

# **Efecto ansiolítico *in vivo* del extracto etanólico de *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean (Passifloraceae) en “ratones albinos” Balb/c**

## **Anxiolytic effect *in vivo* of the ethanolic extract of *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean (Passifloraceae) in “albino mice” Balb/c**

***Milagros Leiva Salinas, Víctor Raúl Moya Vega & Elva Manuela Mejía Delgado***

Escuela de Medicina Humana, Universidad Privada Antenor Orrego, Av. América Sur 3145,  
Urbanización Monserrate, Trujillo, PERÚ  
mila\_j94@hotmail.com

***Juan Carlos Oberti***

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (UNC-Conicet), Córdoba, ARGENTINA



## Resumen

La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto ansiolítico *in vivo* del extracto etanólico de *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean (Passifloraceae) en “ratones albinos” Balb/c. Para ello, se trabajó con 20 ratones Balb/c que aleatoriamente fueron distribuidos en 4 grupos administrándoles por vía oral (VO) de la siguiente forma: G1: grupo blanco 0,2 ml de solución salina, G2: grupo diazepam 1 mg/kg, G3: grupo 50 mg/kg de extracto etanólico de *P. salpoense* y G4: grupo 100 mg/kg de extracto etanólico de *P. salpoense*. Luego, los ratones fueron inducidos a ansiedad usando el marble burying test o prueba de enterramiento de canicas. Los resultados demostraron que los grupos G3 y G4 disminuyeron de manera significativa el número de esferas enterradas con una media  $9,60 \pm 1,82$  y  $4,20 \pm 1,30$ , respectivamente, a comparación del grupo control blanco (G1) cuya media fue de  $17,20 \pm 3,03$ . Asimismo, los grupos G3 y G4 presentaron una respuesta similar al grupo G2 cuya media fue de  $3 \pm 0,71$ . Por lo tanto, se concluyó que las dosis 50 mg/kg y 100 mg/kg del extracto etanólico de *P. salpoense* disminuyen los niveles de ansiedad de forma significativa ( $p < 0.05$ ).

**Palabras clave:** *Passiflora salpoense*, extracto etanólico, ansiedad, marble burying test.

## Abstract

This investigation had as objective to evaluate *in vivo* the anxiolytic effect of the ethanolic extract of *Passiflora salpoense* (Passifloraceae) in “albino mice” Balb/c. For this, we worked with 20 Balb/c mice that were randomly distributed in 4 groups for administering them orally in the following way: G1: control group 0.2 ml saline solution, G2: diazepam group 1 mg/kg, G3: group 50 mg/kg of ethanolic extract of *P. salpoense*, and G4: group 100 mg/kg of ethanolic extract of *P. salpoense*. Then, the mice were induced to anxiety using the marble burying test. The results showed that the G3 and G4 groups significantly decreased the number of buried spheres with a mean of  $9.60 \pm 1.82$  and  $4.20 \pm 1.30$  respectively, compared to the control group (G1) whose mean was  $17.20 \pm 3.03$ . Likewise, the G3 and G4 groups presented a response similar to the G2 group whose mean was  $3 \pm 0.71$ . For this reason, it was concluded that the doses of 50 mg/kg and 100 mg/kg of the ethanolic extract of *Passiflora salpoense* significantly reduce anxiety levels ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** *Passiflora salpoense*, ethanolic extract, anxiety, marble burying test.

**Citación:** Leiva, M.; V. Moya; E. Mejía & J. Oberti. 2019. Efecto ansiolítico *in vivo* del extracto etanólico de *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean (Passifloraceae) “ratones albinos” Balb/c. *Arnaldoa* 26 (1): 391 - 408. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.261.26120>

## Introducción

Los trastornos mentales representan un 30% de la carga mundial de enfermedades no mortales. La OMS estimó que durante alguna emergencia, 1 de cada 5 personas están afectadas por ansiedad y depresión OMS (2016). Según la Asociación Psiquiátrica de América Latina (Asociación de Psiquiatría, 2018), los trastornos más comunes son la ansiedad, depresión y quejas somáticas. Estos tienen mayor predominio en las mujeres y afectan 1 de

cada 3 personas en la comunidad, siendo esto un problema serio para la salud pública (Arenas & Puigcerver, 2009).

En el Perú, las enfermedades neuropsiquiátricas alcanzan el 17,5% del total de carga de enfermedad ocupando el primer lugar y ocasionando la pérdida de 1 010 594 años de vida saludable, es decir, 33,5 años perdidos por cada mil habitantes. En los estudios realizados por el Instituto Nacional de Salud Mental entre los años 2003-2014, mencionan

que el 20,7% de mayores de 12 años de edad, presentan algún tipo de trastorno mental. Estas prevalencias, se encuentran mayormente en poblaciones de zonas urbanas de Ayacucho, Puerto Maldonado, Iquitos, Tumbes, Puno y Pucallpa. En la población estudiada, los trastornos más frecuentes fueron los episodios depresivos y trastornos de ansiedad con un promedio nacional de 7,6% y 5,9%, respectivamente (Ministerio de Salud, 2018).

La Organización Mundial de la Salud, propone objetivos sobre la medicina tradicional, siendo estos la construcción de nuevos conocimientos, ofrecer la garantía de calidad, seguridad, uso adecuado y eficacia, y buscar el integramiento de la medicina tradicional en los servicios de salud (OMS, 2013).

El género *Passiflora* (Passifloraceae) presenta diversos metabolitos secundarios, según cada órgano de la planta. En hojas hay presencia de flavonoides, taninos, lactonas, grasas, triterpenos, cumarinas y saponinas; en flores, grasas, aceites, triterpenos, taninos, flavonoides y glicósidos cianogénicos. Estos metabolitos son los que le dan las propiedades medicinales a las plantas (Garcés, 2016). Su importancia se basa en los efectos depresores en el sistema nervioso central, basados en estudios en donde se demuestra su efecto ansiolítico (Rea, 2014) y aplicados en estudios experimentales en donde se demostró la disminución de niveles de ansiedad en estudiantes antes de dar exámenes (Soto & Arkin, 2017). Autores afirman, que las *Passifloras* presentan propiedad ansiolíticas similares a las Benzodiacepinas (BDZ) por su interacción con el receptor GABA<sub>A</sub> subunidad  $\alpha 2$  (ácido  $\gamma$ -aminobutírico) (Elsas *et al.*, 2010).

Las benzodiacepinas (BZD), son los

psicofármacos más utilizados en atención primaria en aquellas personas que presentan síntomas psíquicos (Fernández *et al.*, 2013). Estos fármacos, tienen la ventaja de aliviar síntomas y sensaciones de ansiedad de manera eficaz (Díaz, 2007); por otra parte, el uso prolongado, aún en dosis adecuadas, ocasiona dependencia psíquica, física, tolerancia y síndrome de abstinencia (López *et al.*, 2010). El abuso y dependencia a BZD representa un problema importante en aquellos pacientes que son ingresados a Programas de Salud Mental. Los trastornos relacionados a esta dependencia son de tipo depresivo, ansioso y los trastornos de personalidad (Olivera, 2009). Es por ello, que para evitar estas graves consecuencias que se presentan en aquellas personas en tratamiento con BDZ, se deben buscar nuevas opciones terapéuticas con bajos niveles de dependencia.

Son pocas las sustancias que ya han sido probadas por estudios clínicos. Varias revisiones bibliográficas han determinado el efecto terapéutico en animales de experimentación, específicamente aquellos inducidos a ansiedad; es por ello, que todas esas investigaciones deben ser útiles para la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos a partir de plantas medicinales para estos trastornos (Sousa *et al.*, 2018).

El uso de modelos animales de ansiedad, ha sido una forma importante para valorar la eficacia farmacológica de plantas, que se podrían utilizar para el tratamiento de los trastornos de ansiedad (Sollozo *et al.*, 2011). Para ello, es necesario que el ambiente en el que se encuentren los modelos animales, deben ser similares a la de los humanos, salvaguardando el buen trato de las especies animales, de acuerdo a los protocolos en cuanto a manejo y uso de animales de laboratorio (Leite & Pérez,

2001).

Es importante conocer, cómo actúa un animal ante una situación de peligro pues, a manera general, los animales presentan patrones conductuales adaptativos. Esto quiere decir que, ante la presencia de un depredador, su primera reacción es escapar evitando ser capturado y en caso no pueda hacerlo, permanecerá inmóvil. Cuando se va acercando el agresor, el ataque defensivo aumenta, así como también la vigilancia. Por cada proceso que pasa el animal en peligro, se va a ir adaptando y esta respuesta, está directamente relacionada con el tipo de estímulo que se le presente (Gómez *et al.*, 2002).

En este trabajo, se estudió por primera vez el efecto ansiolítico de la especie silvestre y endémica del Norte del Perú *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean (Passifloraceae) “puro puro” (Fig. 1-2), que por los antecedentes revisados previamente sobre el género *Passiflora*, nos da noción de su efecto sobre la ansiedad. Por lo tanto, nos abre la posibilidad de seguir estudiando sus propiedades y aplicarlos en humanos, ayudando a combatir este problema de salud que afecta en la vida cotidiana de muchas personas a nivel mundial.

### Material y métodos

El estudio tuvo como diseño de investigación básica, prospectiva, transversal, preclínica *in vivo*.

Las muestras biológicas se obtuvieron del lugar denominado: Shitahuara (al norte de Salpo), distrito Salpo, provincia Otuzco, región La Libertad, Perú. La planta fue identificada en el Herbario Antenor Orrego (HAO), del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo, como

*Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean (Passifloraceae) (Fig. 1-2); una rama florífera, después del secado y montaje (Anexo 1), se depositó oficialmente, en el Herbario HAO, con el número 20043 (Anexo 2) y, recibiendo la respectiva constancia.

Se procedió a lavar las hojas con agua destilada y, se acondicionó en papel Kraft por 4 días para el secado a temperatura ambiente y en la sombra (Anexo 3).

### Metodología para obtener el extracto etanólico

Los análisis químicos, se realizaron en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, a cuyos docentes les expreso mi gratitud y agradecimiento.

Para obtener el extracto etanólico, se procedió a realizar una extracción seriada con hexano, diclorometano y etanol extrayendo así, compuestos con más polaridad. Se pesó 150 gramos de hojas molidas, la cual se colocó en un lixiviador hexano dejándolo macerar por 4 días. Luego, se obtuvo el extracto y se lo puso en un evaporador rotatorio hasta que el extracto se concentre y posteriormente, fue vertido en un pequeño frasco sellado. Luego, en el lixiviador se le agregó diclorometano y, se dejó macerar por un día. Al día siguiente, se procedió a poner el extracto obtenido en el evaporador rotatorio hasta concentrar el extracto y posteriormente se vertió en un frasco pequeño sellado. Finalmente, se agregó 750 ml de etanol al 96% en el lixiviador y se dejó macerando por un día. Al día siguiente, el extracto obtenido se puso en el evaporador rotatorio hasta concentrar el extracto y se lo colocó en un frasco pequeño sellado (Anexo 4).

Para determinar el efecto ansiolítico, se utilizó 20 ratones Balb/c entre hembras y machos, con peso de  $22 \pm 2$  gramos, adquiridas del Instituto Nacional de Salud INS, sede Chorrillos-Lima, Perú (Anexo 5). Mediante muestreo probabilístico de números consecutivos, asignándole un número aleatorio a cada espécimen para luego dividirlos en 4 grupos de 5 especímenes cada grupo. Se procedió a dar inicio al tratamiento de la siguiente manera: Al primer grupo, se le administró agua destilada; segundo grupo, Diazepam 0,2 ml en sol. salina (0,9%) v.o.; tercer grupo, extracto etanólico de las hojas de *P. salpoense* por vía oral en dosis de 50 mg/kg y cuarto grupo, extracto etanólico de las hojas de *P. salpoense* por vía oral en dosis de 100 mg/kg. Se los indujeron a ansiedad por la prueba de "marble burying" (enterramiento de canicas), la cual se

realizó de manera individual. La prueba duró 30 minutos, una vez concluido el tiempo, el ratón fue sacado de la caja. Se procedió a contar el número de canicas enterradas en su totalidad, indicando ansiedad cuanto más sea el número de canicas enterradas (Anexo 6).

Los resultados obtenidos fueron expresados como media  $\pm$  error estándar de la media. Se hizo uso del análisis de varianza ANOVA, para saber si hay actividad ansiolítica y, para determinar si hay diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) entre los grupo control y experimentales. Se hizo comparaciones múltiples a un intervalo de confianza del 95% con la prueba de Tukey HSD, permitiendo evaluar que grupos son diferentes y similares y, si hay o no actividad ansiolítica de la especie, y si es igual o no al grupo control positivo (Anexo 7).

## Resultados

**Tabla 1.** Medias (M) y desviaciones estándar (DT) de los grupos experimentales.

Grupos experimentales	Medias (M)	Desviaciones estándar (DT)
G1: Grupo control	17,20	3,03
G2: Grupo Diazepam	3,00	0,71
G3: Grupo 50mg/kg	9,60	1,82
G4: Grupo 100mg/kg	4,20	1,30

En la tabla 1, se puede observar las puntuaciones medias de los grupos experimentales, las cuales, del grupo G2, G3 y G4 disminuyeron después de la administración de los tratamientos, siendo

la disminución más baja al grupo al cual se le administró diazepam, seguido del grupo al cual se le administró 100 mg/kg y seguido del grupo, 50 mg/kg.

**Tabla 2.** Análisis estadístico de marble burying (enterramiento de canicas) mediante la prueba de Tukey para la evaluación del efecto ansiolítico del extracto etanólico de *P. salpoense*.

Grupo	N	Tratamiento	Prueba de Tukey	Valor p (ANOVA)
G1: Grupo control	5	Suero fisiológico	A	p<0.05
G3: Grupo 50mg/kg	5	50mg/kg	B	
G4: Grupo 100mg/kg	5	100mg/kg	C	
G2: Grupo Diazepam	5	Diazepam	C	

En la tabla 2 se puede observar las diferencias en cada grupo, evidenciándose estadísticamente ( $p<0.05$ ) entre todos los grupos, tanto experimentales como control. Se puede observar que tanto el grupo G2 y G4 enterraron una cantidad significativamente menor de canicas a diferencia del grupo control G1.

### Discusión

En esta investigación, se evaluó el efecto ansiolítico del extracto etanólico de *Passiflora salpoense* (Passifloraceae) a dosis de 50mg/kg y 100mg/kg, con el modelo no condicionado de marble burying. Con este modelo, se pudo observar el patrón conductual en ratones con las dosis indicadas, comparando su efecto con el Diazepam, que es un fármaco ansiolítico comprobado clínicamente.

Se observó, que el número de canicas enterradas varía en función de los tratamientos ( $p<0.05$ ). Con respecto al grupo G2 con Diazepam, este disminuyó el número de canicas enterradas, confirmando el efecto ansiolítico conocido por este fármaco y que concuerda con lo encontrado por Ariza S. *et al.*, en su investigación sobre el efecto de la Cumarina sobre el Sistema Nervioso Central. En ese estudio *in vivo*, se hizo uso de muchas pruebas no condicionales, en la

cual se comprobó, los efectos ansiolíticos y sedantes del Diazepam como grupo control comparando sus efectos con los de la Cumarina (31). Asimismo, el mismo efecto también fue encontrado por Gil, J. en la cual, usó al Diazepam como grupo control positivo confirmando también su efecto ansiolítico en la prueba de enterramiento de canicas (Gil, 2016).

El efecto del Diazepam fue el esperado ya que, es un fármaco de la familia de las Benzodiazepinas cuyo efecto ansiolítico es comprobado. Las BDZ potencian el efecto del GABA uniéndose al receptor GABAA que se encuentra ubicado en la membrana plasmática de la neurona postsináptica y a la vez, está relacionado con la acción de las BDZ. El GABA al unirse a su receptor, permite el ingreso de  $Cl^-$  hiperpolarizando la neurona disminuyendo su susceptibilidad a estímulos excitadores, causando un estado de inhibición neuronal. Este efecto es potenciado por la acción de las benzodiazepinas que modifican la estructura del receptor, haciendo que la apertura de los canales de  $Cl^-$  sea más intensa. Esto se le conoce como modulación alostérica (Goodman & Hilman, 2011).

El resultado del extracto etanólico de *P. salpoense* a dosis de 100mg/kg (Anexo 7). Se pudo observar que disminuyó

significativamente el número de canicas enterradas ( $p < 0.05$ ) con respecto al grupo G1. Esto se debe a que, la planta presenta metabolitos secundarios que le proporcionan el efecto sedante y ansiolítico. Actualmente, hay varios estudios en donde se ha reconocido a la crisina, un flavonoide, como la molécula que le da el efecto ansiolítico ya que, tiene afinidad por el receptor GABA y ejerce una acción similar a las BDZ. Esto se puede comprobar, al comparar los grupos G2 y G4, en donde los resultados de la dosis de 100mg/kg es casi similar a la del Diazepam.

El resultado, del extracto etanólico de *P. salpoense* a dosis de 50mg/kg (Anexo 6), se pudo observar que disminuyó significativamente el número de canicas enterradas ( $p < 0.05$ ) comparado con el grupo control negativo (G1). Esto demuestra, que los resultados obtenidos con ambas dosis de *P. salpoense* presenta efecto ansiolítico, observándose con el uso del promedio aritmético y la desviación estándar de las canicas enterradas, siendo sus valores para G1 (Grupo blanco) de 17,20 canicas enterradas con una desviación estándar 3,03. El grupo G2 (Diazepam) obtuvo 3 canicas enterradas con una desviación estándar 0,71. El grupo G3 (*P. salpoense* 50mg/kg) obtuvo 9,60 canicas enterradas con una desviación estándar 1,82. El grupo G4 (*P. salpoense* 100mg/kg) obtuvo 4,20 canicas enterradas con una desviación estándar 1,30. Los resultados de los grupos G2, G3 y G4 a comparación de G1 presentan significancia  $p < 0.05$  con un nivel de confianza del 95%, esto comprueba la diferencia de menor cantidad de canicas enterradas por G3 y G4 a diferencia de G1. Estos resultados, son similares a los obtenidos por Gil J. en el que hizo uso de 20 especímenes

divididos en 4 grupos, a los cuales a los grupos experimentales se les administró por vía intraperitoneal 1ml/kg de extracto etanólico de *Passiflora tripartita* a dosis de 200mg/kg y 100mg/kg a los especímenes, para determinar los niveles de ansiedad utilizó la prueba de marble burying, concluyendo que las dosis administradas disminuyen significativamente los niveles de ansiedad (Gil, 2010). Asimismo, Caldas D. & Castillo E. en su investigación utilizaron 24 especímenes divididos en 4 grupos a los cuales se les administró 0,1ml/kg a dosis de 50mg/kg y 100mg/kg a los grupos experimentales, para determinar los niveles de ansiedad hicieron uso de la prueba de caja luz-oscuridad o Light/dark transition test for mice, concluyendo, que a dosis de 50mg/kg y 100mg/kg disminuyó significativamente los niveles de ansiedad (Caldas & Castillo, 2018). Rea V. en su tesis de grado demostró el efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de "flor de badea" (*P. quadrangularis*). Hizo uso de 18 ratones, distribuidos en 6 grupos con 3 ratones cada grupo administrándole por vía oral los tratamientos a diferentes concentraciones de 100%, 65% y 30%. Para evaluar el comportamiento de su sistema nervioso, hizo uso de las siguientes pruebas: la prueba del alambre, enterramiento de canicas, campo abierto, caja luz-oscuridad y laberinto elevado cero. Se pudo evidenciar, la disminución de ansiedad de las concentraciones de *P. quadrangularis* siendo la más efectiva al 100% American Psychiatric Publishing (2013).

En conclusión, los resultados obtenidos indican el efecto ansiolítico *in vivo* del extracto etanólico de *Passiflora salpoense* (Passifloraceae), abriendo paso a los nuevos estudios en la investigación tanto clínica como farmacológica. Esto se

constituye como una opción de medicina alternativa, eficiente y de bajo costo.

### Consideraciones éticas

En este estudio, al utilizar animales de experimentación, específicamente "ratones", se tomaron en cuenta las normas y procedimientos éticos para el manejo de animales de laboratorio que se proponen en la Guía de manejo y cuidado de animales de Laboratorio: "ratón" propuesto por el Ministerio de salud y el Instituto Nacional de Salud (Fuentes *et al.*, 2008).

### Agradecimientos

Nuestra gratitud al Dr. Juan Carlos Oberti de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, por su gran ayuda y asesoría en la realización de este trabajo. A la Dra. Gloria Barboza y Virginia Palchetti por el amable recibimiento de uno de nosotros (M. L.) en su domicilio en Argentina.

### Contribución de los autores

M. S.: Elaboración del artículo, realización de la fase experimental, análisis de datos, elaboración del informe final; V. M.: Elaboración de la introducción y elaboración del informe final; E. M.: Realización de la fase experimental; J. O.: Elaboración de los extractos; Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses

### Literatura citada

**American Psychiatric Association.** 2013. Guía de consulta de los criterios diagnósticos del DSM-5® [Internet]. American Psychiatric Publishing; 2013 [citado 19 de mayo de 2018]. Disponible en: <http://psychiatryonline.org/doi/book/10.1176/appi.books.9780890425657>

**Asociación de psiquiatría.** 2018. [citado 30 de abril de 2018]. Disponible en: <http://www.apalweb.org/docs/smmujer.pdf>

**Arenas, M. & A. Puigcerver.** 2009. Diferencias entre hombres y mujeres en los trastornos de ansiedad: una aproximación psicobiológica. *Escr Psicol.* 3(1): 20-9.

**Brunton, L.; B. Chabner & B. Knollmann.** 2011. Goodman & Hilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica - 12 ed. pdf.

**Caldas, D. & E. Castillo.** 2018. Efecto del extracto etanólico de *Passiflora tripartita* var *mollissima* en ansiedad de *Mus musculus* var. *albinus*, evaluada por el método Luz- Oscuridad [Tesis de Pregrado]. Perú. 2018; Universidad Nacional de Trujillo.

**Díaz Peñaloza, M.** 2007. Las benzodiazepinas y sus efectos sobre la ansiedad. *Cultura.* 31:169-80.

**Elsas, S.; D. Rossi; J. Raber; G. White; C. Seeley; W. L. Gregory *et al.*** 2010. *Passiflora incarnata* L. (Passiflora) extracts elicit GABA currents in hippocampal neurons in vitro, and show anxiogenic and anticonvulsant effects *in vivo*, varying with extraction method. *Phytomedicine.* 17(12): 940-9.

**Fernández, R.; O. Rupérez; M. Hernando; M. Delgado & R. Sánchez.** 2013. Consumo de psicofármacos en atención primaria. *Aten Primaria* 19(1): 47-50.

**Fuentes, F.; R. Mendoza; A. Rosales & R. Cisneros.** 2008. Instituto Nacional de Salud (Peru). Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.

**Garcés, D.** 2016. Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante in vitro de hojas y flores de *Passiflora quadrangularis*. [Tesis de Grado]. Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

**Gil, J.** 2016. Efecto del extracto etanólico de *Passiflora tripartita*. [Tesis de Pregrado]. Perú. Universidad Nacional de Trujillo.

**Gómez, C.; J. Saldívar González & R. Rodríguez.** 2002. Modelos animales para el estudio de la ansiedad: Una aproximación crítica. *Salud Ment.* 25(1): 11.

**Leite, M. & A. Pérez Acosta.** 2001. Modelos ani-



males en psicopatología: ¿Una contribución o una ilusión? Av En Psicol Clínica Latinoam 19: 37-50.

**López, A.; A. Aroche; J. Bestard & N. Ocaña.** 2010. Uso y abuso de las benzodiazepinas. MEDISAN 14(4): 555.

**Ministerio de Salud.** 2018. Plan nacional de fortalecimiento de servicios de salud mental comunitaria 2018-2021. Lima.

**Olivera, M.** 2009. Dependencia a benzodiazepinas en un centro de atención primaria de salud: Magnitud del problema y orientaciones para el manejo integral. Rev Chil Neuro-Psiquiat. 47(2): 132-7.

**Organización Mundial de la Salud.** 2013. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.

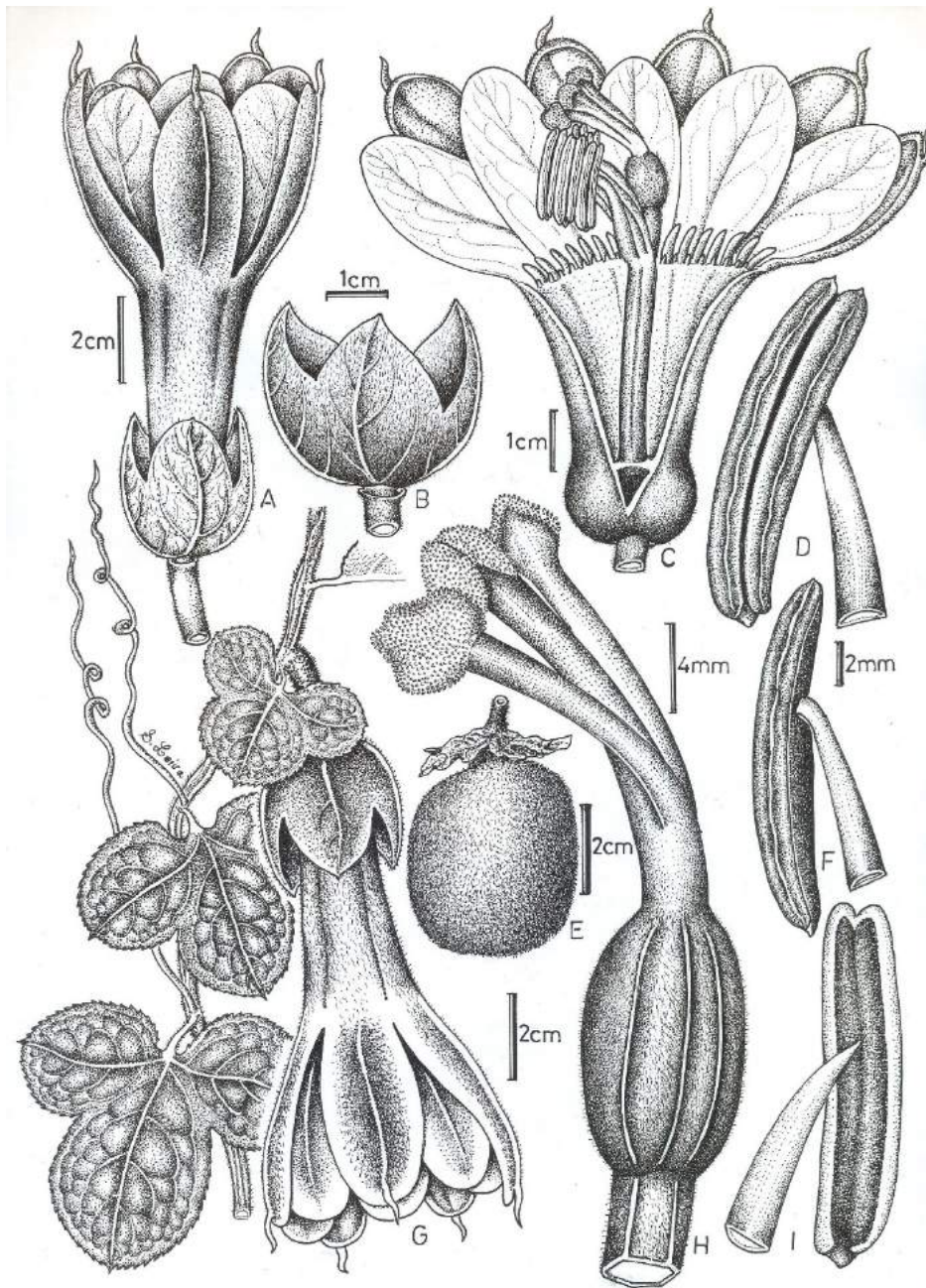
**Organización Mundial de la Salud.** 2016. La inversión en el tratamiento de la depresión y la ansiedad tiene un rendimiento del 400% [Internet]. Ginebra: OMS. [citado 12 de junio de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/es/>

**Rea, V.** 2014. Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de Badea (*Passiflora quadrangularis*) en ratones (*Mus musculus*). [Tesis de Grado]. Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo:1-150.

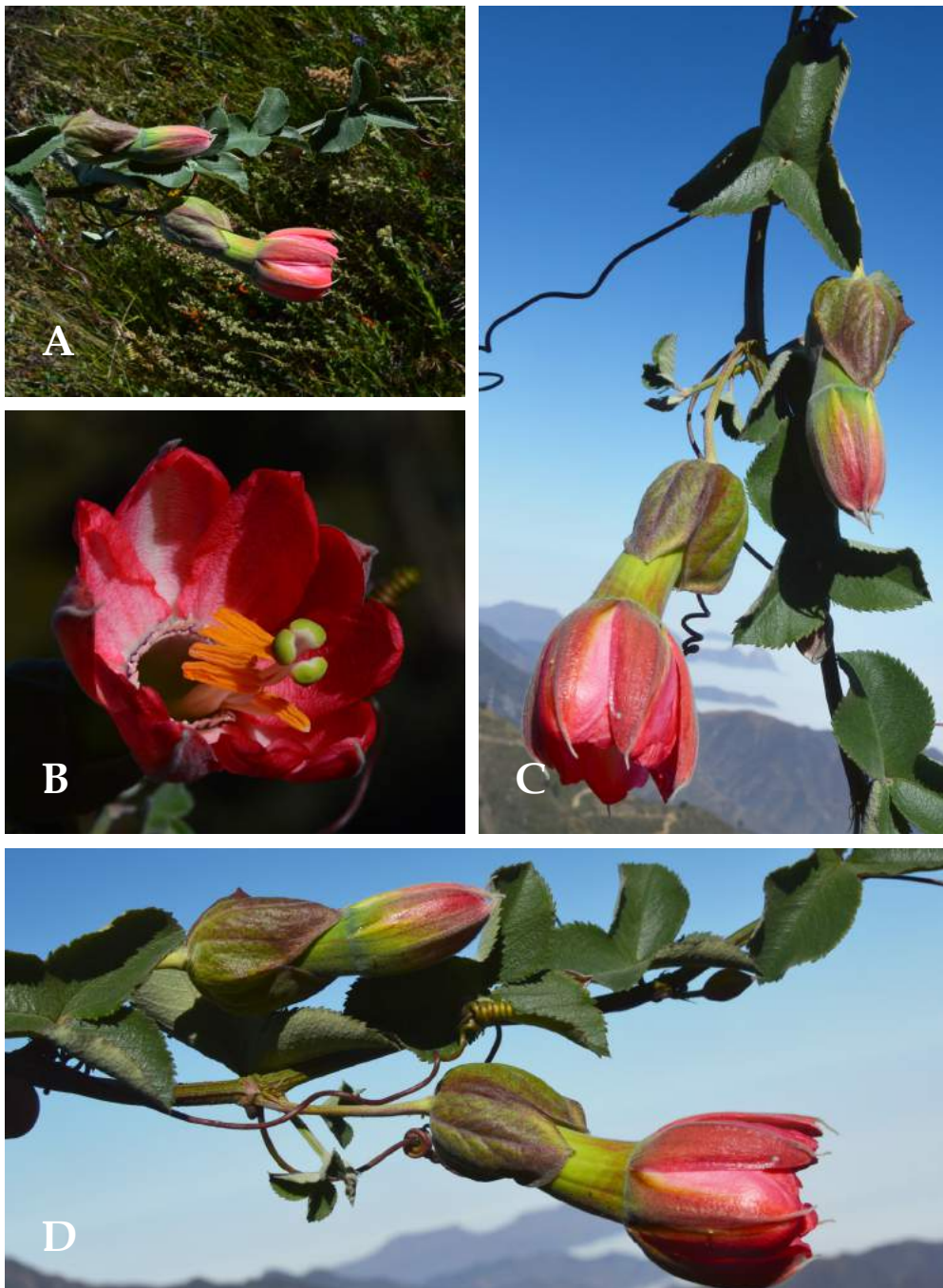
**Soto, M. & P. Arkin.** 2017. Efecto del extracto fluido de *Passiflora edulis* y técnicas de libertad emocional EFT en el tratamiento de la ansiedad ante los exámenes. Med Natur. 11(2): 85-90.

**Sollozo Dupont, M.; E. Camarena & C. López Rubalcava.** 2011. Medicina tradicional: estudios preclínicos de plantas con propiedades ansiolíticas. El Resid. VI(2): 78-84.

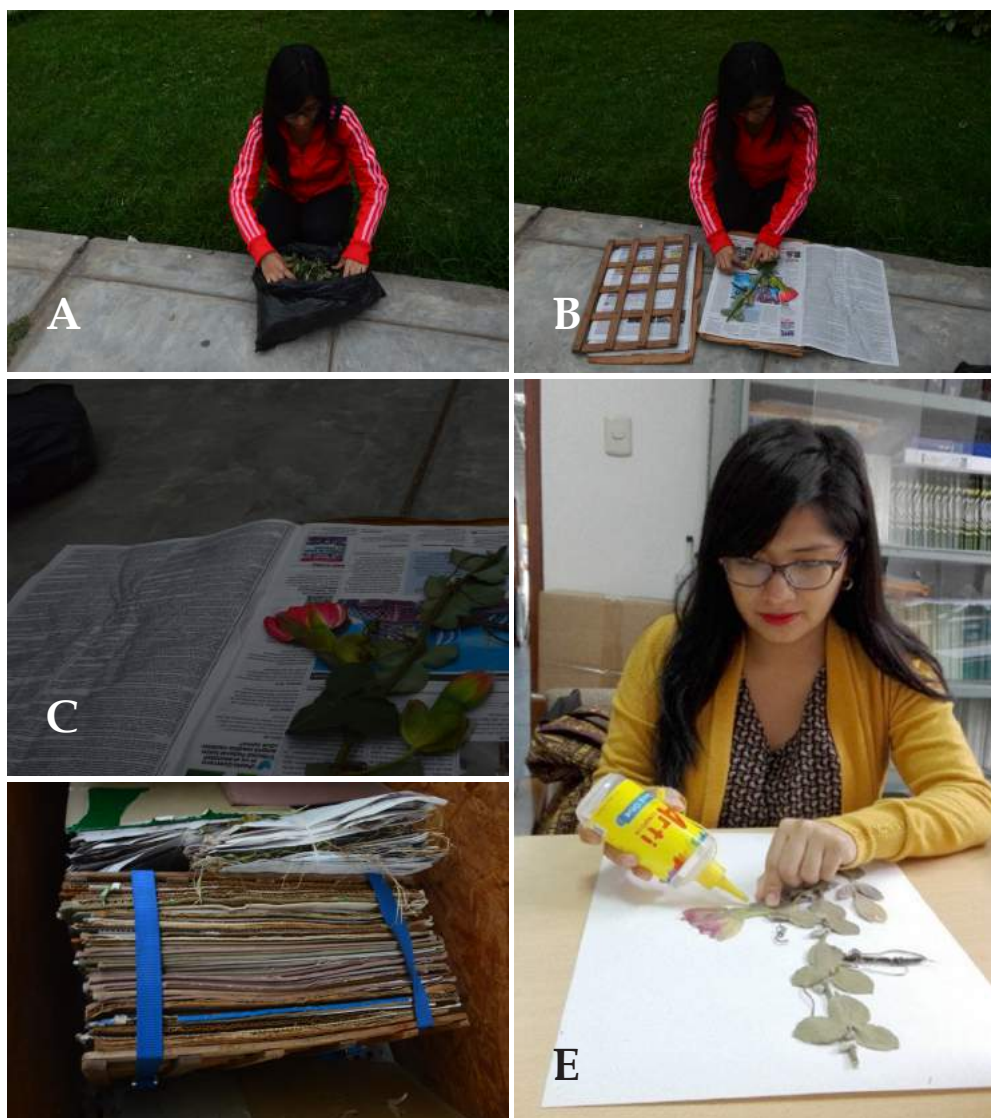
**Sousa, F.; C. Melo; M. Citó; S. Vasconcelos; J. Barbosa; G. Viana *et al.*** 2008. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. Rev Bras Farmacogn. 18(4): 642-54.



**Fig. 1.** *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean. A, Flor en antesis; B. Calículo; C. Hipanto desplegado; D. Antera en vista ventral; E. Baya; F. Antera en vista lateral; G. Rama florífera; H. Gineceo; I. Antera en vista dorsal. (Reproducida con permiso de Arnaldoa 22 (1): 42, 2015, dibujado S. Leiva & M. Leiva 5806, HAO).



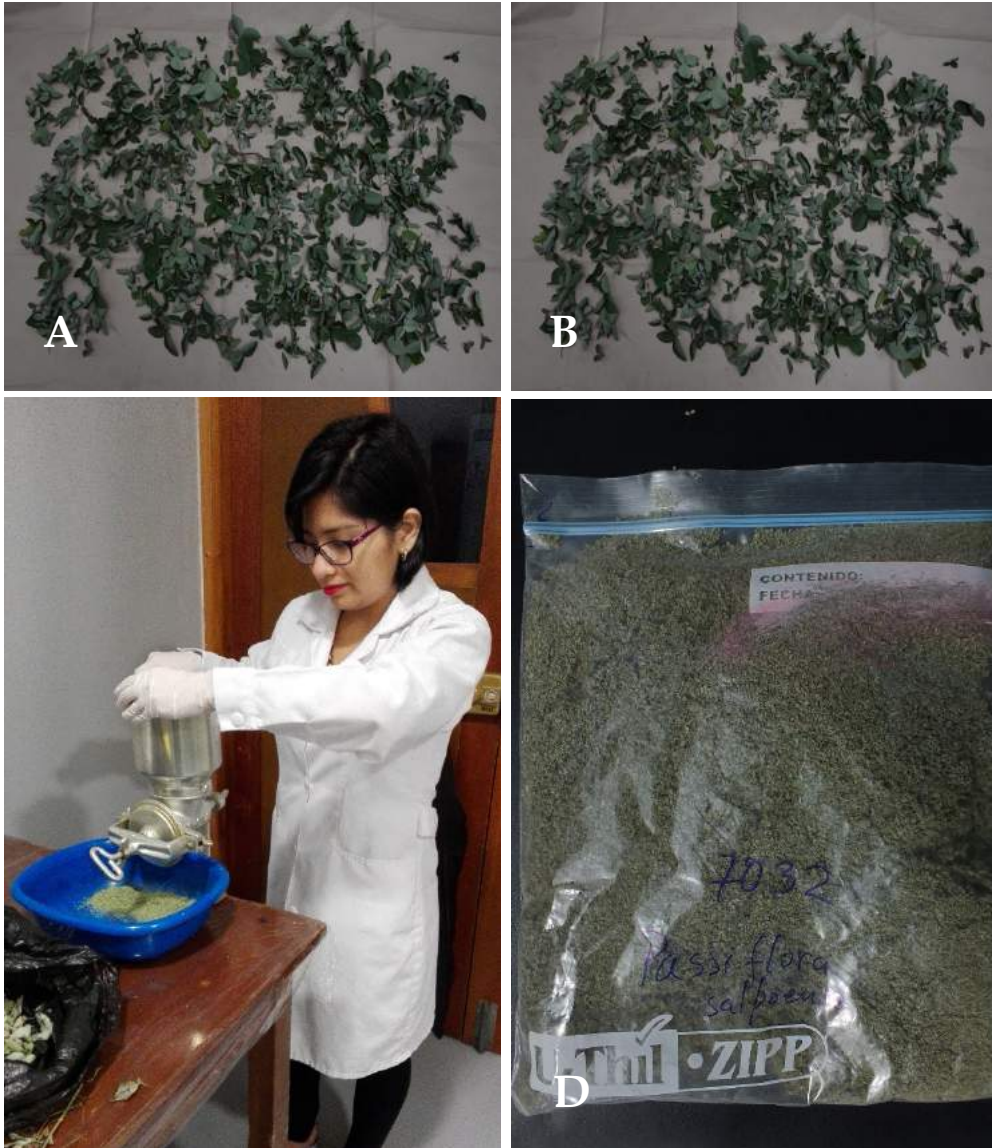
**Fig. 2.** *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantaléan. A, C, D. Rama floríferas; B. Flor en anthesis en vista ventral (Fotografías S. Leiva & M. Leiva 7032 HAO).



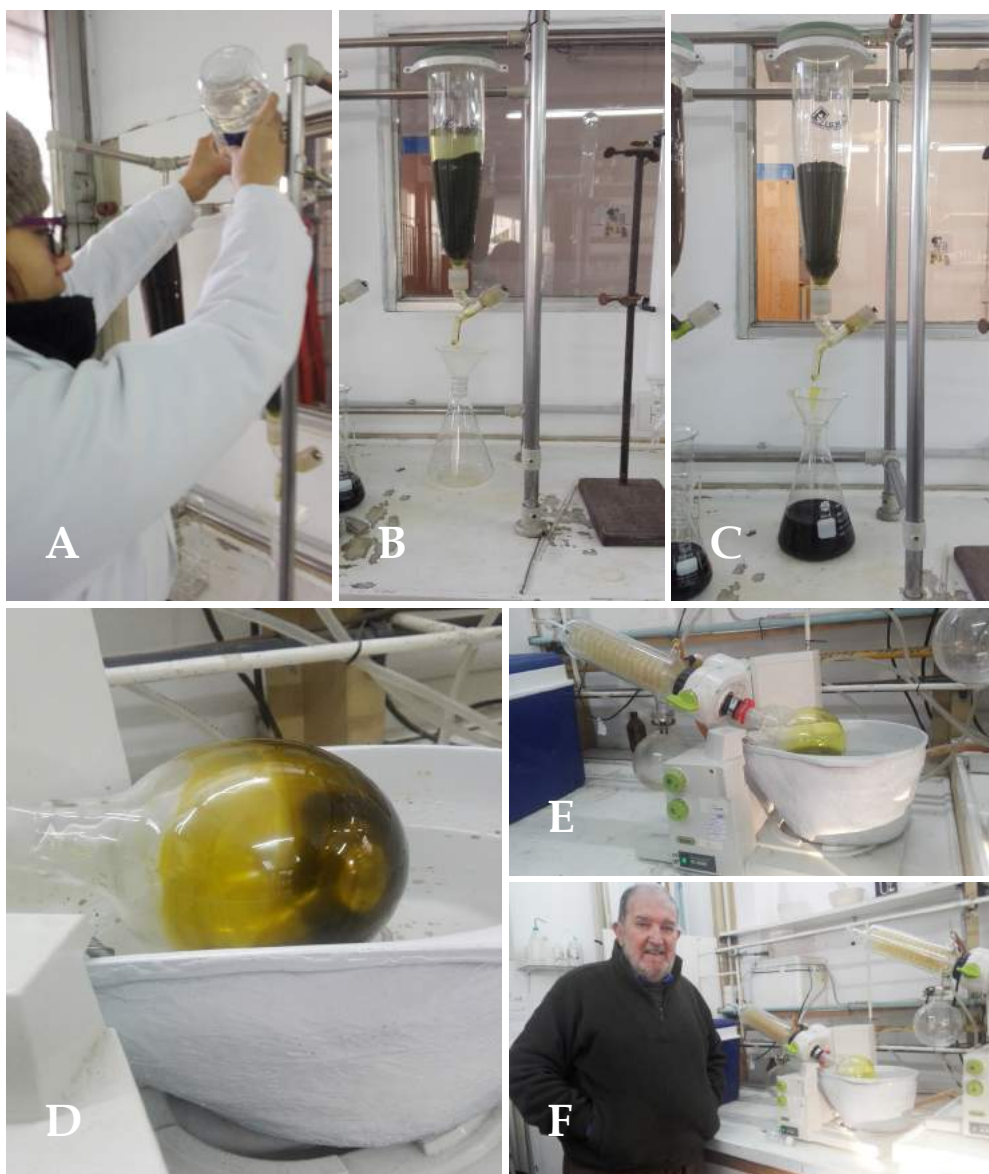
**Anexo. 1.** *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantaléan. A. Muestra de Herbario; B. Adecuando la muestra en la prensa botánica; C. Muestra en periódico; D. Secando la muestra en estufa eléctrica; E. Montaje de la muestra en el Herbario HAO (Fotografías S. Leiva & M. Leiva 7032 HAO).



Anexo. 2. *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean. A. Muestra botánica depositada en el Herbario HAO con el número 20043 (Fotografías S. Leiva & M. Leiva 7032 HAO).



**Anexo. 3.** *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean. A-B. Muestra secando a temperatura ambiente sobre papel Kraft; C. Pulverizando muestra en molino mecánico; D. Muestra pulverizada en bolsa ziploc. (Fotografías S. Leiva & M. Leiva 7032 HAO).



**Anexo. 4. *Passiflora salpoense* S. Leiva & Tantalean.** A-E. Obtención de los metabolitos a través del extracto etanólico en el Laboratorio de Química II de la Universidad Nacional de Córdoba - Argentina; F. Dr. Juan Carlos Oberti director del laboratorio de Química. (Fotografías M. Leiva 7032).



**Anexo. 5.** A. Ratones Balb/c en el bioterio; B. Midiendo la dosis del tratamiento en jeringa de tuberculina. (Fotografías S. Leiva).





**Anexo. 6.** A. Inicio de la prueba de marble burying; B. Ratón sin administración del extracto etanólico; C. Ratón después de 30 minutos de la prueba. (Fotografías M. Leiva).



**Anexo. 7.** A. Ratón después de 30 minutos de haberle suministrado el extracto etanólico a dosis de 50 mg; B. Ratón después de 30 minutos de haberle suministrado el extracto etanólico a dosis de 100 mg (Fotografías M. Leiva).