de *Citrus aurantium*

crean un efecto menor o igual al efecto del rizoma de *Valeriana prionophylla* solo.

Ha: La sumatoria de rizoma de *Valeriana prionophylla* con hojas de *Passiflora edulis*, flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* o pericarpio de *Citrus aurantium* crean un efecto mayor al efecto del rizoma de *Valeriana prionophylla* solo.

7.4.5 Determinación de la Actividad Sedante

Para todas las pruebas se utilizaron las mismas condiciones: se trabajaron 25 ratones albinos machos con un peso de 20-23 gramos, asignando 5 ratones por lote experimental. Al lote control (control negativo), se les administró agua. Al lote referencia (control positivo) se le administró vía intraperitoneal haloperidol en una dosis de 5 mg/kg. Al tercer lote, se le administró por vía oral una infusión de *Valeriana prionophylla* al 10%, en una dosis de 1000 mg/kg. Al cuarto y quinto lote, se administró vía oral, la combinación de plantas, manteniendo constante la dosis de la infusión de Valeriana en 1000mg/kg y variando la dosis de la infusión de la planta en la combinación, a una dosis de 750 mg/kg y 1000 mg/kg, respectivamente. Todo esto se administra 30 minutos antes de realizar la observación.

7.4.5.1 *Prueba de la Placa Agujereada (12.34)*

La prueba de la placa agujereada mide la actividad de un ratón en una situación libre. Esta consiste en medir la actividad de un ratón colocado en un lugar constituido por una tabla de 16 agujeros. El ratón pasa periódicamente la cabeza en el agujero. Se determina cada minuto durante 5 minutos, el número de agujeros explorados. Esta prueba permite apreciar la curiosidad, la actividad exploradora y eventualmente la ansiedad del animal.

7.4.5.1.1 Técnica

Los ratones son colocados delicadamente, uno a uno en el centro de la tabla. El número de agujeros explorados es anotado al final de cada minuto durante los 5 minutos. No se toma en cuenta cuando el animal se para delante de un

agujero sin explorarlo, cuando explora los bordes, ni cuando explora dos o más veces el mismo agujero.

7.4.5.1.2 Resultados

Se anota el número de agujeros explorados por minuto durante 5 minutos.

7.4.5.1.3 Análisis Estadístico

Prueba de Kruskal – Wallis a una cola, para luego hacer comparaciones entre los controles (negativo y positivo) y entre las infusiones de las combinaciones de plantas y la infusión de valeriana sola.

7.4.5.2 *Prueba del Equilibrio o Coordinación (Rota Rod) (12.34)*

Este método consiste en buscar la duración del ratón que se mantiene sobre un eje que gira a una velocidad lenta que consiste en un cilindro que da vuelta con discos verticales de 22 cm de diámetro, colocados a intervalos de 10 cm, el movimiento de rotación es de 14 rev/min. La administración anterior de un inhibidor del sistema nervioso central provoca cambios de coordinación produciendo la caída del ratón más o menos rápida.

7.4.5.2.1 Técnica

Se verifica con anterioridad que los ratones sean capaces de mantenerse indefinidamente sobre el eje que gira, son entrenados consecutivamente, observándose durante dos minutos; los ratones que no logran mantenerse se descartan de la prueba.

7.4.5.2.2 Resultados

Se determina la dosis efectiva media (DE_{50}) que hace caer al 50% de ratones en menos de 3 minutos.

7.4.5.2.3 Análisis Estadístico

Se calculará el área bajo la curva de respuesta/tiempo y con ésta se realizará un análisis de varianza (ANDEVA), para luego

realizar la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD) a una cola.

7.4.5.3 *Prueba de la Chimenea* (12.34)

Esta prueba permite estudiar los efectos de los medicamentos sobre las funciones de equilibrio y el tono muscular. Consiste en introducir un ratón en un tubo de vidrio de 30 cm de largo en donde el diámetro es seleccionado según el peso del animal. En dosis altas, la mayoría de los agentes neurolépticos aumentan el tono muscular y es característica la ptosis.

7.4.5.3.1 Técnica

Se coloca el tubo de vidrio en forma horizontal; en él se introduce un ratón con la cabeza de primero. Cuando el animal llega al otro extremo del tubo, se pone el tubo en posición vertical. Inmediatamente el ratón tiende a subir en retroceso. La prueba es positiva cuando la subida se efectúa en menos de 30 segundos.

7.4.5.3.2 Resultados

Se determina la dosis efectiva media (DE_{50}) que inhibe la subida en el 50% de ratones.

7.4.5.3.3 Análisis Estadístico

Se calculará el área bajo la curva de respuesta/tiempo y con ésta se realizará un análisis de varianza (ANDEVA), para luego realizar la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD) a una cola.

7.4.6 Determinación de la Actividad Hipnótica (12.34)

La potenciación de la narcosis es una de las pruebas de sedación que permite medir la influencia de los medicamentos o plantas medicinales sobre la duración del sueño inducida por un hipnótico. Este método es utilizado para el estudio de los psicolépticos, es decir: los hipnóticos, los neurolépticos o tranquilizantes mayores y los tranquilizantes menores.

7.4.6.1 *Condiciones del Ensayo*

Para esta prueba se trabajaron 25 ratones albinos machos con un peso de 20-23 gramos, asignando 5 ratones por lote experimental. Al lote control (control negativo), se les administró agua. Al lote referencia (control positivo) se le administró vía intraperitoneal haloperidol en una dosis de 5 mg/kg. Al tercer lote, se le administró vía oral una infusión de *Valeriana prionophylla* al 10%, en una dosis de 1000 mg/kg. Al cuarto y quinto lote, se administró vía oral, la combinación de plantas, manteniendo constante la dosis de la infusión de Valeriana en 1000mg/kg y variando la dosis de la infusión de la planta en la combinación, a una dosis de 750 mg/kg y 1000 mg/kg, respectivamente. Al transcurrir 30 minutos, se administró vía intraperitoneal Pentobarbital sódico en una dosis de 60 mg/kg a todos los ratones por igual.

7.4.6.2 *Resultados*

El criterio es la pérdida del reflejo de enderezamiento que permite anotar el tiempo de endormecimiento. El regreso del reflejo de enderezamiento marca el despertar del ratón. Los resultados se reportan en una tabla en donde se anota particularmente el tiempo de endormecimiento del ratón y la pérdida de sueño (despertar). Se comparan los tiempos de endormecimiento y los tiempos de sueño de los animales testigos y de los tratados.

7.4.6.3 *Análisis Estadístico*

Análisis de varianza (ANDEVA) y prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD) a una cola.

7.4.7 Determinación de la Dosis Letal Media (DL50) (12.34)

La dosis letal media es un valor estadísticamente derivado de la administración de una dosis única de una sustancia que puede provocar la muerte del 50% de los animales de experimentación. La dosis se define en gramos o miligramos por kilogramo de peso corporal del animal. El procedimiento se basa en el método de Sperman y Karber. Se procede a un ensayo preliminar para

determinar la zona del ensayo definitivo, que debe situarse entre la dosis más fuerte a la cual todos los animales sobreviven y la dosis más débil en la cual todos los animales mueren.

7.4.7.1 *Condiciones del Ensayo*

Para esta prueba se trabajan 25 ratones albinos con un peso de 22 ± 10 gramos, asignando 5 ratones por lote experimental, sometidos a un régimen de dieta de 12 horas, antes del experimento. A cada lote se le administrará una dosis entre 1 a 5 g/kg de la infusión de la combinación de plantas medicinales a evaluar por vía oral. Luego, los animales son observados a: 1, 4, 8, 12, 48 y 72 horas, sucesivamente durante 8 días. Se evalúan: alteración de los pelos y mucosas, sistema respiratorio y circulatorio, sistema nervioso central y periférico, actividad somatomotriz y del comportamiento, temblores, hipersialorrea, sudoración, convulsiones, cromodacriorrea, etc.

7.4.7.2 *Resultados*

Los datos obtenidos se analizan utilizando la fórmula de Karber y Beherens:

$$DL_{50} = D_f - \frac{(a \times b)}{n}$$

Donde:

D_f = Primera dosis que mata a todos los animales del grupo

a = Suma de muertos de 2 lotes consecutivos

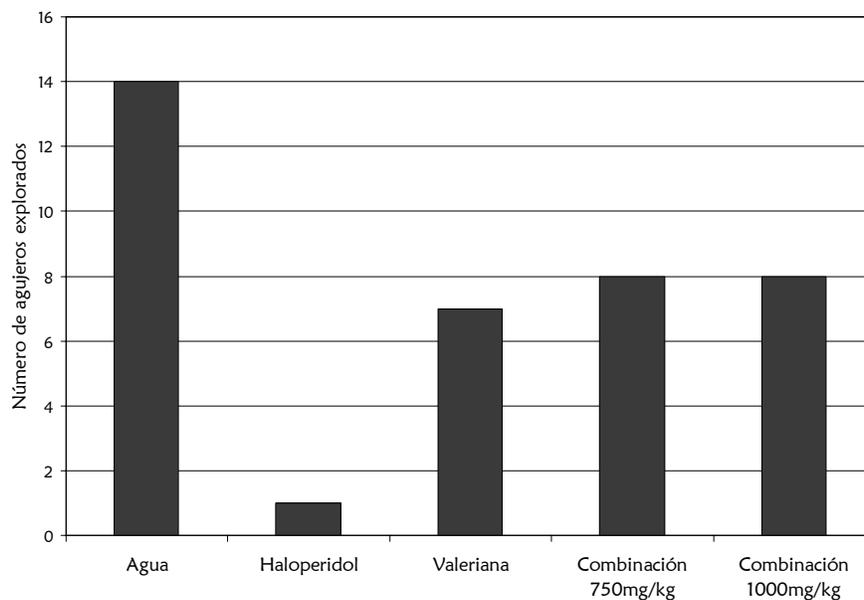
b = Diferencia entre dosis consecutivas entre lotes, expresadas en mg

n = Número de animales por lote

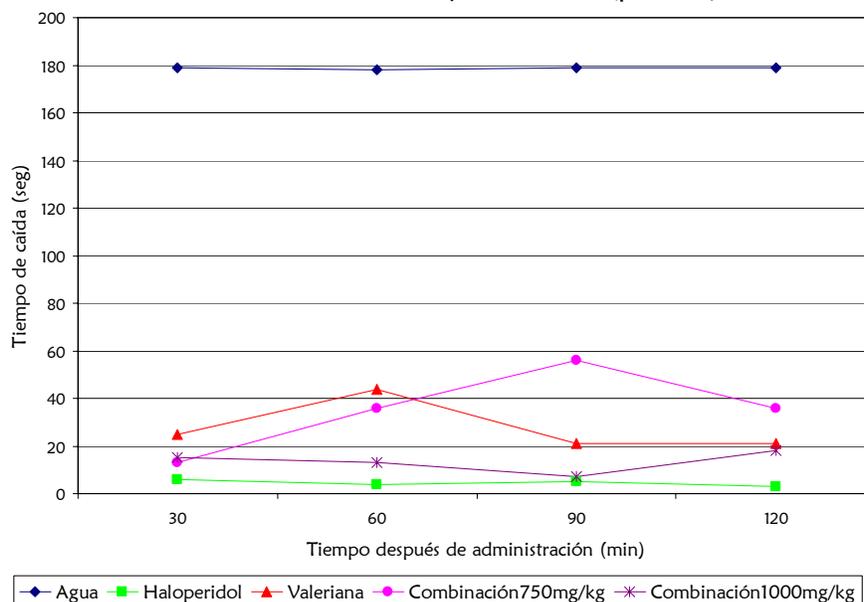
8. RESULTADOS

8.1 Combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* y hojas de *Passiflora edulis*

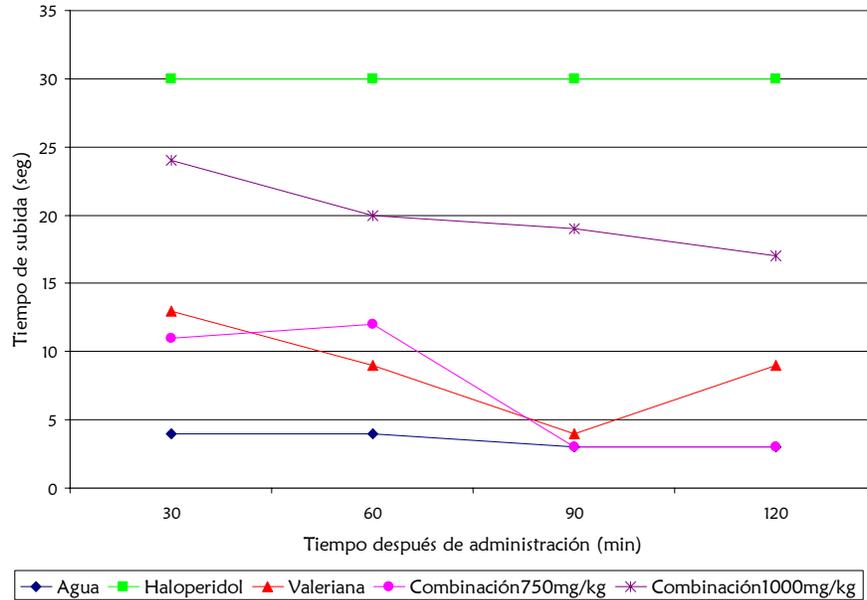
Gráfica 1. Prueba de Placa Agujereada. La combinación no ejerce un mayor efecto sedante ($p > 0.05$).



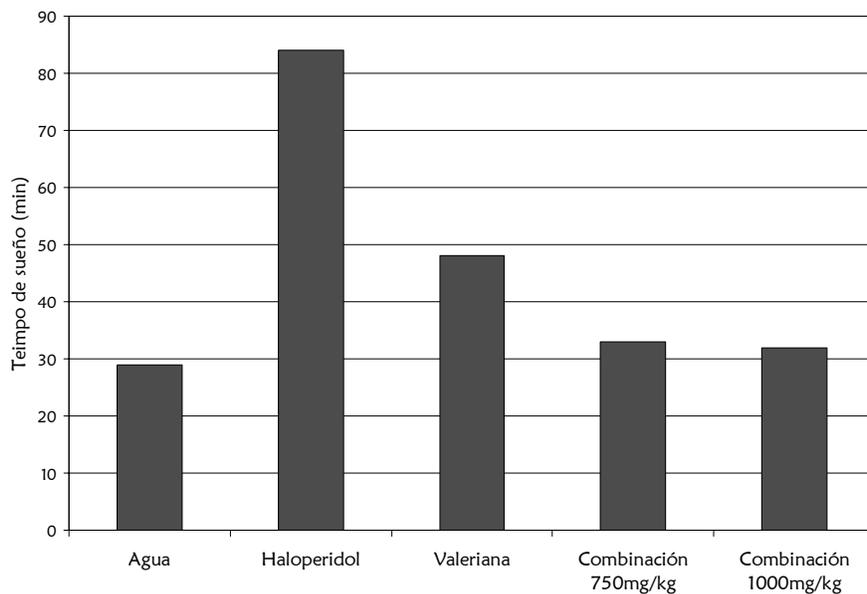
Gráfica 2. Prueba de Rota Rod. No existe diferencia estadísticamente significativa entre la combinación y la valeriana ($p > 0.05$).



Gráfica 3. Prueba de Chimenea. La combinación a dosis de 1000mg/kg incrementa significativamente la respuesta con relación a la valeriana ($p=0.022$).

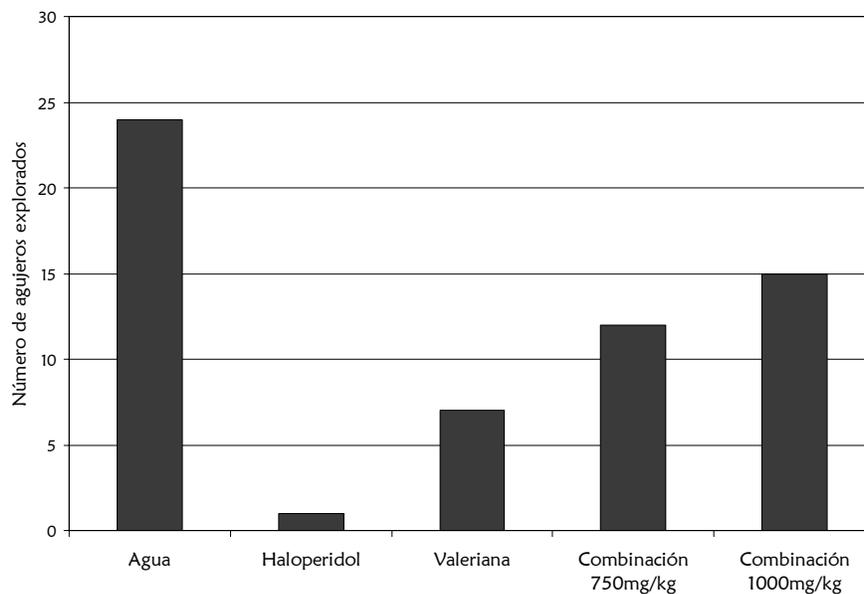


Gráfica 4. Prueba de Potenciación de Sueño. La combinación no incrementa significativamente la respuesta con relación a la valeriana, pero sí la disminuye significativamente a ambas dosis ($p<0.00001$).

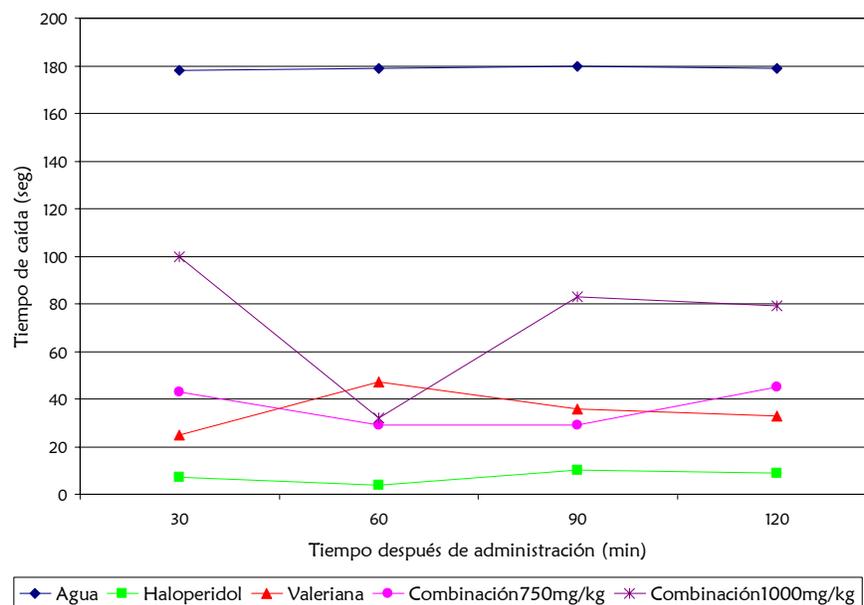


8.2 Combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* y flor con bráctea de *Tilia platyphyllos*

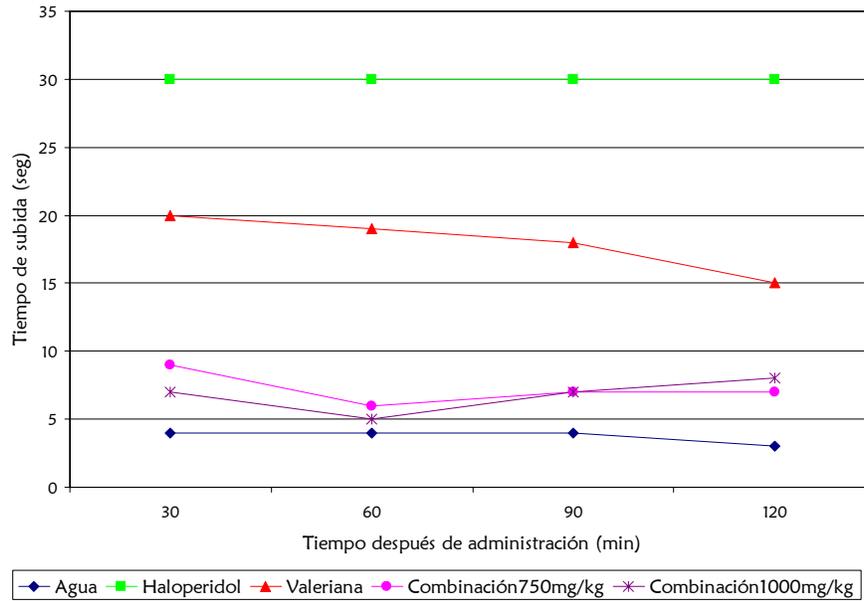
Gráfica 5. Prueba de Placa Agujereada. No existe diferencia significativa entre las dos dosis de Tilo frente a Valeriana ($p>0.05$).



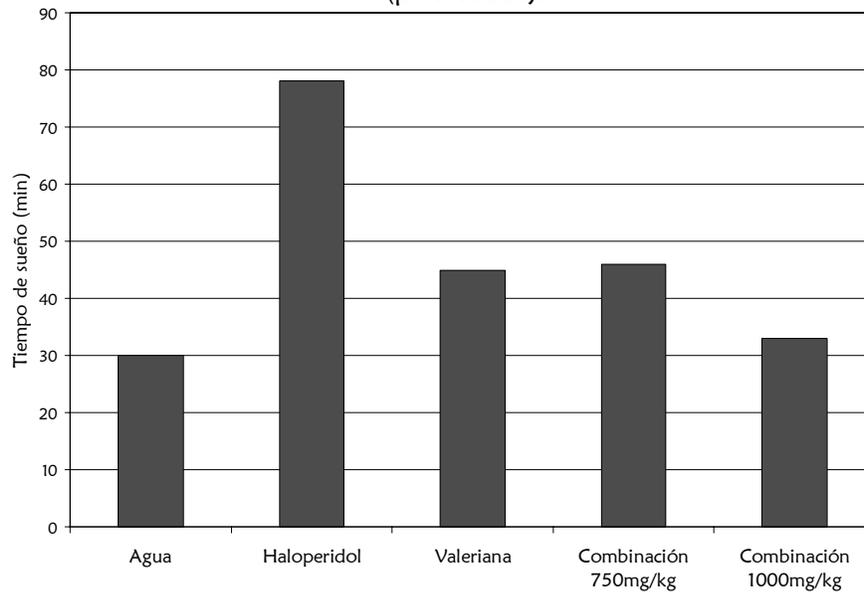
Gráfica 6. Prueba de Rota Rod. No existe diferencia significativa entre las dos dosis de Tilo frente a Valeriana ($p>0.05$).



Gráfica 7. Prueba de Chimenea. La combinación no incrementa significativamente la respuesta con relación a la valeriana, sin embargo, ambas dosis tienden a disminuir la respuesta de manera significativa ($p < 0.00001$).

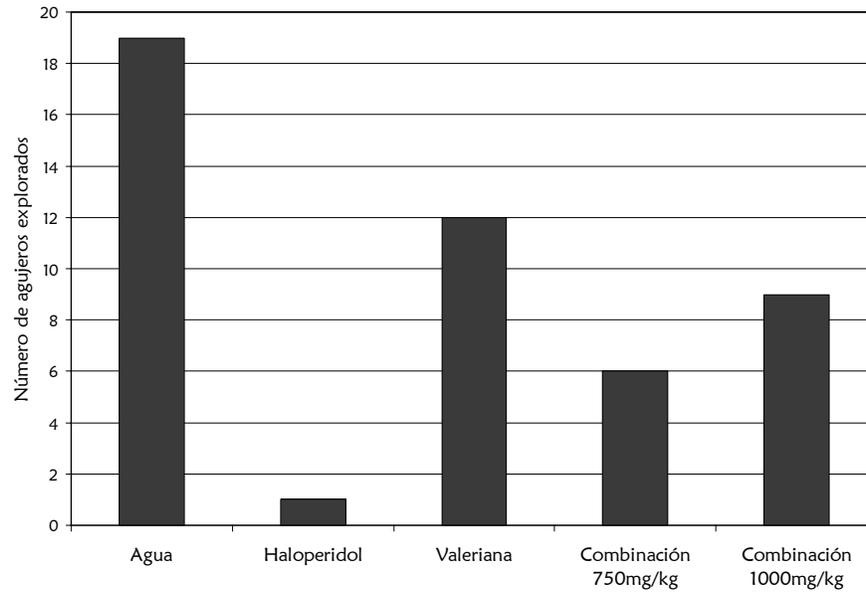


Gráfica 8. Prueba de Potenciación de Sueño. La combinación a dosis de 1000mg/kg disminuye de manera significativa el efecto respecto a la valeriana ($p < 0.00001$).

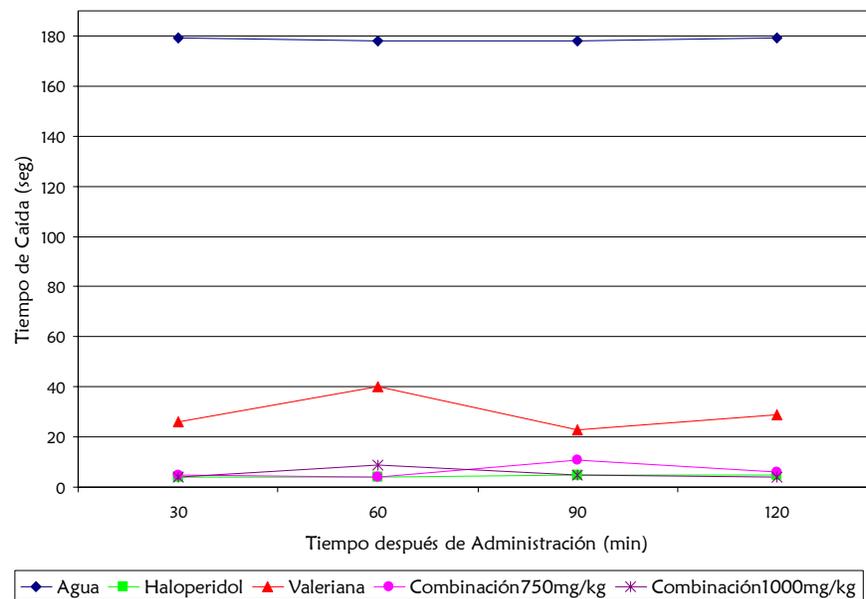


8.3 Combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* y pericarpio *Citrus aurantium*

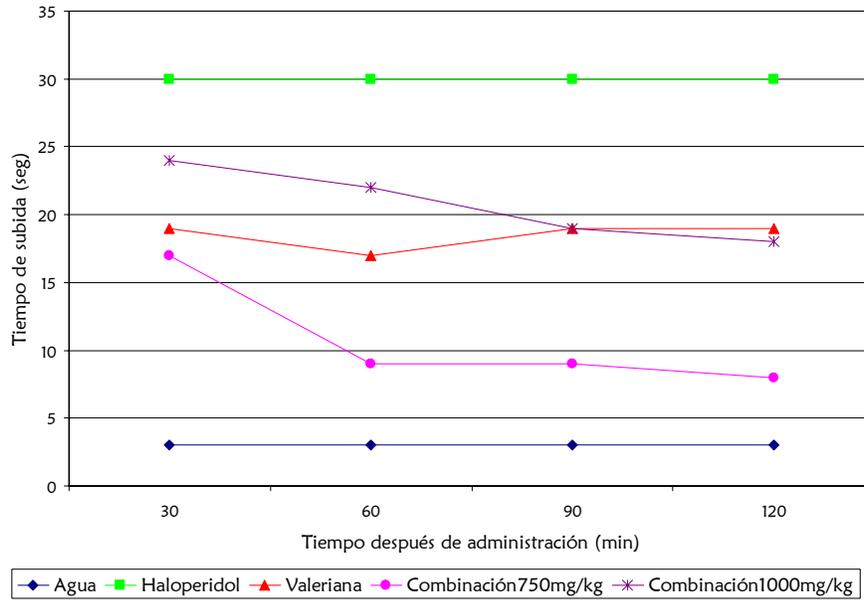
Gráfica 9. Prueba de Placa Agujereada. No existe diferencia significativa entre las dos dosis de la combinación frente a Valeriana ($p > 0.05$).



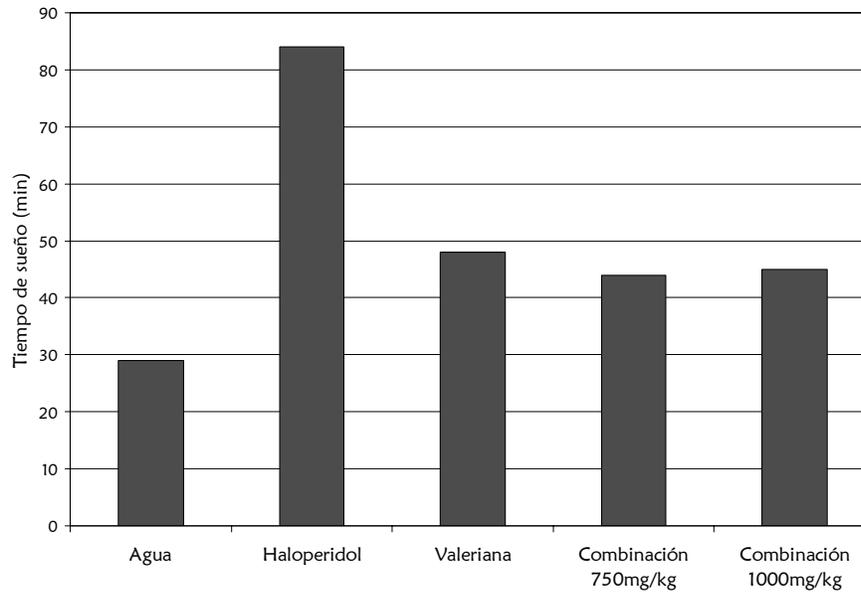
Gráfica 10. Prueba de Rota Rod. No existe diferencia significativa entre las dos dosis de la combinación frente a Valeriana ($p > 0.05$).



Gráfica 11. Prueba de Chimenea. No existe diferencia significativa entre las dos dosis de la combinación frente a Valeriana ($p > 0.05$).



Gráfica 12. Prueba de Potenciación de Sueño. No existe diferencia significativa entre las dos dosis de la combinación frente a Valeriana ($p > 0.05$).



9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las plantas utilizadas en las combinaciones estudiadas, evidencian efectos sedantes y/o hipnóticos de forma aislada por lo que en esta investigación se evaluó la actividad de hojas de *Passiflora edulis*, flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* o pericarpio de *Citrus aurantium* en combinación con un elemento en común, rizoma de *Valeriana prionophylla*. A continuación se analiza cada combinación de plantas, considerando las pruebas de la placa agujereada, capaz de evaluar el nivel de curiosidad, actividad exploratoria y eventualmente la ansiedad del animal; la prueba de rota rod, que estima el equilibrio o coordinación y la de chimenea, donde se estudian las funciones de equilibrio y el tono muscular, como las tres pruebas que evalúan el efecto sedante. La prueba de potenciación de sueño es la única utilizada para valorar el efecto hipnótico.

Para la combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* con hojas de *Passiflora edulis*, en la prueba de placa agujereada, se observa que las dos variantes de la combinación, no presentan una mejoría significativa con respecto a la valeriana sola (ver gráfica 1). En la prueba de Dunnett, tanto el fármaco de referencia como la valeriana presentan diferencias significativas ($p < 0.05$), no así las dos dosis de *Passiflora edulis* ($p > 0.05$), contra el control negativo. Según la prueba de Fisher, no existe diferencia evidente entre las dos dosis de pasiflora frente a valeriana ($p > 0.05$). Es decir, la combinación de valeriana con pasiflora no incrementa significativamente la respuesta con relación a la valeriana sola. En la prueba de rota rod, se puede ver que las dos dosis de pasiflora se encuentran muy cercanas al efecto del fármaco de referencia (ver gráfica 2), sin embargo, estadísticamente, a pesar que según la prueba de Dunnett (contra el control negativo), todos los tratamientos presentan diferencia significativa ($p < 0.05$), la prueba de Fisher determina que no existe diferencia demostrativa entre las dos dosis de pasiflora frente a valeriana ($p > 0.05$). Siguiendo con la evaluación del efecto sedante, en el análisis de la prueba de la chimenea, se encuentra que la dosis de 1000mg/kg de la combinación si mejora claramente el efecto provocado por la valeriana, observándose el mayor efecto 30 minutos después de la administración, para ir disminuyendo gradualmente a través del tiempo (ver gráfica 3). Según la prueba de Dunnett, tanto el fármaco de referencia como la dosis 1000mg/kg presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) contra el control negativo, sin embargo, la valeriana y la dosis 750

no la presentan ($p > 0.05$). La prueba de Fisher corrobora que solamente la combinación con pasiflora a dosis de 1000mg/kg incrementa de forma manifiesta la respuesta con relación a la valeriana ($p = 0.022$). Esto lleva a concluir que la combinación de pasiflora y valeriana a dosis de 1000mg/kg es positiva solamente en la prueba de la chimenea. Para la evaluación de la actividad hipnótica, se obtiene que en la prueba de potenciación de sueño, que la combinación de las plantas ejerce un efecto antagónico en el adormecimiento del ratón (ver gráfica 4), ya que no aumenta el tiempo de sueño, sino que por el contrario, lo disminuye. Esto puede atribuirse a una posible incompatibilidad entre el pentobarbital (fármaco hipnótico utilizado), la valeriana y la pasiflora. Sin embargo, no se puede dilucidar exactamente cuál es la asociación que realiza el efecto desfavorable. Según la prueba de Dunnett todos los tratamientos presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) y la prueba de Fisher determina que la combinación con pasiflora no incrementa evidentemente la respuesta con relación a la valeriana, pero sí la disminuye de una forma notoria a ambas dosis ($p < 0.00001$). Con esto es posible determinar que la combinación antes mencionada, no ejerce un efecto sedante mayor al observado en el uso aislado de valeriana y para el efecto hipnótico, ejerce una acción contraproducente al asociarlas y utilizarlas como tal.

En la combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* y flor con bráctea de *Tilia platyphyllos*, se percibe mediante la prueba de la placa agujereada que existe una diferencia de efecto opuesta a la deseada en la combinación de las plantas, es decir puede existir un pequeño efecto antagonista entre ellas (ver gráfica 5). Cabe mencionar que la dosis de 1000mg/kg presenta más esta diferencia, sin embargo, según prueba estadística no es clara. En la prueba de rota rod, se observa de nuevo lo mencionado anteriormente (ver gráfica 6). La dosis de 1000mg/kg disminuye el efecto causado por el uso de valeriana aislada. Para ambas pruebas se encontró según la prueba de Dunnett que todos los tratamientos presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) contra el control negativo. Además, en la prueba de Fisher, se concluye que no existe diferencia significativa entre las dos dosis de tilo frente a valeriana ($p > 0.05$). Es decir, la combinación con tilo no incrementa de forma evidente la respuesta con relación a la valeriana aislada. Sin embargo, en la prueba de chimenea se encuentra que ambas dosis disminuyen el efecto realizado por la valeriana, es decir, se observa una incompatibilidad importante entre la combinación evaluada en las dos

dosis (ver gráfica 7). Estadísticamente, esto se comprueba, la prueba de Dunnett indica que tanto el fármaco de referencia, la valeriana y la dosis de 750 de tilo, presentan diferencia significativa ($p < 0.05$). La dosis de 1000 de tilo no presenta diferencia significativa ($p > 0.05$) contra agua. Sin embargo, en la prueba de Fisher se concluye que no existe diferencia significativa entre las dos dosis de tilo frente a valeriana ($p > 0.05$). Es decir, la combinación con tilo no incrementa de forma evidente la respuesta con relación a la valeriana, sin embargo, se observa que ambas dosis tienden a disminuir la respuesta y lo hacen de manera significativa ($p < 0.00001$). En la evaluación de la actividad sedante, entonces se puede decir, que a dosis de 1000mg/kg de la combinación de valeriana y tilo, se observa un efecto antagónico notorio en todas las pruebas, sin embargo, a dosis de 750mg/kg, esta incompatibilidad no es tan evidente. En la evaluación de la actividad hipnótica, con la prueba de potenciación de sueño, se muestra que el efecto de la combinación a dosis de 750 es igual al ejercido por la valeriana sola (ver gráfica 8). Sin embargo, la dosis de 1000 disminuye el efecto de la valeriana. Esto se comprueba con la prueba de Dunnett y la prueba de Fisher donde se concluye que el fármaco de referencia, la valeriana y la dosis 750 presentan diferencia significativa ($p < 0.05$), no así la dosis 1000 ($p > 0.05$) comparadas con el control negativo y que la combinación con tilo no incrementa significativamente la respuesta con relación a la valeriana; la dosis de 1000, presenta diferencia evidente respecto a la valeriana, pero en sentido contrario, es decir que disminuye significativamente la respuesta ($p < 0.00001$). Con todo el análisis sedante e hipnótico, puede corroborarse que la dosis de 1000 realiza un efecto antagónico mayor en la combinación. Esto se puede atribuir que a mayor dosis o concentración de tilo, el efecto ejercido por la valeriana se ve más afectado. Con esto, también es factible deducir la posibilidad de competitividad por receptores y ya que el tilo solamente tiene comprobada acción hipnótica a dosis de 750, al ocupar el receptor no ejerce acción sedante alguna y evita que se lleve a cabo el potencial efecto de la valeriana. Dicho todo esto, se concreta que la combinación antes mencionada, no ejerce un efecto sedante ni hipnótico mayor al observado en el uso aislado de valeriana y por el contrario ejerce una acción desfavorable al asociarlas y utilizarlas para este fin.

Para la combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* con pericarpio de *Citrus aurantium*, se aprecia en la prueba de la placa agujereada que las dos dosis de naranja agria disminuyen el número de agujeros explorados por parte del ratón (ver gráfica 9), sin embargo, esta diferencia no es evidente durante las pruebas de estadística. En la prueba de rota rod, se observa que ambas dosis de la combinación ejercen un mayor efecto que la valeriana sola (ver gráfica 10). Sin embargo, como en la prueba anterior, esto no es probado de forma absoluta en los ensayos estadísticos. Por esto, para las dos pruebas, placa agujereada y rota rod, se determina en la prueba de Dunnett (contra el control negativo), que tanto el fármaco de referencia, la valeriana, como las dos dosis presentan diferencia significativa ($p < 0.05$). Mientras en la prueba de Fisher (contra valeriana), no existe diferencia significativa entre las dos dosis de naranja agria frente a valeriana ($p > 0.05$). Es decir, la combinación con naranja agria no incrementa significativamente la respuesta con relación a la valeriana. En la prueba de chimenea, se observa que la dosis de 750 y la dosis de 1000, disminuye y aumenta el efecto que realiza la valeriana sola, respectivamente (ver gráfica 11). No obstante, en los ensayos estadísticos se concluye en la prueba de Dunnett que tanto el fármaco de referencia, la valeriana y la dosis de 1000 presentan diferencia significativa ($p < 0.05$), mientras la dosis de 750 no la presenta ($p > 0.05$). En la prueba de Fisher se determina que no existe diferencia significativa entre las dos dosis de naranja agria frente a Valeriana ($p > 0.05$). Es decir, la combinación con naranja agria no incrementa significativamente la respuesta con relación a la valeriana. Con todo, se puede afirmar que para el efecto sedante, la asociación evaluada no presenta ningún beneficio, ya que ejerce una acción igual o menor a la efectuada por la valeriana sola. Para la prueba de potenciación de sueño, donde se evalúa la actividad hipnótica, se tiene que la combinación en ambas dosis deriva a un resultado parecido al obtenido con la valeriana aislada (ver gráfica 12). Es decir que como para las primeras dos pruebas de sedantes, la prueba de Fisher determina que no existe diferencia significativa entre las dos dosis de naranja agria frente a Valeriana ($p > 0.05$). Es decir, la combinación con naranja agria no incrementa significativamente la respuesta con relación a la valeriana. Con esto, es posible aseverar que la combinación de valeriana y naranja agria, en cualquiera de las dosis, no ejerce un efecto mayor al observado en el uso de valeriana aislada.

Como pudo observarse, ninguna de las combinaciones investigadas, manifiestan un efecto mayor de beneficio. Incluso, la combinación de valeriana y tilo, muestra que, por el contrario, ejerce un efecto contrario, ya que disminuye significativamente el efecto que puede realizar la valeriana. Cabe mencionar que debido a la efectividad demostrada de las plantas por separado, valdría la pena probar las combinaciones con los extractos que manifiestan el mayor efecto sedante y/o hipnótico.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 La combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* con hojas de *Passiflora edulis* a dosis de 1000mg/kg es positiva solamente en la prueba de la chimenea, determinándose que la asociación no ejerce un efecto sedante mayor al observado en el uso aislado de valeriana y para el efecto hipnótico, ejerce una acción contraria al combinarlas y utilizarlas como tal en ratones machos albinos.
- 10.2 La combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* y flor con bráctea de *Tilia platyphyllos*, a dosis de 1000mg/kg presenta un efecto antagónico notorio en todas las pruebas, sin embargo, a dosis de 750mg/kg, esta incompatibilidad no es tan evidente; es decir, ejerce un efecto sedante e hipnótico menor al observado en el uso aislado de valeriana en ratones machos albinos.
- 10.3 La combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* con pericarpio de *Citrus aurantium* en cualquiera de las dosis, no ejerce un efecto sedante e hipnótico mayor al observado en el uso de valeriana aislada en ratones machos albinos.
- 10.4 Se acepta la hipótesis nula que expresa que la sumatoria de rizoma de *Valeriana prionophylla* con hojas de *Passiflora edulis*, flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* o pericarpio de *Citrus aurantium* crean un efecto sedante e hipnótico menor o igual al efecto del rizoma de *Valeriana prionophylla* solo.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Continuar con los estudios de validación farmacológica de plantas de la flora guatemalteca, solas y en asociación, a las cuales se les atribuye propiedades farmacológicas.
- 11.2 Acompañar el estudio de validación farmacológica de un tamizaje fitoquímico para identificar y evaluar la presencia de las sustancias a las que se les atribuye la actividad farmacológica.
- 11.3 Debido a la efectividad demostrada de las plantas utilizadas en este estudio, por separado, valdría la pena probar las combinaciones con los extractos que manifiestan el mayor efecto sedante y/o hipnótico de cada una de ellas.

12. REFERENCIAS

- 12.1 TODO PLANTAS. 2005. ¿Por Qué Emplear Plantas Medicinales? Consultado en: 10 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.todoplantitas.net/>
- 12.2 ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. 2006. Grupo De Trabajo En Plantas Medicinales, Segunda Reunión. Brasil. Consultado en: 10 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/PM-IIReunion-Spanish-Marzo06.pdf>
- 12.3 COMISIÓN NACIONAL PARA EL APROVECHAMIENTO DE PLANTAS MEDICINALES. 1996. Biodiversidad De Plantas Medicinales: Conservación Y Manejo. Memorias del IX Seminario Nacional de Plantas Medicinales y VI Exposición Nacional de Plantas Medicinales y Productos Derivados. Guatemala. Pp. 140.
- 12.4 VILLATORO, E. 2005. Etnomedicina En Guatemala. Editorial Universitaria. Guatemala. Pp. 298.
- 12.5 OCAMPO, R. 1994. Domesticación De Plantas Medicinales En Centroamérica. CATIE. Costa Rica. Pp. 132.
- 12.6 REGLAMENTO PARA EL CONTROL SANITARIO DE LOS MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS AFINES. 1999. Acuerdo Gubernativo Número 712-99. Guatemala. Pt 52.
- 12.7 ROCA, C. y SARAIVIA, A. 2005. Evaluación Comparativa de la Acción Sedante e Hipnótica de un Elíxir Fitoterapéutico y la Combinación de las Plantas Originales. Tesis *Ad Gradum*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Pp. 77.
- 12.8 CÁCERES, A. 1999. Plantas De Uso Medicinal En Guatemala. Editorial Universitaria. Guatemala. Pp. 402.
- 12.9 WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1999. WHO Monographs On Selected Medicinal Plants. V. 1. WHO Graphics. Malta. Pp. 289.
- 12.10 PIÑEROS, J. et al. 1992. Plantas Medicinales (Compendio De Farmacología Vegetal). 2ª edición. Fondo Editorial Universitario. Colombia. Pp. 211.

- 12.11 PICCINELLI, A. et al. 2004. New Lignans From The Roots Of *Valeriana prionophylla* With Antioxidative And Vasorelaxant Activities. Journal of Natural Products. No. 67. Estados Unidos. Consultado en: 12 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.afns.ualberta.ca/Courses/NUTR479/Reading%20and%20papers%20for%20presentations/Valeriana%20plant%20properties.pdf>
- 12.12 CRUZ, A. y CRUZ, S. 2005. Evaluación De La Actividad Biocida E Identificación Química De Valepotriatos En Tres Plantas Reconocidas Popularmente En Guatemala Como Valeriana. Tesis *Ad Gradum*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Pp. 47.
- 12.13 PLAZA, E. et al. Medicina Herbolaria Kallawaya. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Talleres Gráficos de la Corporación Regional de Desarrollo de Tarija. Bolivia. Pp. 167.
- 12.14 CIFUENTES, E. y ORTEGA, M. 1990. Herbolaria y Tradiciones Etnomédicas En Un Pueblo Nahua. Coordinación de la Investigación Científica. México. Pp. 146.
- 12.15 BONILLA, J.A. y SARAIVA, A. 2003. Validación Farmacológica de la Acción Sedante e Hipnótico de las Hojas de *Passiflora edulis* (Granadilla o Flor de la Pasión), de las Hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio) y de las Hojas de *Hypericum perforatum* (Hipérico). Tesis *Ad Gradum*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Pp. 62.
- 12.16 INFOJARDIN. 2006. Pasiflora. España. Consultado en: 14 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.infojardin.net/fichas/plantas-medicinales/passiflora-incarnata.htm>
- 12.17 VENTURA, M. y CÁCERES, A. 2003. Equiparación Fitoquímica entre Cuatro Especies de Passifloraceae Usadas Medicinalmente en Guatemala. Tesis *Ad Gradum*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Pp. 81.
- 12.18 *Passiflora edulis* Sims. Passionfruit. Consultado en: 28 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.fs.fed.us/global/iitf/pdf/shrubs/Passiflora%20edulis.pdf>
- 12.19 GILMAN, E. 1999. *Passiflora edulis*. University of Florida, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences. Fact Sheet FPS-456. Estados

- Unidos. Consultado en: 30 de enero de 2007. Disponible en: <http://hort.ifas.ufl.edu/shrubs/PASEDUA.PDF>
- 12.20 CALIFORNIA RARE FRUIT GROWERS. 1996. Passion Fruit. Estados Unidos. Consultado en: 25 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.crfg.org/pubs/ff/passionfruit.html>
- 12.21 DHAWAN, K. et al. 2004. *Passiflora* A Review Update. Journal of Ethnopharmacology. V. 94. Estados Unidos. Pp. 54.
- 12.22 DHAWAN, K., KUMAR, S. y SHARMA, A. 2001. Comparative Biological Activity Study On *Passiflora incarnata* And *P. edulis*. Fitoterapia. V. 72. Estados Unidos. Consultado en: 19 de enero de 2007. Disponible en: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6VSC-43VYMCC-J&_user=10&_coverDate=08%2F31%2F2001&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=9163e0e2c03e31e0ed0886b8872aee4c
- 12.23 IPGRI/CIRAD-FLHOR, IPGRI-AMERICAS. 2000. Fruits Of America, An Ethnobotanical Inventory. Colombia. Consultado en: 16 de enero de 2007. Consultada en: 13 de enero de 2007. Disponible en: http://www.ciat.cgiar.org/ipgri/fruits_from_americas/frutales/fruits_from_america.htm
- 12.24 TRAMIL. 1995. Hacia Una Farmacopea Caribeña. Investigación Científica y Uso Popular de Plantas Medicinales en el Caribe. 7ª Edición. Editorial Lionel Germosén-Robineau. República Dominicana. Pp. 696.
- 12.25 PLANTAS MEDICINALES. 2004. Instituto Químico Biológico. España. Consultado en: 15 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma06/plantas/pp24sm.htm>
- 12.26 KILLEEN, T. et al. 1993. Guía De Árboles De Bolivia. Herbario Nacional de Bolivia Missouri Botanical Garden. Editorial del Instituto de Ecología Universidad Mayor de San Andrés. Bolivia. Pp. 958.
- 12.27 SOLÍS, F. 1983. Contribución Al Estudio Farmacológico De La *Tilia mexicana* (Tilo). Tesis *Ad Gradum*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Pp. 35.

- 12.28 PAZ, E. et al. 1992. Yuyos, Uso Racional De Las Plantas Medicinales. Editorial Fin de Siglo. Uruguay. Pp. 157.
- 12.29 RODAS, G. y SARAVIA, A. 1990. Evaluación de la Efectividad de Acción Antiespasmódica *In Vitro* de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela), *Citrus aurantium* (Naranja Agria) y *Quercus* sp. (Encino), distribuidas en los Centros Naturistas de la Ciudad de Guatemala. Tesis *Ad Gradum*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Pp. 74.
- 12.30 CABRERA, E. y NAVAS, G. 1994. Determinación de la Actividad Cicatrizante de las hojas de *Citrus aurantium* (Naranja Agria) y hojas de *Eucalyptus* sp. (Eucalipto) en las heridas producidas en ratas albinas. Tesis *Ad Gradum*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. Pp. 50.
- 12.31 BALBACH, A. 1990. Las Maravillosas Curas Del Limón Y De La Naranja. S.n.Ed. Colombia. Pp. 205.
- 12.32 GERMOSÉN-ROBINEAU, L. et al. 1997. Farmacopea Vegetal Caribeña. Ediciones Emile Désormeaux. República Dominicana. Pp. 360.
- 12.33 HOUSE, P. R. 1995. Plantas Medicinales Comunes De Honduras. Litografía López. Honduras. Pp. 555.
- 12.34 SARAVIA, A. 2005. Manual De Ensayos Toxicológicos y Farmacológicos Experimentales *in Vivo* e *in Vitro*. Editorial Universitaria. Pp. 621.
- 12.35 QUER, F. 1982. Diccionario de Botánica. Editorial Labor S.A. España. Pp. 1244.

13. ANEXOS

13.1 Identificación Botánica (12.35)

- *Valeriana prionophylla* (valeriana)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub-clase: Sympetalae

Orden: Rubiales

Familia: Valerianaceae

Género: *Valeriana*

Especie: *prionophylla*



- *Passiflora edulis* (flor de la pasión)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub-clase: Dillenidae

Orden: Violales

Familia: Passifloraceae

Género: *Passiflora*

Especie: *edulis*



- *Tilia platyphyllos* (tilo)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub-clase: Dyalypetaleae

Orden: Columniferae

Familia: Tiliaceae

Género: *Tilia*

Especie: *platyphyllos*



- *Citrus aurantium* (naranja agria)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub-clase: Choripetalce

Orden: Therebintales

Familia: Rutaceae

Género: *Citrus*

Especie: *aurantium*

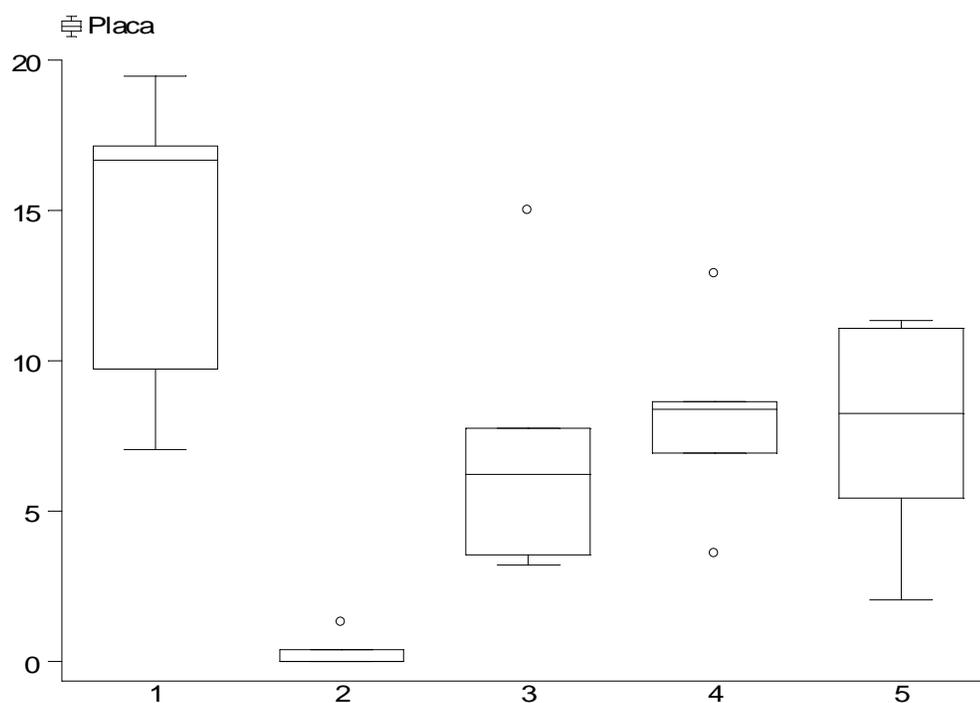


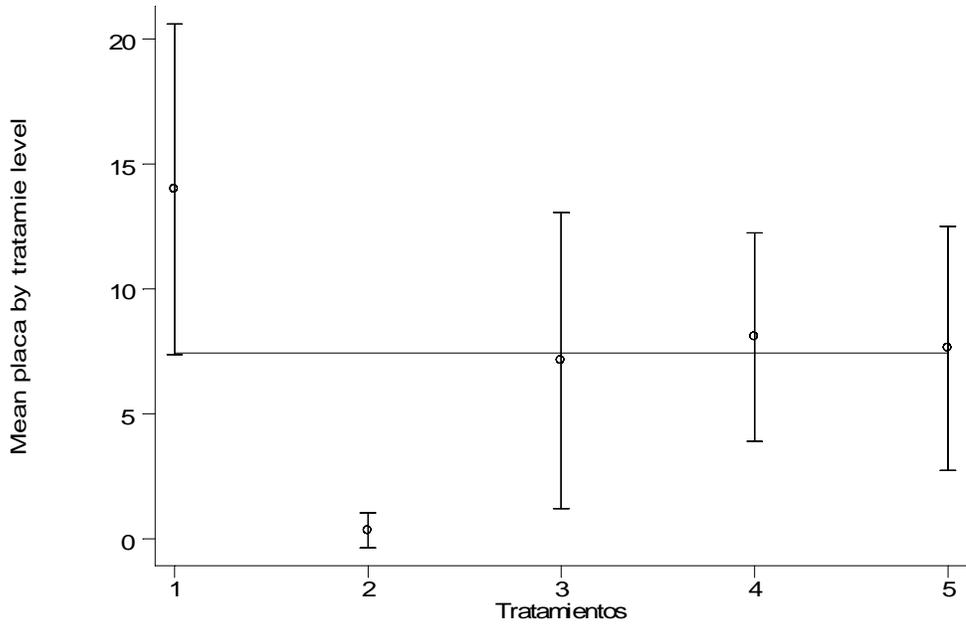
13.2 Gráficas de Caja de Tukey

CLAVE DE GRÁFICAS	
Número de Identificación	Tratamiento
1	Grupo control negativo (agua)
2	Grupo control positivo (fármaco referencia, haloperidol)
3	Infusión de Valeriana prionophylla 10%, 1000mg/kg
4	Combinación dosis 750mg/kg
5	Combinación dosis 1000mg/kg

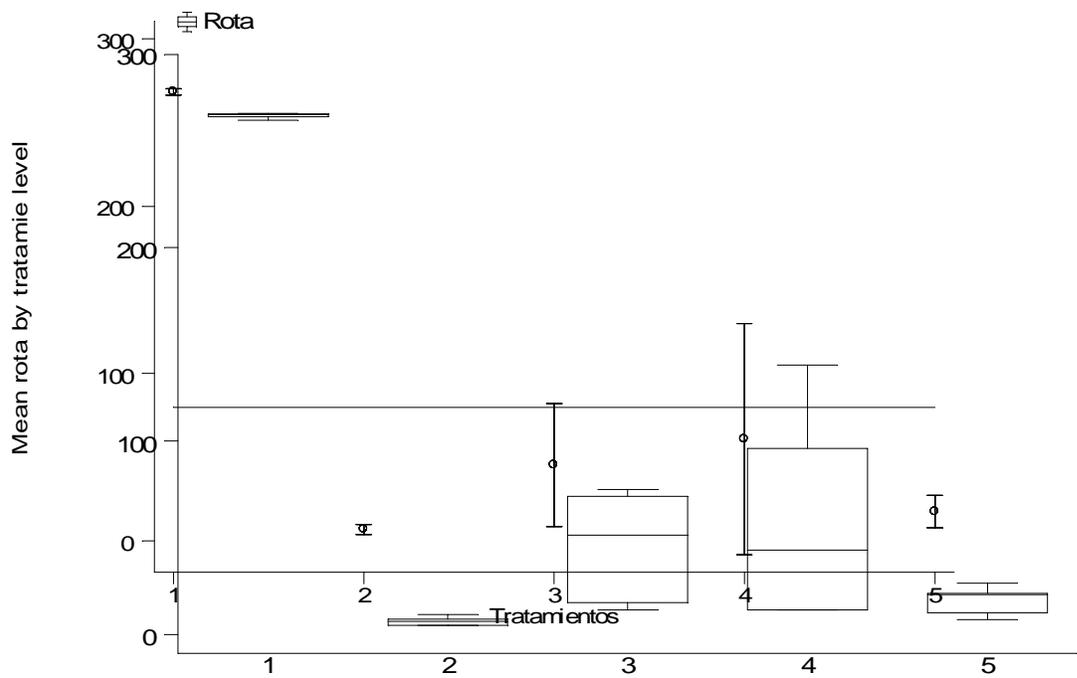
13.2.1 Combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* y hojas de *Passiflora edulis*

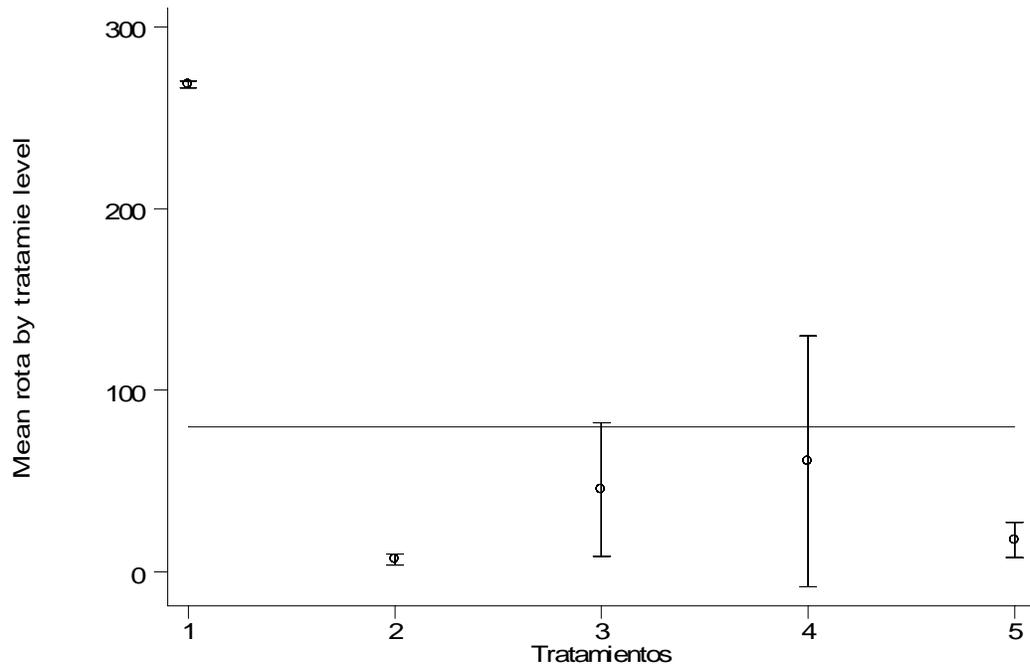
13.2.1.1 Prueba de Placa Agujereada



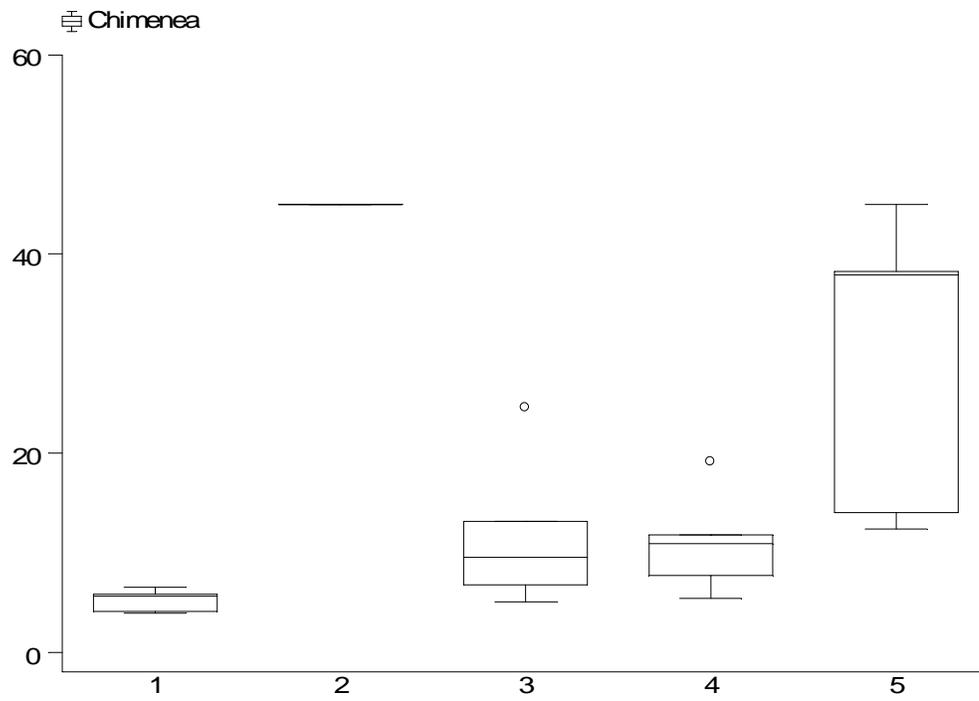


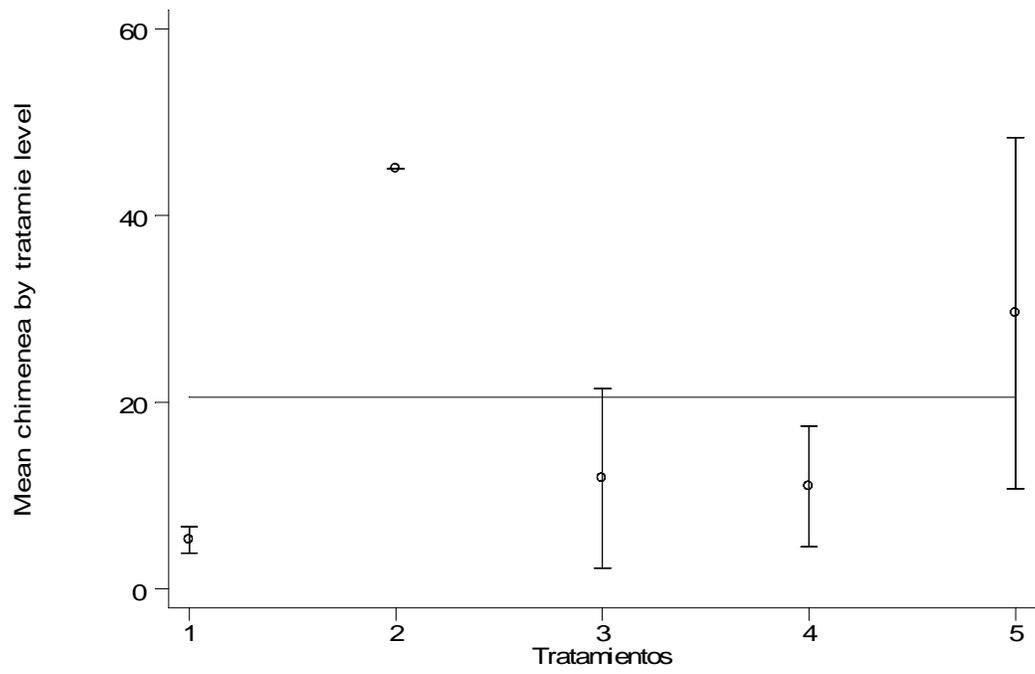
13.2.1.2 Prueba de Rota Rod



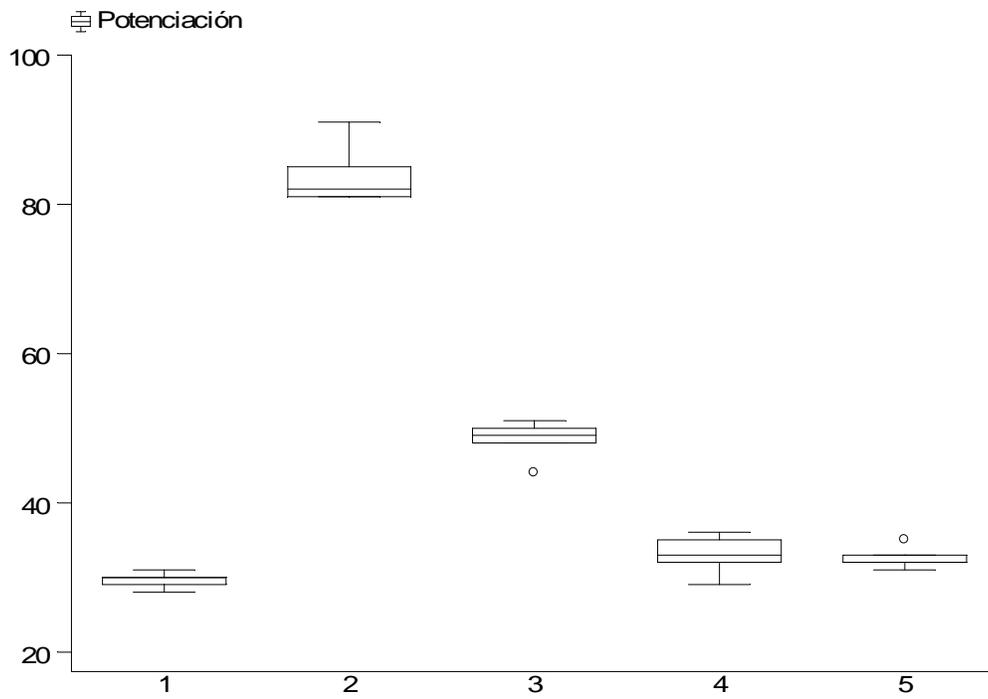


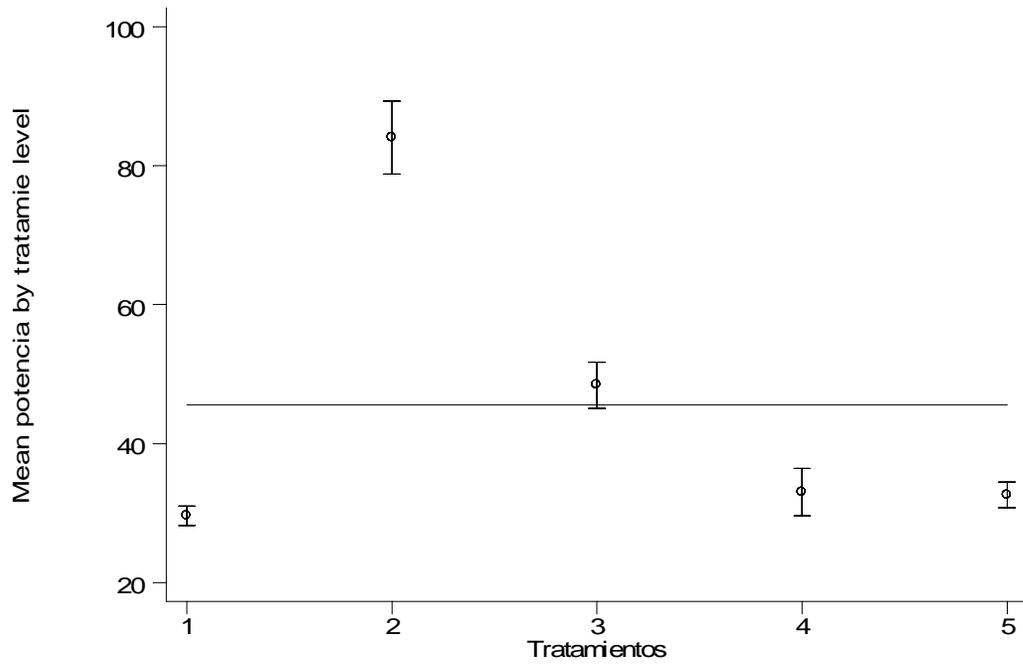
13.2.1.3 Prueba de Chimenea





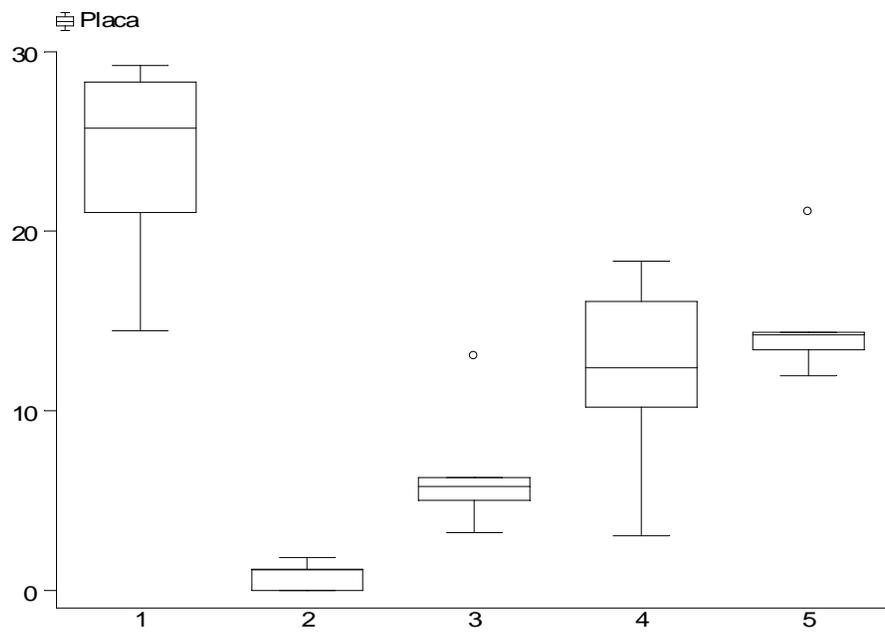
13.2.1.4 Prueba de Potenciación de Sueño

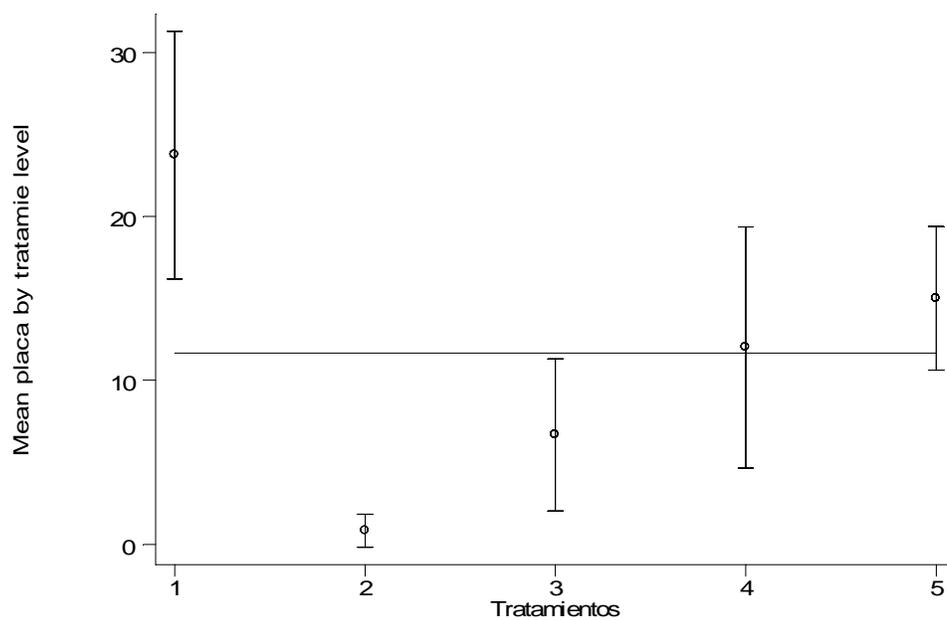




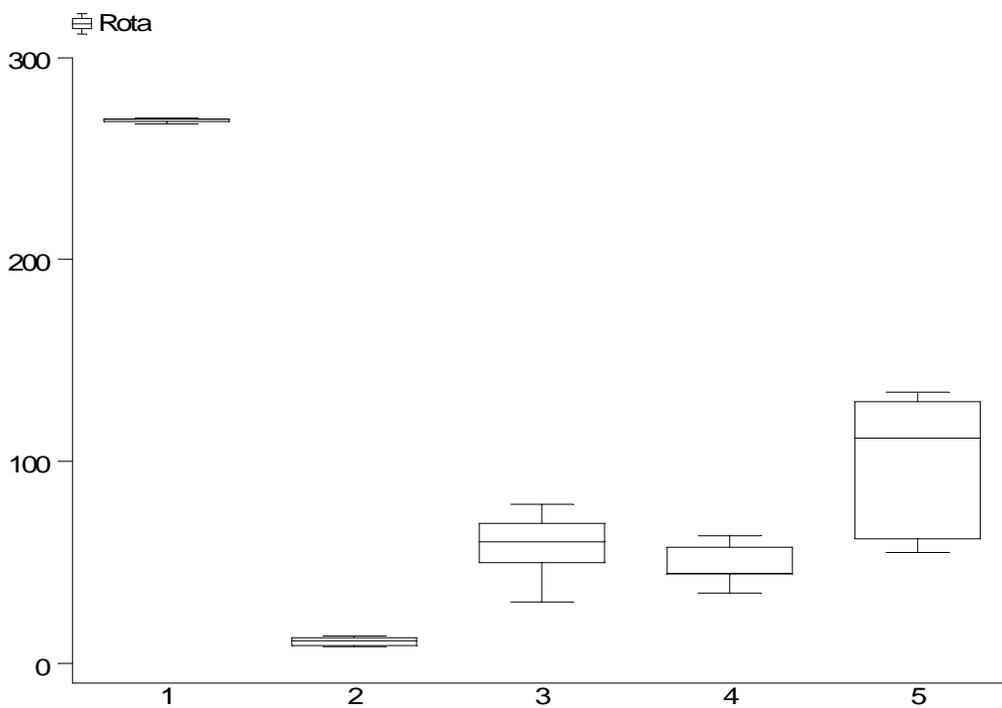
13.2.2 Combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* y flor con bráctea de *Tilia platyphyllos*

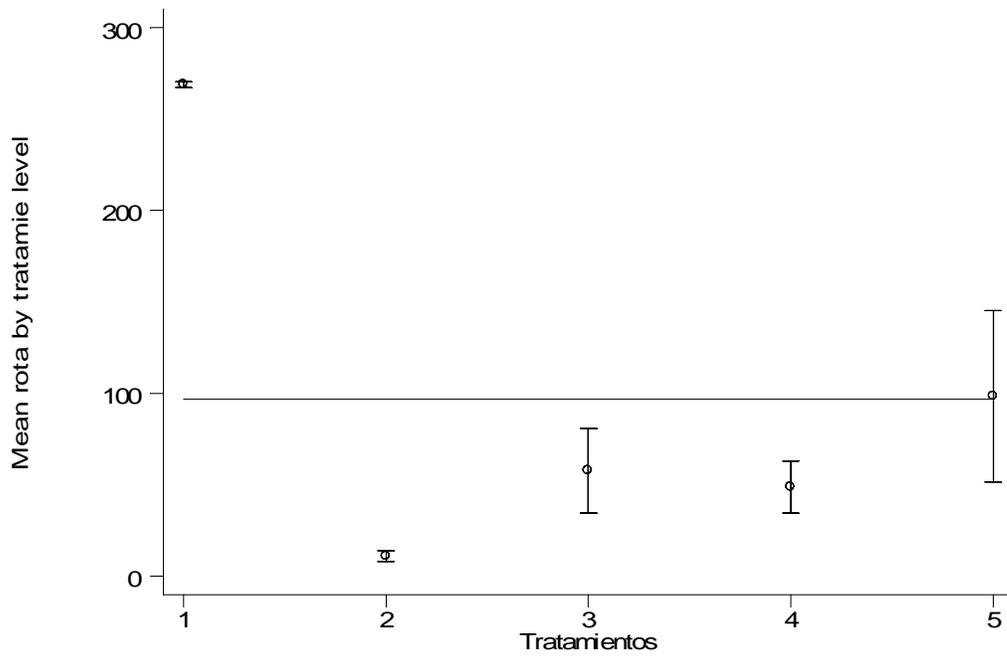
13.2.2.1 *Prueba de Placa Agujereada*



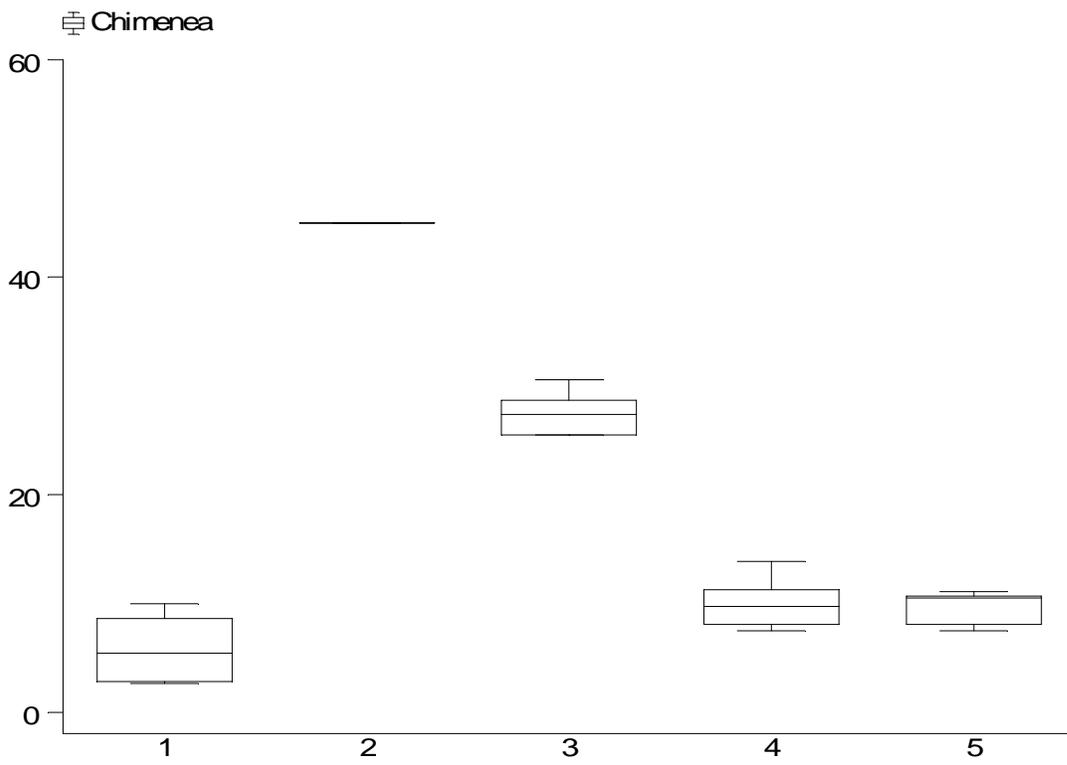


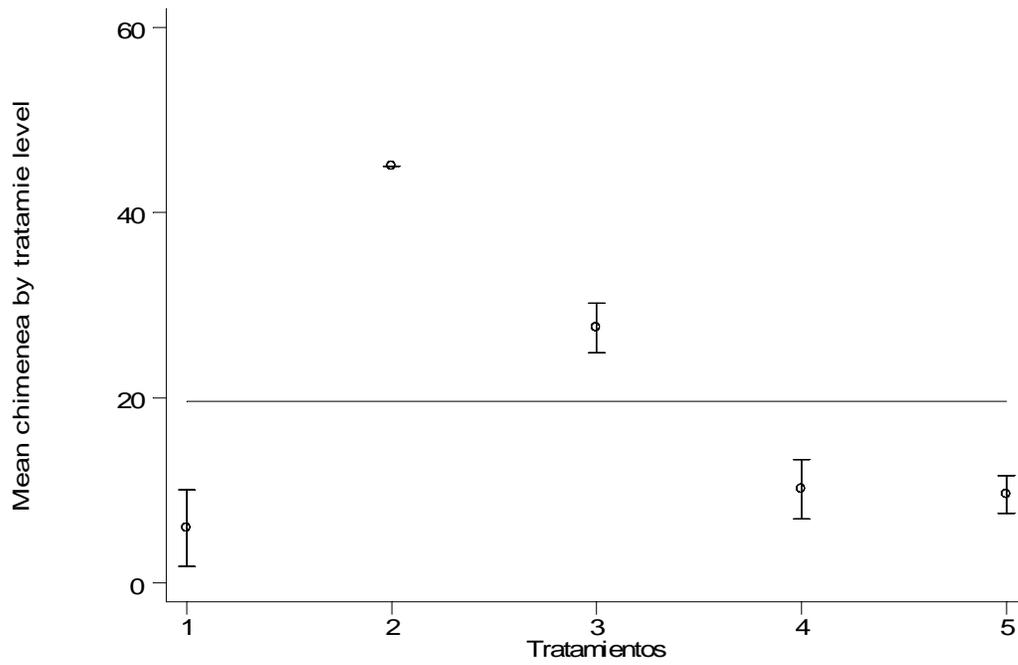
13.2.2.2 Prueba de Rota Rod



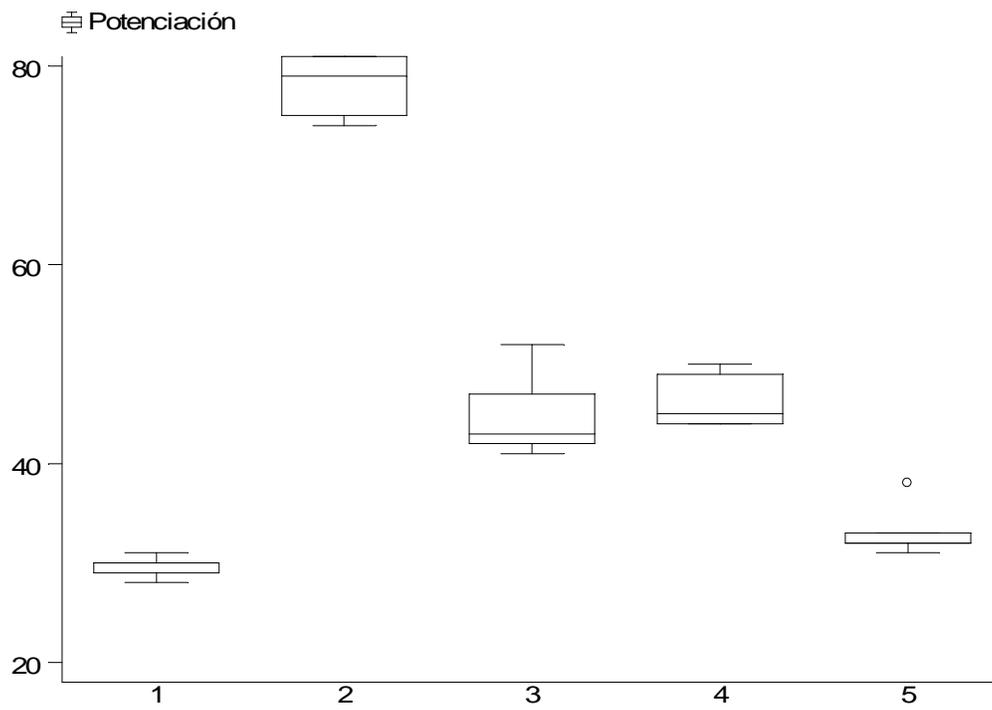


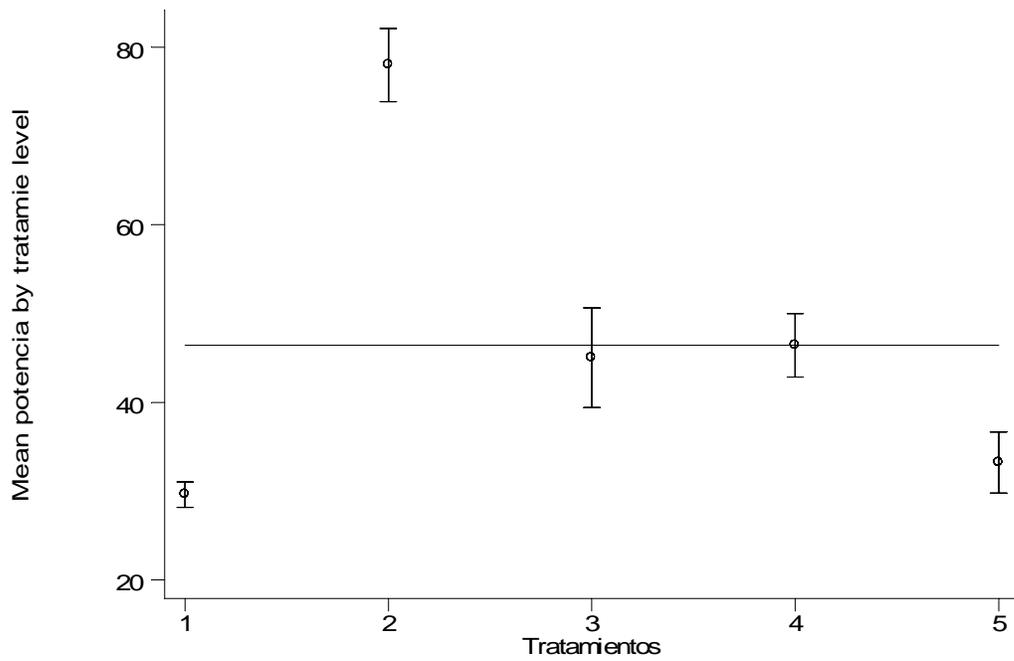
13.2.2.3 Prueba de Chimenea





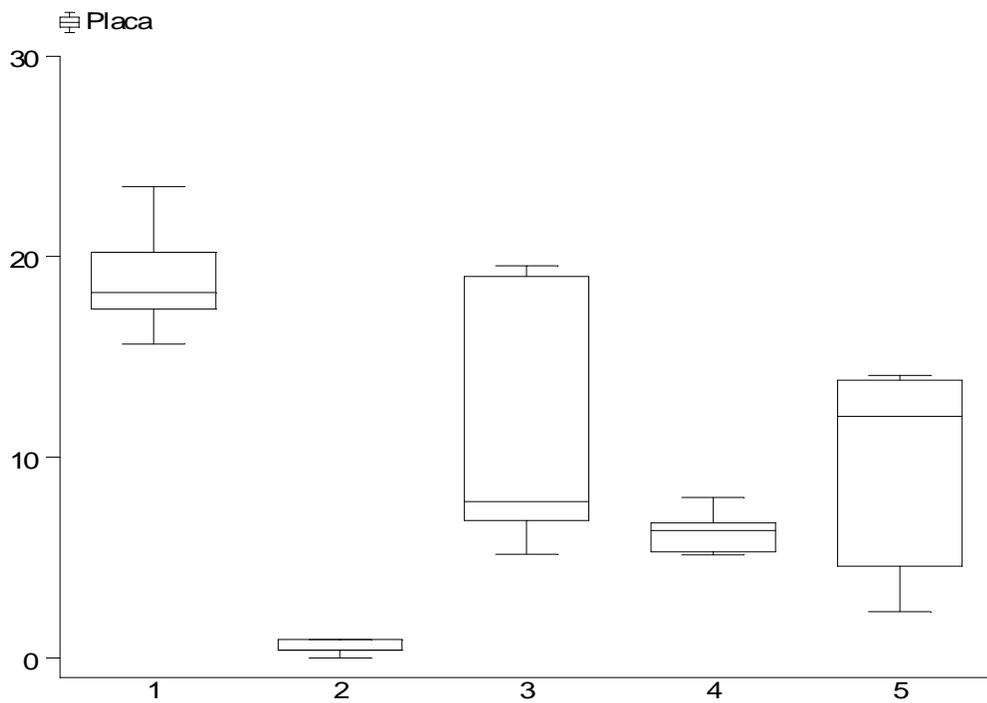
13.2.2.4 Prueba de Potenciación de Sueño

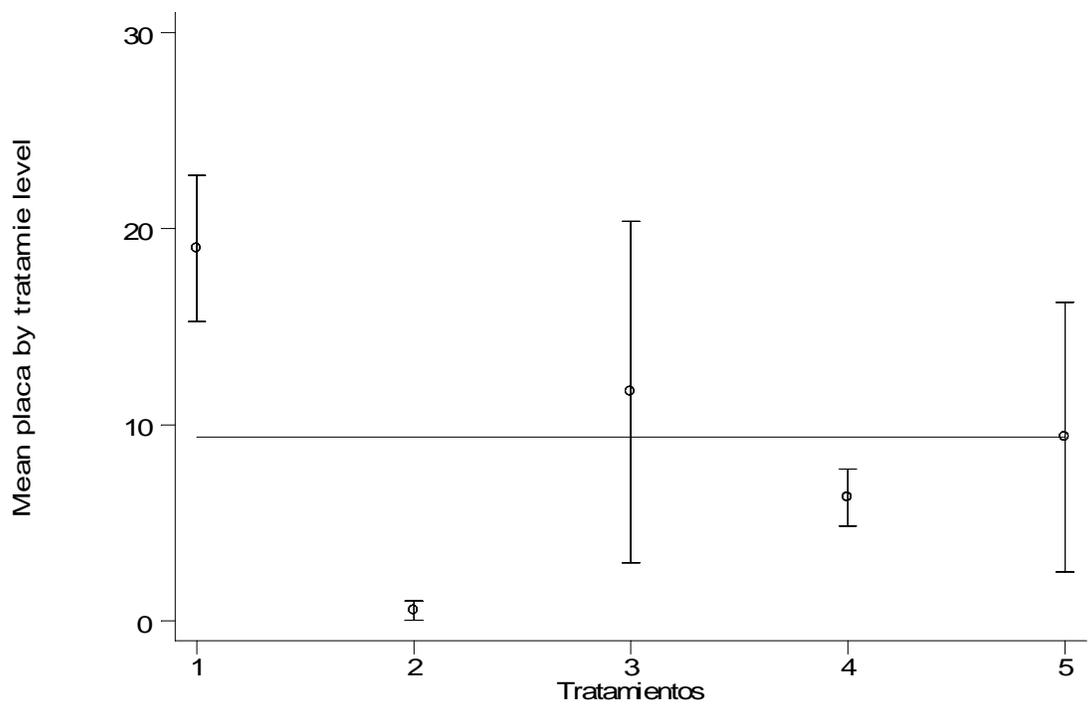




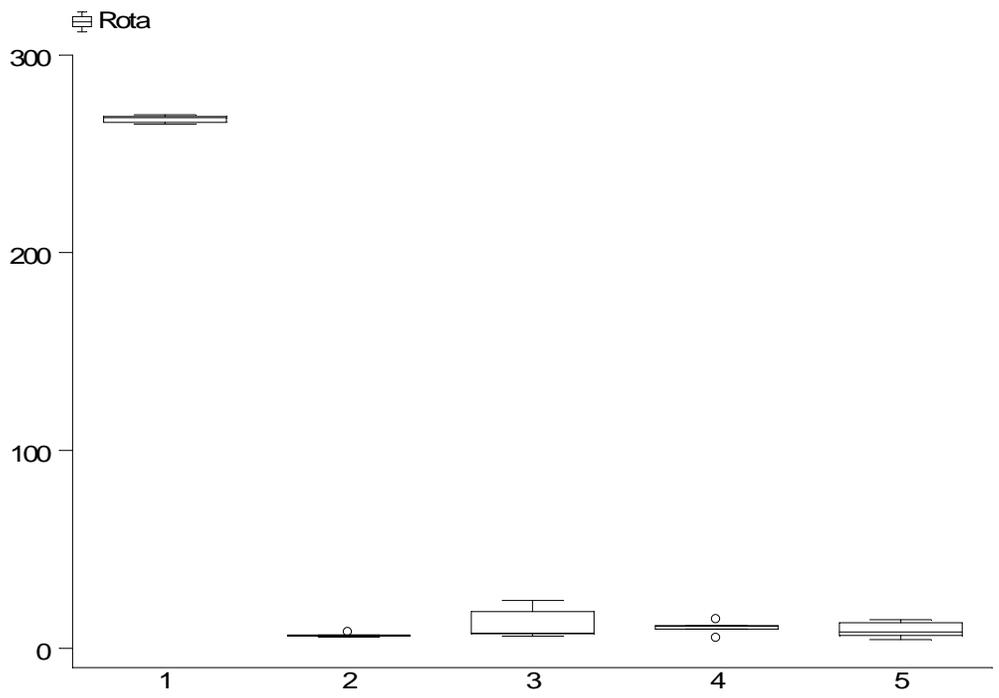
13.2.3 Combinación de rizoma de *Valeriana prionophylla* y pericarpio de *Citrus aurantium*

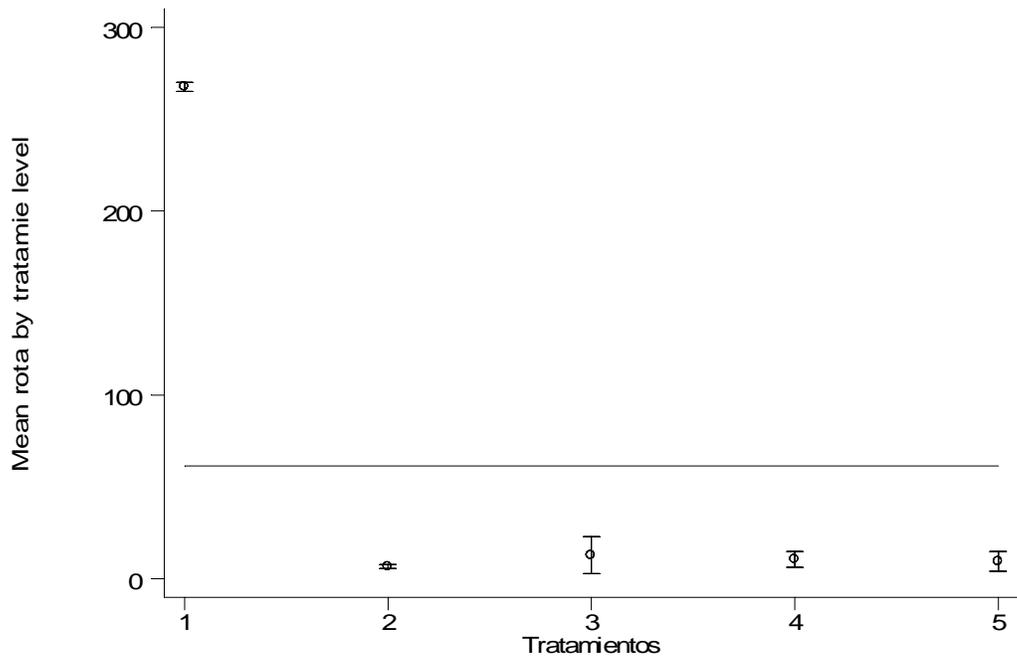
13.2.3.1 *Prueba de Placa Agujereada*



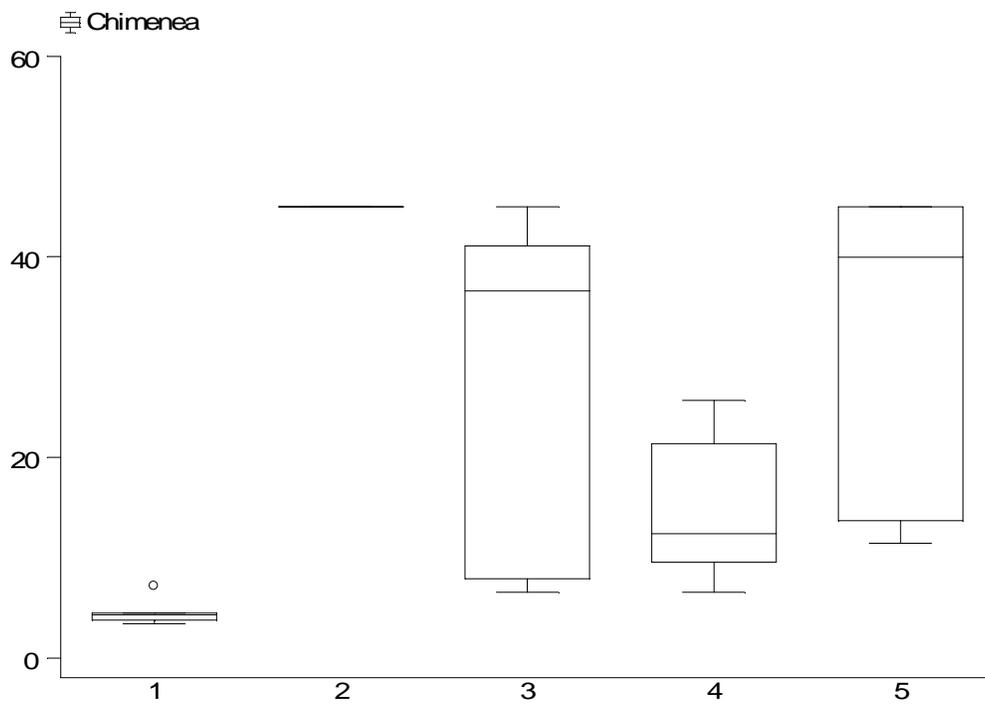


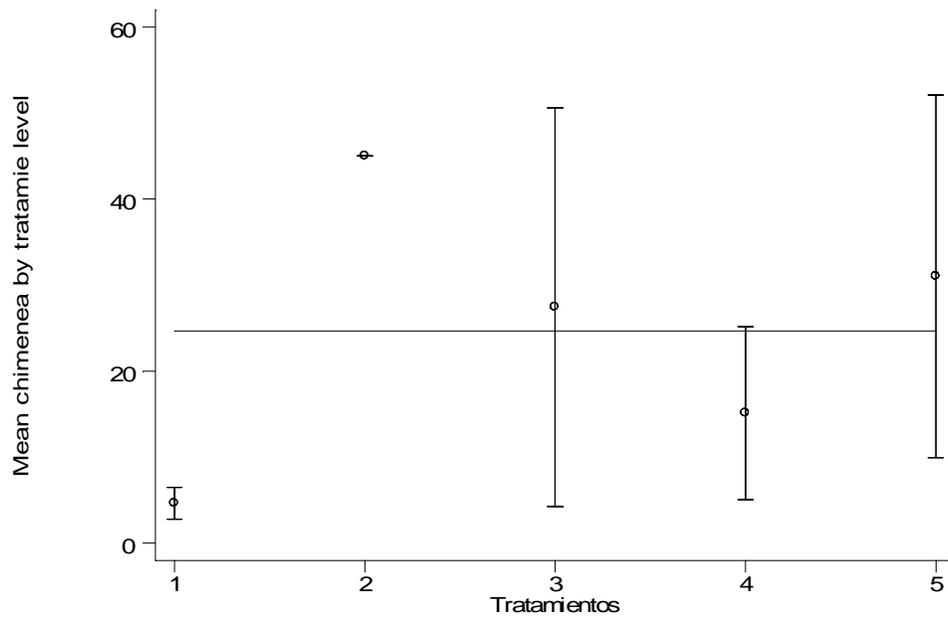
13.2.3.2 Prueba de Rota Rod



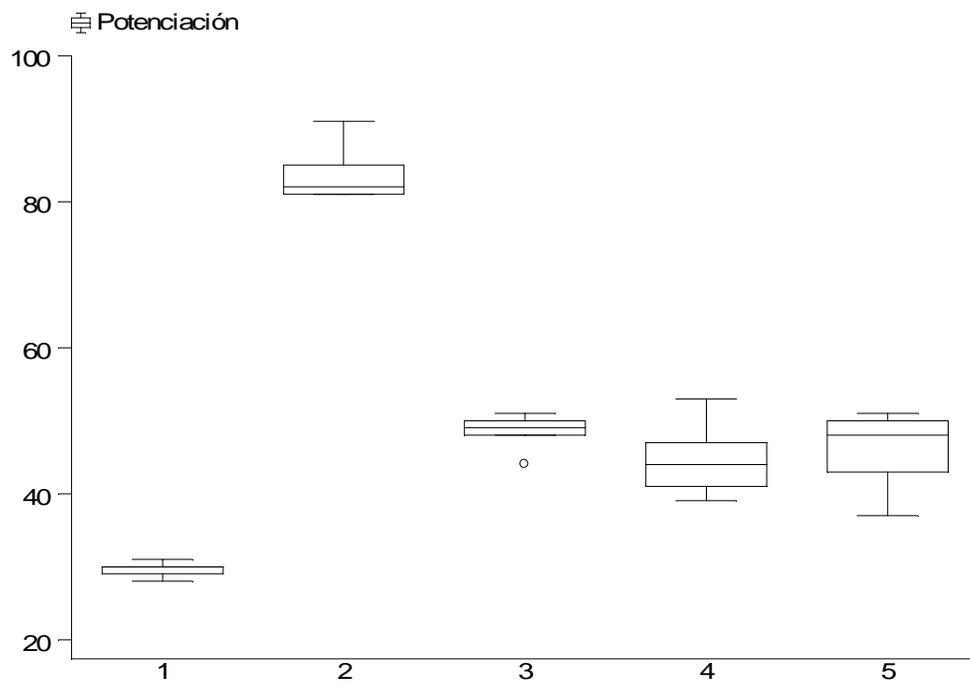


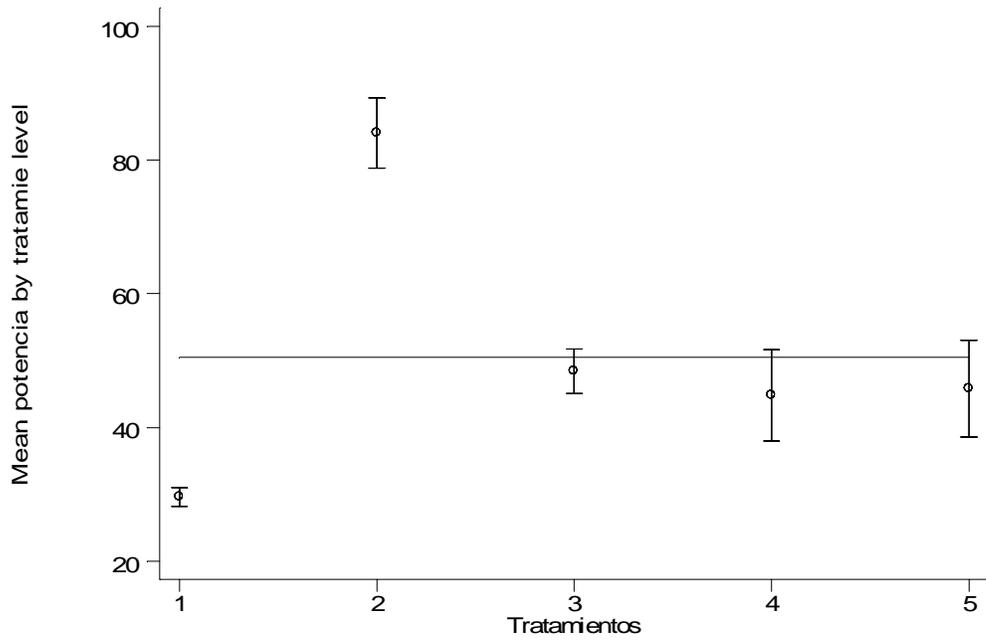
13.2.3.3 Prueba de Chimenea





13.2.3.4 Prueba de Potenciación de Sueño





Br. Alba Carolina Barrios Valenzuela
Autora

Licda. María Alejandra Ruiz Mayén
Asesora

Dra. Amarillis Saravia Gómez
Revisora

Licda. Lillian Irving Antillón, M.A.
Directora

Dr. Óscar Manuel Cobar Pinto
Decano