

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico
de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W.
Grimes "wallwa". Ayacucho - 2013

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. QUILLA CÁRDENAS, NAHÚD ALFREDO

AYACUCHO – PERÚ

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N. 210-2013-FCB-D

Bach. Nahúd Alfredo Quilla Cárdenas

En la ciudad de Ayacucho a los veintinueve días del mes de noviembre del año dos mil trece, siendo las cuatro y quince minutos de la tarde, se reunieron en el Auditorio de la Escuela de Post-grado de la Universidad Nacional De San Cristóbal de Huamanga, los miembros del Jurado Calificador bajo la presidencia del Dr. Segundo Tomás Castro Carranza e integrado por los miembros docentes: Mg. Maricela López Sierralta, Blga. Rosa Eloysa Cortez Saavedra, Dr. Edwin Carlos Enciso Roca (miembro-asesor), Mg. Enrique Javier Aguilar Felices, y actuando como secretaria docente, la Blga. Rosa Eloysa Cortez Saavedra. Se reunieron para recepcionar la sustentación de la tesis titulada: *Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de Otholobium pubescens (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". Ayacucho – 2013*, y presentado por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica Sr. Nahúd Alfredo Quilla Cárdenas, quien pretende obtener el título de Químico Farmacéutico. Como primer acto, el Sr. Decano, presidente del Jurado Calificador invitó a la Sra. Secretaria a dar la lectura a la Resolución Decanal que declara expedita la sustentación de la tesis y dio instrucciones al sr. bachiller sustentante para su exposición la que no debe exceder de cuarenta y cinco minutos.

Culminada la sustentación el Sr. Presidente del Jurado Calificador solicitó la participación de los miembros del Jurado Calificador para realizar observaciones, aclaraciones y/o preguntas que crean por conveniente para realizar la calificación correspondiente. Los miembros del jurado calificador participaron en el siguiente orden: Mg. Enrique Javier Aguilar Felices, Blga. Rosa Eloysa Cortez Saavedra, Mg. Maricela López Sierralta, Dr. Segundo Tomás Castro Carranza y termina con la participación del Dr. Edwin Carlos Enciso Roca como miembro asesor.

Culminada la fase de participación de los miembros del Jurado, el Sr. Presidente del Jurado Calificador invitó al Sr. sustentante y al público asistente a abandonar el auditorio para que el Jurado Calificador delibere y realizar la calificación correspondiente. Obteniéndose la siguiente calificación:

Jurado Calificador	Exposición	Respuesta a Preguntas	Promedio
Dr. Segundo Tomás Castro Carranza	14	14	14
Mg. Maricela López Sierralta	15	16	16
Blga. Rosa Eloyza Cortez Saavedra	14	14	14
Dr. Edwin Carlos Enciso Roca	17	17	17
Mg. Enrique Javier Aguilar Felices	15	16	16
		Promedio:	15

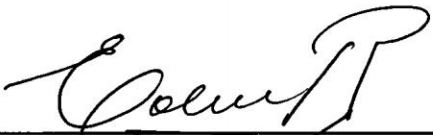
De la evaluación realizada el sustentante obtuvo la nota Quince (15); de la cual dan fé los miembros del Jurado Calificador, estampando su firma al pie en la presente acta, culminando el acto de sustentación siendo las seis y treinta de la tarde.




Dr. Segundo Tomás Castro Carranza
Presidente




Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA
Miembro



Dr. Edwin Carlos Enciso Roca
Miembro - Asesor



Mg. Enrique Javier Aguilar Felices
Miembro



Blga. Rosa Eloyza Cortez Saavedra
Miembro – Secretaria docente

DEDICATORIA

A Dios.

A mis padres, Andrés y Graciela.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi *Alma Mater*, por haberme permitido ocupar sus aulas y optar por esta hermosa profesión.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a todos los docentes de la E.F.P. de Farmacia y Bioquímica por su invaluable labor al formar tanto académica, ética y moralmente a los estudiantes, así como presentarlos ante la sociedad como excelentes profesionales.

A mis asesores del presente trabajo, el Dr. Edwin Carlos Enciso Roca y Dr. Aldo Tinco Jayo, que con gran criterio profesional y sobre todo comprensión humana contribuyeron a la realización de la presente tesis.

A todas las personas que de una u otra manera contribuyeron en la ejecución del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. "wallwa"	4
2.3. Intestino delgado	7
2.4. Neuroaminas	11
2.5. Cólico intestinal	13
2.6. Fármacos antiespasmódicos	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1. Ubicación del lugar de estudio	16
3.2. Población y muestra	16
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	17
3.4. Diseño experimental	19
3.5. Análisis de datos	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	31
VII. RECOMENDACIONES	32
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXOS	36

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1.	Diseño experimental	19
Tabla 2.	Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. "wallwa"	22

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Estructura histológica del intestino delgado	9
Figura 2.	Sinapsis colinérgica	12
Figura 3.	Altura de las contracciones del íleon aislado de rata por efecto de los tratamientos	23
Figura 4.	Número de las contracciones del íleon aislado de rata por efecto de los tratamientos	24

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación botánica	37
Anexo 2. Flujograma de obtención del extracto hidroalcohólico	38
Anexo 3. Composición del medio nutricio Tyrode	39
Anexo 4. Pulverización de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes "wallwa"	40
Anexo 5. Concentración del extracto hidroalcohólico	41
Anexo 6. Tubos de ensayo del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes "wallwa"	42
Anexo 7. Quimógrafo automático Panlab Harvard	43
Anexo 8. Acondicionamiento del íleon aislado de rata	44
Anexo 9. Baño automático de órganos aislados	45
Anexo 10. Análisis de varianza de la altura de las contracciones	46
Anexo 11. Prueba de Dunnett de la altura de las contracciones	47
Anexo 12. Análisis de varianza del número de contracciones	48
Anexo 13. Prueba de Dunnett del número de contracciones	49
Anexo 14. Respuesta gráfica del íleon tras la aplicación de acetilcolina	50
Anexo 15. Respuesta gráfica del íleon tras la aplicación de acetilcolina más atropina	51
Anexo 16. Respuesta gráfica del íleon tras la aplicación de acetilcolina más el extracto hidroalcohólico al 15%	52
Anexo 17. Respuesta gráfica del íleon tras la aplicación de acetilcolina más el extracto hidroalcohólico al 20%	53
Anexo 18. Respuesta gráfica del íleon tras la aplicación de acetilcolina más el extracto hidroalcohólico al 30%	54
Anexo 19. Matriz de consistencia	55

RESUMEN

Entre las opciones terapéuticas, la terapia herbal se convierte en una posibilidad frente al tratamiento de los cólicos gastrointestinales; es por ello que *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa" es una especie utilizada tradicionalmente como antiespasmódico. El presente trabajo de investigación experimental se realizó con el objetivo de determinar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" en íleon aislado de rata, desarrollado en los laboratorios del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga entre los meses de junio a octubre de 2013. Las hojas fueron colectadas en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho. Se extrajo con etanol al 80%, se evaporó a sequedad y se realizó los ensayos fitoquímicos, donde se evidenció la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, terpenos, cumarinas, aminoácidos y catequinas. La evaluación de la actividad antiespasmódica se realizó mediante el método de Magnus modificado en íleon aislado de rata, haciendo uso de un quimógrafo automatizado, Panlab Harvard; las contracciones fueron inducidas con acetilcolina $2 \times 10^{-1}M$, registrándose el aumento de la altura, y número de las contracciones. Se usó como control a la atropina y se evaluó el extracto hidroalcohólico a las concentraciones de 15%, 20% y 30%. La altura de las contracciones fueron de 2,14 mm con la atropina; 2,94 mm con el extracto al 15%; 2,68 mm al 20% y 2,36 mm con la concentración al 30% ($p < 0,05$). El número de las contracciones fueron de 1 con la atropina; 17,8 con el extracto al 15%; 8,4 al 20% y finalmente 4,2 con la concentración al 30% ($p < 0,05$). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" tiene actividad antiespasmódica, mostrando mejor efecto al 30%.

Palabras clave: *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", actividad antiespasmódica.

I. INTRODUCCIÓN

En los sistemas de salud de los países subdesarrollados o en desarrollo, las plantas representan una alternativa terapéutica de diversas afecciones del ser humano y animales. La Organización Mundial de la Salud, estimó que más del 80% de la población mundial usa la medicina tradicional para cubrir sus necesidades en la atención primaria, con el empleo de extractos de plantas o sus principios activos.^{1,2}

Una gran variedad de enfermedades se manifiestan con dolor abdominal tipo cólico, un síntoma claramente inespecífico, pero significativamente molesto, cuya prevalencia estimada para la población adulta es cercana al 30%.³

Las posibilidades terapéuticas incluyen una amplia gama de alternativas, entre las opciones terapéuticas para tratar el cólico gastrointestinal, tenemos a la medicina alternativa, y dentro de ella a la terapia herbal que se convierte en una posibilidad frente al tratamiento de las alteraciones gastrointestinales, siendo su uso muy común en la población general.³

Se recopiló información etnofarmacológica, detectando 473 plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional principalmente para tratar padecimientos gastrointestinales (diarrea, cólico intestinal y vómito).⁴ Existen diversos estudios con plantas medicinales para evaluar la actividad antiespasmódica, siendo los más usados los modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*.⁵ Dentro de los

metabolitos secundarios con actividad antiespasmódica principalmente los mayores porcentajes corresponden a flavonoides (33%), terpenos (25,3%) y alcaloides (22%).⁶

El empleo tradicional de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa" es en el tratamiento de cólicos gastrointestinales como digestivo, carminativo, antiespasmódico, antidiarreico. Además de tener propiedad hipoglicemiante.⁷

En el presente trabajo de investigación se ha evaluado la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico en íleon aislado de rata, haciendo uso de un baño automático de órganos y un quimógrafo automatizado. Este equipo tiene un transductor y amplificador con conexión a un computador que permitió registrar la actividad muscular del órgano aislado de manera más precisa.

Por estas consideraciones, los objetivos del presente trabajo de investigación fueron los siguientes:

Objetivo general

- Determinar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa".

Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa".
- Comparar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" con la atropina sobre íleon aislado de rata.
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" con mejor actividad antiespasmódica.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga se han realizado trabajos sobre la actividad antiespasmódica en varias especies como:

En el estudio sobre el efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pampa salvia" en íleon aislado de cuy; se observa que el extracto hidroalcohólico inhibe en un 85% la respuesta contráctil de la acetilcolina, mientras que el extracto acuoso no presentó efecto.⁸

Efecto espasmolítico de *Melissa officinalis* L. "toronjil", en el cual se reportó que el extracto acuoso presentó mejor efecto antiespasmódico que el extracto metanólico generando una disminución de la contracción en 64,66% y 49,85% respectivamente, mejores que la atropina que sólo tuvo 42,58% de efecto.⁹

En el estudio sobre el efecto antiespasmódico de la infusión acuosa de *Satureja brevicalex* Epl. "wayra muña" sobre íleon aislado de rata, se demostró una ligera actividad espasmolítica de la infusión acuosa frente al N-butilbromuro de hioscina; que podría deberse al medio usado para la extracción de principios activos responsables de esta actividad.¹⁰

En el estudio de la actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalex* Epl. "wayra muña", se demostró que los flavonoides

apigenina y naringenina, redujeron la altura y el número de las contracciones inducidos por la acetilcolina, en el íleon aislado de rata; concluyendo en que la concentración al 1%, tiene una respuesta cercana al patrón (atropina).¹¹

Existen otros trabajos de investigación que evalúan el efecto antiespasmódico de las plantas medicinales en ratas entre ellos tenemos evaluación del efecto *in vitro* de la infusión al 10% de hojas secas de *Ocimum basilicum* “albahaca” y *Foeniculum vulgare* “hinojo” y la mezcla 1:1 de ambas infusiones, demostrando efecto relajante en el tono del íleon de rata en ambas especies; pero no observaron efecto aditivo con la mezcla de ambas.³

En el estudio sobre el efecto antiespasmódico de los extractos de metanol, cloroformo y hexano del alga *Oedogonium capillare* (Linn) Kuetz sobre íleon de rata Wistar; el extracto metanólico presentó un mejor efecto relajante a comparación de los otros que no tuvieron efecto sobre la amplitud de las contracciones ni sobre el tono del músculo del íleon.¹²

2.2. *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. “wallwa”

2.2.1. Taxonomía

Según el certificado de identificación botánica del *Herbarium Huamangensis* (Anexo 1), la especie se ubica en la siguiente categoría taxonómica:

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUB- CLASE	: ROSIDAE
ORDEN	: FBALES
FAMILIA	: PAPILIONACEAE
GÉNERO	: <i>Otholobium</i>
ESPECIE	: <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes
N.V.	: “wallwa”, “culén”

2.2.2. Descripción botánica

Arbusto erguido, ampliamente ramificado que alcanza entre uno y medio a tres metros de altura; presenta tallo aéreo, erguido, semileñoso, densamente pubescente de color blanquecino ¹³

Hojas compuestas trifoliadas, aromáticas, las cuales presentan folíolos oblongo-lanceolados de borde entero de cinco a ocho cm de longitud por uno y medio a dos y medio cm de ancho, pubescente con largos tricomas en el nervio de la cara inferior.¹³

Flores de color lila con inflorescencia racimosa axilar alargada de diez a 15 cm de longitud. Fruto seco pequeño, oval, acuminado e indehisciente, legumbre que contiene una semilla.¹³

La reproducción de esta especie puede hacerse por semillas sembradas durante verano o por estacas en la época otoñal; es de crecimiento rápido en condiciones de humedad apropiada.¹³

2.2.3. Distribución geográfica

Es una planta silvestre que crece en la región andina del Perú, Chile, Bolivia y Argentina; crece de preferencia en lugares húmedos de los valles y las quebradas de la precordillera.¹⁴

En el Perú esta planta se desarrolla entre los 2 000 a 4 000 m.s.n.m., en los departamentos de Ayacucho, Apurímac, Cusco, Puno, Junín, Cajamarca, Ica y Huancavelica.¹⁴

2.2.4. Etnobotánica y etnofarmacología

Las informaciones recogidas del uso empírico y popular de esta especie, refieren su empleo como digestivo, antiespasmódico, hipoglicemiante, antidiarreico, antibacteriano y vermífugo, para lo cual se utiliza la planta entera en forma de cocimiento o infusión.⁷

Además se le atribuyen propiedades de ser antiinflamatoria, astringente, catártica, hemostática y antiinfecciosa, se usa para aliviar las afecciones digestivas, especialmente para la diarrea; también sirve para lavar las heridas y como antihelmíntico.¹⁵

A continuación se mencionan las formas de uso tradicional:¹⁵

Infusión: se prepara con una cucharada de hojas secas para una taza de agua hervida. Beber tres a cuatro tazas al día. Se utiliza así como vermífugo y contra las diarreas.

Cocimiento- Lavados: se pone dos cucharadas de hojas en medio litro de agua. Se hace hervir y se deja entibiar. Se cuelean las hojas y con el líquido se lavan las heridas.

Cocimiento: se prepara con 100 g de hojas y flores de culén y un litro y medio de agua. Se hace hervir hasta que quede alrededor de un litro de agua. Se filtra y se toma cuatro o cinco copas al día. Ello se aplica contra la diabetes, sin embargo, se recomienda para este caso, un control médico.

2.2.5. Estudios farmacológicos

Presenta actividades antimicrobianas y citotóxicas.¹⁶

Propiedad hepatoprotectora, antioxidante, antimutagénico, acciones anticancerígenas, así como de reducir el colesterol.¹⁷

Además, por la presencia de bakuchiol se ha reportado una acción antimicrobiana de amplio espectro contra numerosos tipos de bacterias, micobacterias, hongos y virus.^{17,18}

Acciones antiinflamatorias y antipiréticas, así como en el tratamiento posible de la anemia de células falciformes.^{19,20,21}

Propiedad hipoglicemiante por la presencia del metabolito secundario bakuchiol.^{20,22}

2.2.6. Composición química

Aceites esenciales (psoraleno), taninos, gomas, resinas, furanocumarinas, terpenoides, tiene como componente mayoritario al meroterpenoide bakuchiol,²⁰ así como también presenta a los meroterpenoides 3-hidroxi-bakuchiol y 12-hidroxi-bakuchiol.¹⁸

Se ha documentado también la presencia de una furanocumarina denominada angelicina.^{18,19,21}

Otholobium pubescens “wallwa” fitoquímicamente presenta los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, y glicósidos.²³

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “wallwa”, presenta metabolitos secundarios, como: flavonoides, alcaloides, taninos; además se identificó estructuralmente un flavonoide del tipo Chalcona.²⁴

2.3. Intestino delgado

2.3.1. Anatomía y fisiología del intestino delgado

El intestino delgado es un tubo estrecho que se extiende desde el estómago hasta el colon. Consta de tres partes, duodeno, yeyuno e íleon.²⁵

El duodeno tiene unos 25 cm de longitud y se extiende desde el píloro hasta el ángulo duodeno-yeyunal, rodeando la cabeza del páncreas.²⁵

El yeyuno y el íleon tienen en conjunto más de cuatro y medio m de longitud y debido a que sus características morfológicas y funcionales son parecidas se les puede considerar una unidad: el yeyuno-íleon, que forma las llamadas asas del intestino delgado, situadas por debajo del colon transversal y recubiertas por el mesenterio, constituido por pliegues de peritoneo, que las sujeta a la pared abdominal posterior.²⁵ La desembocadura del íleon en el colon, se produce en el

ciego, en el orificio íleocecal a través del cual pasa el contenido del intestino delgado al intestino grueso, y que está rodeado por la válvula íleo-cecal cuya función principal es evitar el reflujo de materias fecales desde el colon al intestino delgado.²⁶

En los últimos centímetros de íleon, que preceden a la válvula, la pared intestinal, posee una pared muscular engrosada, el esfínter íleocecal que, en condiciones normales, se encuentra medianamente contraído y no permite que el contenido del íleon se vacíe en el ciego de un modo brusco y continuado.²⁶

El intestino delgado presenta dos tipos de movimientos.²⁷

- **Contracciones de mezclado o de segmentación**, que son contracciones concéntricas localizadas y espaciadas a lo largo del intestino delgado, que se desencadenan cuando una porción de intestino es distendida por el quimo.²⁷

La longitud de cada contracción es de un cm aproximadamente, de modo que cada serie de contracciones provoca segmentación del intestino delgado y corta el quimo varias veces en un minuto, haciendo que se mezclen las partículas de alimento con las secreciones que hay en el intestino.²⁷

- **Contracciones de propulsión o peristálticas**, que son las ondas peristálticas que impulsan al quimo por el intestino delgado. Cuando el quimo entra en el intestino procedente del estómago, provoca distensión inicial del duodeno proximal, con lo que se inician las ondas peristálticas que se desplazan en dirección anal a una velocidad de unos dos cm/s, aunque son más rápidas en la parte proximal del intestino y mucho más lentas en la parte terminal.²⁷

La función de las ondas peristálticas en el intestino delgado es no solo la progresión del quimo hacia la válvula íleo-cecal sino también la dispersión del quimo por la mucosa intestinal para que sea facilitada su absorción.²⁷

2.3.2. Estructura histológica del intestino delgado

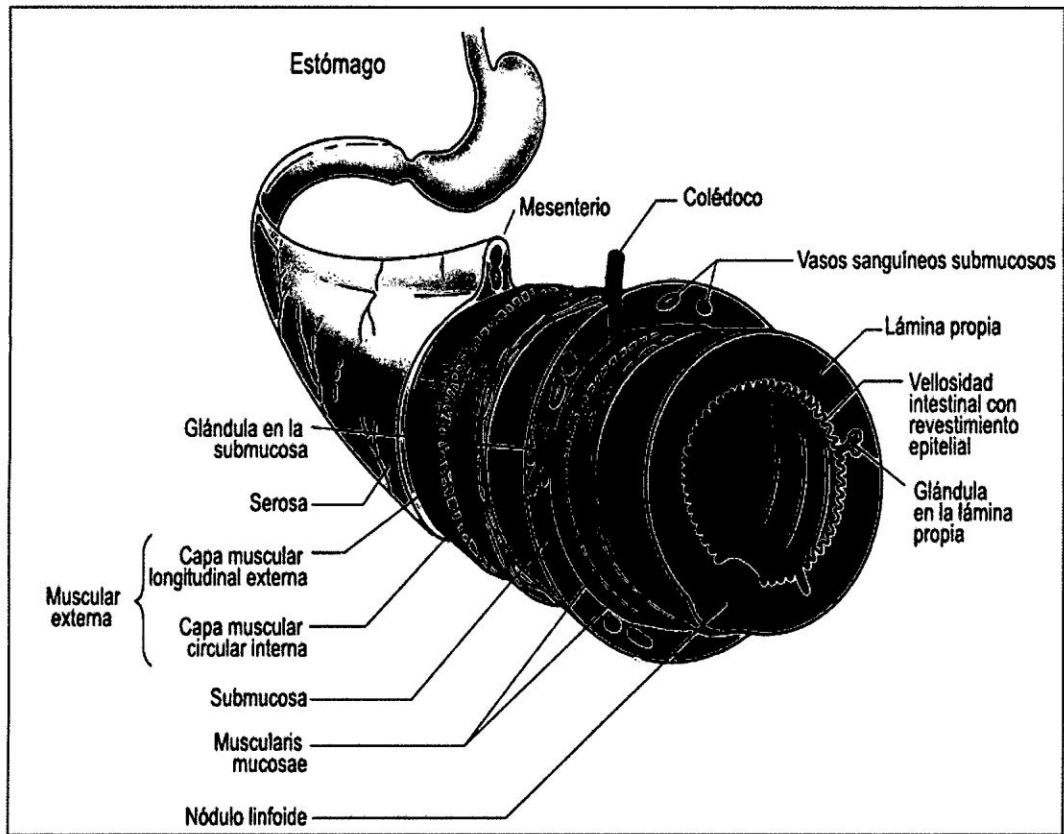


Figura 1. Estructura histológica del intestino delgado.²⁷

Existen cinco capas en la pared del tubo digestivo:²⁷

La serosa, que es una extensión del peritoneo; la muscular, que está formada por dos capas de fibras musculares lisas, una externa longitudinal y otra interna circular; la submucosa, formada por un tejido conjuntivo denso que contiene células dispersas, así como las glándulas de Brünner en el duodeno; la *muscularis mucosae*, que está constituida por una capa delgada de fibras musculares; y la mucosa, formada por un epitelio de una sola capa que recubre un tejido conjuntivo denominado lámina propia.

2.3.3. Sistema nervioso autónomo

El sistema nervioso autónomo (SNA) o vegetativo es un componente importante del sistema nervioso constituido por un complejo conjunto de neuronas y vías nerviosas que controlan la función de los diferentes sistemas viscerales del

organismo. El SNA, a través de los tres componentes eferentes que lo integran el simpático, parasimpático y entérico, inerva el músculo cardíaco, el músculo liso de todos los órganos y las glándulas exocrinas y endocrinas. Así, regula la respiración, la circulación, la digestión, el metabolismo, la secreción glandular, la temperatura corporal, la reproducción y además, coordina todas estas funciones vitales para mantener la homeostasis.²⁸

2.3.4. Neurotransmisión en el tracto gastrointestinal

La regulación nerviosa de la función gastrointestinal se caracteriza por un elevado grado de autonomía. Aunque recibe la influencia del sistema nervioso autónomo, presenta características muy especiales que la separan claramente de la regulación en otros órganos. Estas características son: la existencia de un sistema nervioso entérico (SNE) virtualmente independiente del control nervioso central; existencia de gran número de neuronas intrínsecas (107 a 108); la enorme diversidad de tipos neuronales y de neurotransmisores, especialmente neuropéptidos, y la frecuencia con que una misma neurona contiene dos o más cotransmisores. De esta manera, este sistema controla la motilidad, las secreciones exocrina y endocrina, y la microcirculación del tubo digestivo, e interviene en la regulación de sus procesos inmunológicos e inflamatorios. El SNE mantiene una clara relación y comunicación con el sistema nervioso central (SNC) a través de las neuronas aferentes y eferentes del sistema simpático y parasimpático. Así pues, existe una parte del SNC dedicado a regular y controlar la actividad del SNE, pero buena parte de la actividad ordinaria del aparato digestivo es realizada bajo el control casi exclusivo del SNE.²⁸

2.3.5. Mecanismo de contracción del músculo liso

Entre los distintos neurotransmisores con capacidad de producir contracción del íleon se encuentran acetilcolina (ACh), histamina, noradrenalina, ya que el íleon presenta receptores para estos mediadores. Concretamente ACh es un agonista

de receptores muscarínicos y nicotínicos. El nicotínico es un receptor preganglionar, y no se encuentra en el íleon, sino en el ganglio donde sinaptan las neuronas que inervan el intestino.²⁹

2.4. Neuroaminas

Amina utilizada por el sistema nervioso central como neurotransmisor, entre ellas tenemos a la serotonina, acetilcolina, dopamina, norepinefrina. La inervación colinérgica es abundante, el 50% de las neuronas del plexo submucoso y el 20% de las del mientérico contienen acetilcolina, a menudo en asociación con otros cotransmisores.²⁸

2.4.1. Acetilcolina

La acetilcolina (ACh) fue el primer neurotransmisor caracterizado tanto en el sistema nervioso periférico (SNP) como en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos. Es sintetizada en el citoplasma neuronal a partir de la colina y de la acetilcoenzima A (acetil-CoA) mediante la acción de la enzima colina acetiltransferasa (CAT).²⁹

Una vez sintetizada, la acetilcolina es almacenada fundamentalmente en el terminal colinérgico presináptico. Una vez liberada al espacio intersináptico, la acetilcolina interactúa con sus receptores para ejercer las acciones específicas en cada órgano y es degradada inmediatamente. Si bien la acetilcolina puede hidrolizarse espontáneamente, este proceso es 100 millones de veces más rápido con enzimas colinesterásicas en el espacio intersináptico y que la desdoblan en acetato y colina, sustrato que será rápidamente recaptado por el terminal presináptico.²⁹

Los receptores de acetilcolina (nicotínicos y muscarínicos) se encuentran ampliamente distribuidos en diversas áreas del SNC y en el SNP, en donde cada uno de ellos presenta un patrón de expresión temporal y espacial particular, los

cuales pueden superponerse durante el desarrollo y son responsables de las diversas acciones fisiológicas de la acetilcolina.²⁷

Los receptores muscarínicos están presentes en diversos órganos y tejidos en la periferia (tejido cardíaco, músculo liso y glándulas exocrinas) y dentro del sistema nervioso central.²⁸

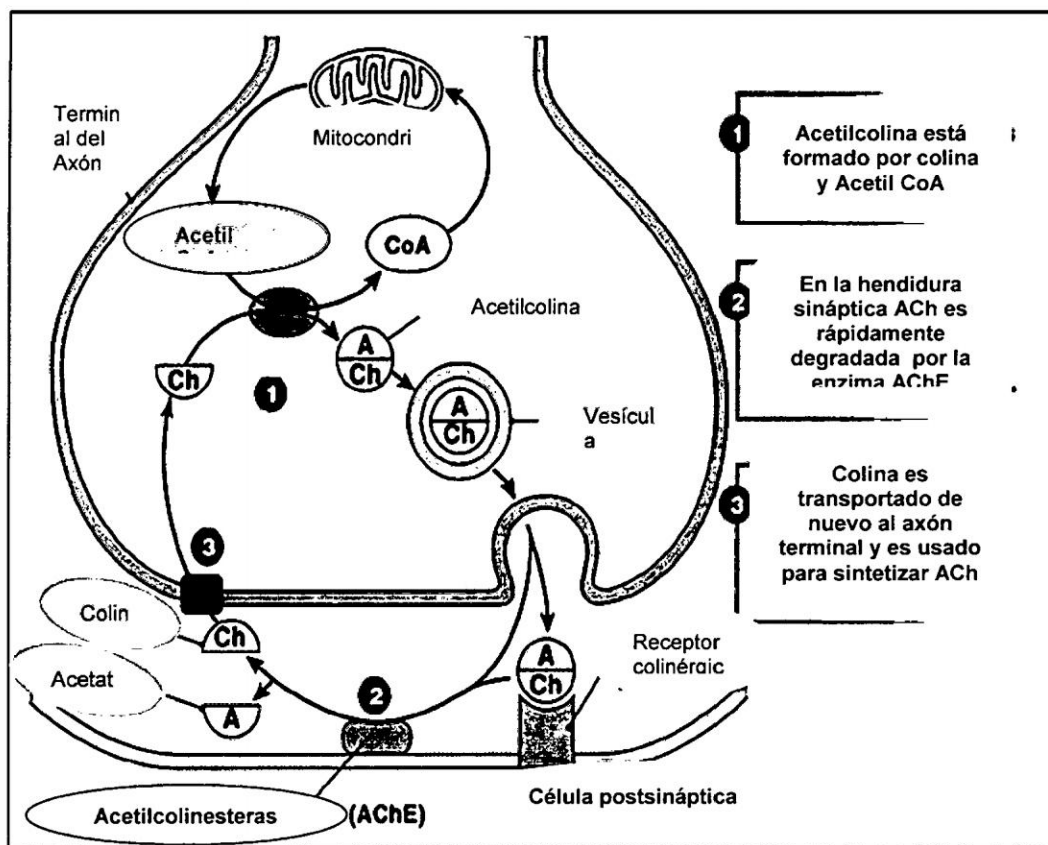


Figura 2. Sinapsis colinérgica.³⁰

2.4.2. Acciones farmacológicas sobre el aparato gastrointestinal

Aumentan el tono, la actividad motora y secretora en todo el aparato. Activan en mayor grado las glándulas salivales y gástricas que las pancreáticas o las del intestino. Pueden producir espasmos gastrointestinales, generando una brusca aceleración del tránsito intestinal, con heces diarreicas y dolores tipo cólico; espasmos esofágicos, que pueden simular dolor anginoso.³⁰

2.5. Cólico intestinal

Dolor agudo en cualquier parte del intestino provocada por una contracción espasmódica (contracción involuntaria persistente de un músculo o grupo muscular) de la musculatura lisa de la pared intestinal. El dolor cólico es generalmente supra o periumbilical; si el intestino se dilata progresivamente, con pérdida de su tono muscular, el carácter cólico del dolor se va perdiendo.³¹

2.6. Fármacos antiespasmódicos

Los antiespasmódicos son un grupo de agentes, que incluyen algunos compuestos de origen natural como los alcaloides de la especie vegetal *Atropa belladonna* (atropina, belladonna, hiosciamina, y escopolamina) o sus derivados sintéticos.³²

Aunque se conocen diversos mecanismos farmacológicos que explican el mecanismo de acción de los compuestos antiespasmódicos, el más común es la actividad como antagonista competitivo de la acetilcolina (antagonistas colinérgicos), y con ello impiden la despolarización de la célula muscular y su consiguiente contracción.³²

2.6.1. Fármacos anticolinérgicos

Los anticolinérgicos, fármacos capaces de bloquear la acción de la acetilcolina sobre sus efectores autónomos, pueden dividirse en antagonistas nicotínicos y muscarínicos.²⁸

La atropina y sus derivados, al bloquear de forma competitiva los receptores muscarínicos colinérgicos, impiden la acción de la acetilcolina sobre el músculo liso y las glándulas exocrinas, por lo que inhiben la secreción salival y ácida gástrica. Sobre la motilidad gastrointestinal, los anticolinérgicos producen una reducción significativa del tono muscular y de la frecuencia y amplitud de las contracciones, lo que se traduce en un enlentecimiento del tránsito intestinal. El

efecto espasmolítico ha sido ampliamente utilizado en el tratamiento de procesos que supuestamente cursan con aumento de la contractilidad muscular, como el intestino irritable.³²

También se utilizan otros anticolinérgicos con N cuaternario, con la pretensión de que actúen más selectivamente en los plexos ganglionares mientéricos: bromuro de butilescopolamina (solo o asociado), bromuro de metilescopolamina, la dicitroverina, el metilbromuro de octatropina, el otilonio y el pinaverio. La utilidad real de todos estos fármacos es en el tratamiento de las alteraciones motoras digestivas (cólicos, espasmos o distonías).³²

2.6.2. Fármacos no anticolinérgicos

Opio y derivados. Comprenden: extracto de opio, codeína, etilmorfina, loperamida y difenoxilato. Poseen una acción inhibitoria de la motilidad intestinal a lo largo de todo el tubo digestivo. Producen un retraso en el vaciamiento gástrico; en el intestino delgado y en el colon aumentan el tono y reducen el peristaltismo propulsivo, lo que dificulta el avance de la masa fecal; así mismo, estimulan la reabsorción de agua por un mecanismo adicional al aumento del tiempo de contacto del contenido intraluminal a la superficie de la mucosa. Los mecanismos implicados son centrales, espinales y supraespinales, mediados por receptores opioides preferentemente μ y periféricos. La acción periférica se ejerce sobre los plexos mientéricos, donde inhiben la liberación de neurotransmisores. En general, el tratamiento con opioides da lugar a efectos adversos como sedación, depresión respiratoria, náuseas, vómitos y farmacodependencia, entre otros.³²

Loperamida: Induce un efecto antisecretor potente por mecanismos dependientes de calcio e incrementa el tono del esfínter anal, mejorando la

continencia fecal en la diarrea. No es adictivo. Las reacciones adversas más frecuentes son: dolor abdominal de origen difuso y estreñimiento marcado.³²

Como espasmolíticos no anticolinérgicos, de acción directa sobre fibra muscular lisa, se encuentran la papaverina, la mebeverina, la pramiverina y la trimebutina. Son fármacos que relajan la fibra muscular lisa de la pared gastrointestinal por un mecanismo directo, es decir, no mediado por receptores de transmisores actualmente conocidos. Es posible que actúen intracelularmente, interfiriendo alguno de los procesos moleculares necesarios para producir la contracción muscular. Por ello, su actividad inhibidora es amplia, sea cual fuere el estímulo desencadenante de la contracción o espasmo, y por consiguiente más intensa que la de los fármacos estrictamente anticolinérgicos.²⁸

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del lugar de estudio

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios del Área Académica de Farmacia, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, durante los meses de junio a octubre de 2013.

3.2. Población y muestra

Población: Hojas de la especie *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", del distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho, ubicado a 3 276 m.s.n.m.

Muestra: La muestra estuvo constituida por un kg de hojas secas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", recolectadas por conveniencia en buen estado, de las cuales se obtuvo el extracto hidroalcohólico.

Animales de experimentación: 15 ratas albinas machos de raza Wistar de peso entre 200 y 250 g, adquiridos en el Bioterio del Instituto Nacional de Salud, ubicado en el distrito de Chorrillos, ciudad de Lima. Todos los animales fueron adquiridos en buen estado de salud, con una semana de anticipación y acondicionados en jaulas del Bioterio del laboratorio de Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección y preparación de la muestra

Un tallo, con hojas y flores de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", fue recolectado y secado con sumo cuidado para la identificación botánica por la Blga. Laura Aucasime del *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 1). Se recolectaron y seleccionaron las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", éstas se secaron a temperatura ambiente en una habitación ventilada hasta la eliminación de la humedad cambiando el papel de soporte cada 24 horas y removiendo el vegetal para evitar su descomposición, por un período aproximado de dos semanas. Luego se pulverizó la muestra utilizando un mortero (Anexo 4) y se pesó aproximadamente 500 g para realizar la extracción hidroalcohólica con tres litros de etanol al 80%, en frascos de color ámbar por una semana, durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se filtró, obteniendo así la solución hidroalcohólica; seguidamente se procedió a concentrar el extracto en baño María a 50°C (Anexo 5), y luego se realizó la evaporación a sequedad, en una estufa a 32°C.

3.3.2. Tamizaje fitoquímico

Para poder identificar los posibles metabolitos secundarios presentes en este extracto hidroalcohólico se realizó el tamizaje fitoquímico, siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar.³³

3.3.3. Determinación de la actividad antiespasmódica

La actividad antiespasmódica se evaluó siguiendo el método de Magnus modificado citado por Barástegui,³⁴ que consiste en la inducción de espasmos en fracciones de íleon aislado, conservados en el medio nutricio Tyrode (Anexo 3),

con acetilcolina y evaluación del efecto antiespasmódico con la sustancia problema, utilizando como patrón de referencia a la atropina.

Materiales

- Acetilcolina, se preparó en agua destilada a una concentración de $2 \times 10^{-1}M$.
- Trece ampollas de atropina de 1 mg/ml (fabricado por Shandong Shenglu Pharmaceutical).
- Extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones: 15%, 20% y 30%, que se prepararon con solución nutritiva de Tyrode; de manera que el extracto hidroalcohólico forme una suspensión con la solución de Tyrode.

Procedimiento. Se suspendió la alimentación de los animales con 24 horas de anticipación siendo mantenidas con agua a voluntad. Para iniciar el trabajo se encendió el Baño de Órganos Automático, se encendió el Software y se calibró el quimógrafo automatizado Panlab Harvad, luego se sacrificó a las ratas por dislocación cervical, se abrió la cavidad abdominal y se extrajo la porción terminal del íleon que fue sumergido de inmediato en una placa petri conteniendo la solución nutritiva Tyrode a 37°C, la cual está en constante oxigenación con 95% de oxígeno y 5% de anhídrido carbónico; luego se lavó (se eliminó grasas y residuos) cuidadosamente (Anexo 8) y se cortó en segmentos de dos a tres cm, los cuales fueron fijados con seda quirúrgica, por un extremo a un transductor que contacta con el quimógrafo automatizado y por el otro a la cámara de Baño de Órganos Automático, con 25 ml de solución Tyrode, burbujeo constante (95% de oxígeno y 5% de anhídrido carbónico) y a 37°C (Anexo 9).

Se activó el Software, y se dejó estabilizar aproximadamente por 30 minutos, y una vez conseguida una línea basal estable, se adicionó 0,5 ml de

acetilcolina $2 \times 10^{-1}M$ y se dejó en observación por 20 min (Grupo I) (Anexo 16). Para el caso de los Grupos II, III IV y V, se hizo un registro control durante unos minutos y después se agregó 0,5 ml de acetilcolina al baño que permaneció en contacto con el íleon durante cinco minutos aproximadamente, luego se adicionó 0,5 ml de atropina, extracto hidroalcohólico al 15%, 20% y 30% respectivamente para cada grupo y se dejó en observación. Todos los cambios y movimientos fueron captados por un transductor y registrados en la computadora (Anexos 17 al 20).

Para cada uno de los grupos se utilizaron tejidos recién obtenidos y se estabilizaron aproximadamente por 30 min. Se realizaron cinco repeticiones por grupo, la dosis óptima de acetilcolina y de atropina se determinaron en experiencias previas.

3.4. Diseño experimental

De acuerdo con la Tabla 1, se empleó el Diseño Completamente Randomizado (DCR) con cinco tratamientos; por el cual se extrajo dos íleon de cada animal de experimentación, y se dividieron en cinco grupos de cinco repeticiones cada uno.

Tabla 1. Diseño experimental.

	Tratamientos				
	Acetilcolina $2 \times 10^{-1}M$ 0,5 ml	Atropina 1 mg/ml 0,5 ml	Extracto hidroalco- hólico 15% 0,5 ml	Extracto hidroalco- hólico 20% 0,5 ml	Extracto hidroalco- hólico 30% 0,5 ml
Grupo I	X				
Grupo II	X	X			
Grupo III	X		X		
Grupo IV	X			X	
Grupo V	X				X

3.5. Análisis de datos

Se determinó el promedio y la desviación estándar de la altura y el número de las contracciones alcanzadas por las concentraciones del extracto hidroalcohólico al 15%, 20%, 30%; y la atropina. Las diferencias entre los promedios de los tratamientos se evaluaron mediante el análisis de varianza (ANOVA), con un 95% ($\alpha=0,05$) de confianza, para aceptar o rechazar la hipótesis nula; que indica que no existen diferencias entre ellos.

Así mismo, se realizó la prueba de comparación múltiple de Dunnett con un 95% ($\alpha=0,05$), que permitió hacer todas las posibles comparaciones de las medias de todos los tratamientos contra un control, que en este caso sería la atropina; para aceptar o rechazar la hipótesis nula; que indica que no existen diferencias entre los tratamientos comparados con el control.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa".

Metabolitos Secundarios	Ensayo	Resultado	Observación
Alcaloides	Dragendorf	(+++)	Precipitado
	Mayer	(+++)	Precipitado
	Wagner	(+++)	Precipitado
Flavonoides	Shinoda	(+++)	Rojo
Compuestos fenólicos y/o taninos	Cloruro férrico	(++)	Azul oscuro
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman - burchard	(+++)	Verdeazulado
Cumarinas	Baljet	(+++)	Precipitado
Aminoácidos	Ninhidrina	(+++)	Azul violáceo
Catequinas	Catequinas	(+++)	Verde carmelita

Leyenda:

(+++) : Abundante
 (++) : Moderado
 (+) : Leve

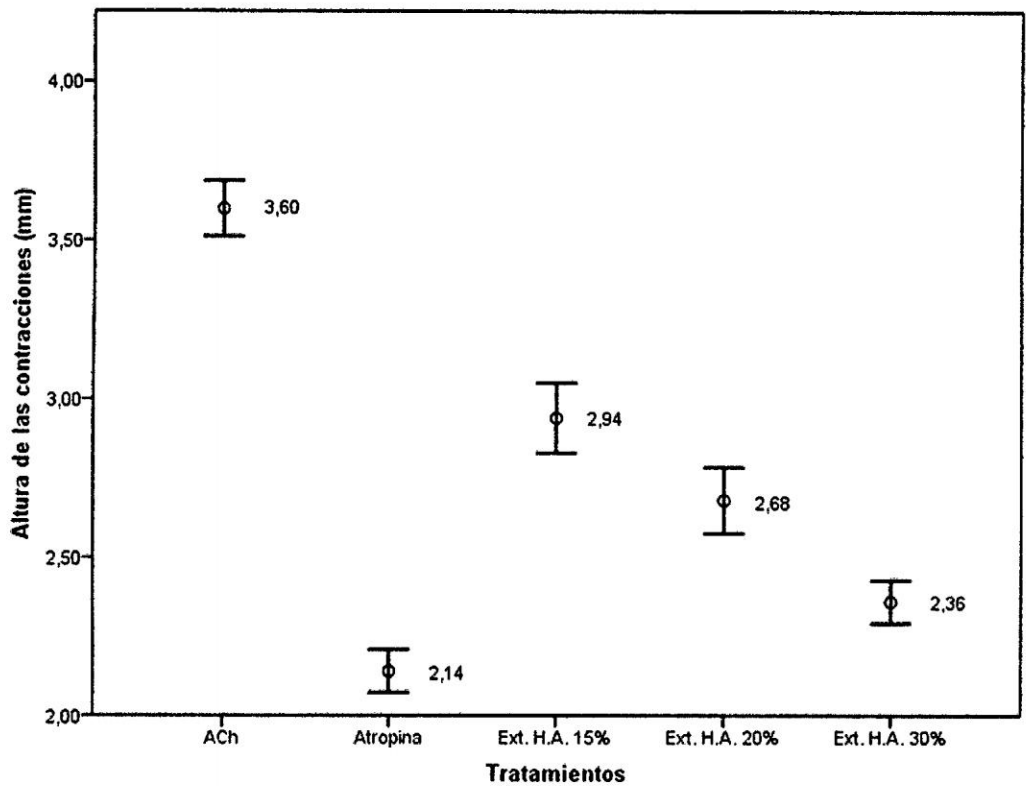


Figura 3. Altura de las contracciones del ileon aislado de rata por efecto de los tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa".

Leyenda:

- ACh : acetilcolina
- Ext. H.A. 15% : extracto hidroalcohólico al 15%
- Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%
- Ext. H.A. 30% : extracto hidroalcohólico al 30%

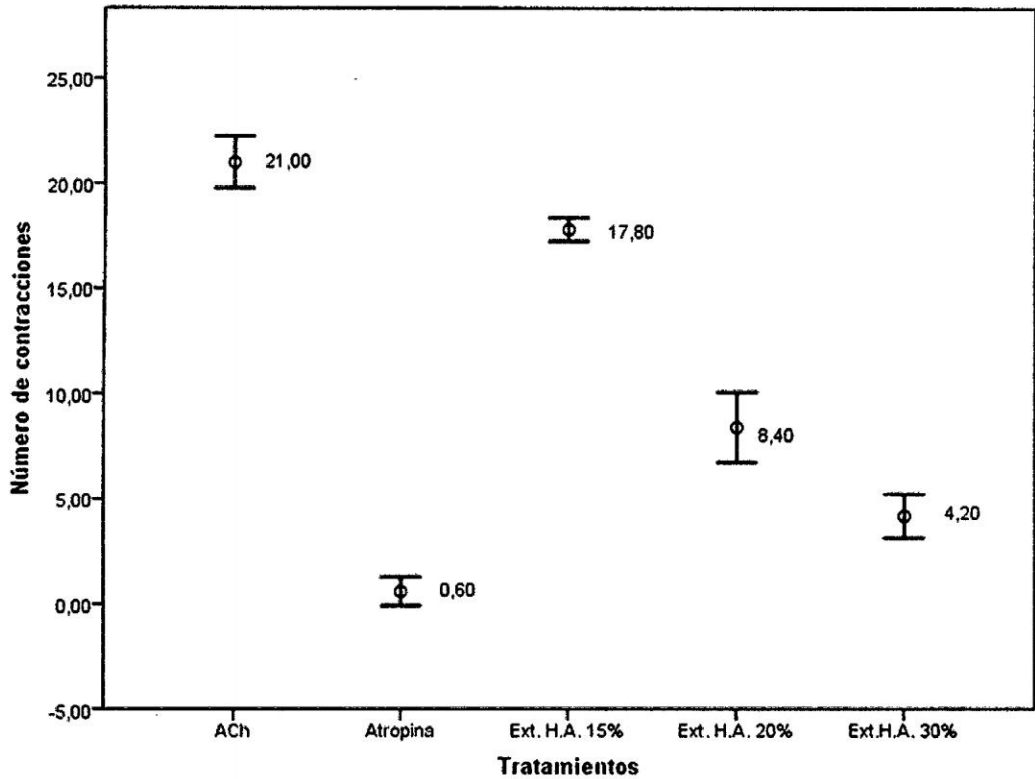


Figura 4. Número de las contracciones del íleon aislado de rata por efecto de los tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa".

Leyenda:

- ACh : acetilcolina
- Ext. H.A. 15% : extracto hidroalcohólico al 15%
- Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%
- Ext. H.A. 30% : extracto hidroalcohólico al 30%

V. DISCUSIÓN

Otholobium pubescens (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", es una planta muy empleada en la medicina tradicional, por amplios sectores de nuestra población y de otros países como Chile, Bolivia y Argentina;¹⁹ los cuales le atribuyen diversas propiedades, entre las que se encuentra la antiespasmódica.⁷ Este hecho fue lo que motivó a estudiar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico. Por lo que se procedió a realizar una extracción con etanol al 80% (Anexo 2), se utilizó como menstruo al alcohol porque arrastra la mayoría de los metabolitos secundarios presentes en la planta.³³

Según los resultados observados en el tamizaje fitoquímico en la Tabla 1 se pudo comprobar la presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, triterpenos y/o esteroides, cumarinas, aminoácidos y catequinas.

Castro *et al.*, en el tamizaje fitoquímico realizado de las hojas de *Otholobium pubescens* "wallwa", demostró la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas y glicósidos.²³

Solgorré, en experiencias previas no evidenció la presencia de alcaloides, pero si demostró la presencia de antraquinonas y azúcares reductores en las hojas y flores de dicha planta.⁸ En otro estudio sobre los metabolitos secundarios presentes en *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes "wallwa", se demostró la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos, azúcares reductores.²⁴

La variación en la composición química entre las especies recolectadas en diferentes zonas se debe al tipo de suelo, el clima, el ecosistema, el estado vegetativo en las que crecen las plantas medicinales.³⁵

Resaltando los ensayos fitoquímicos de Shinoda, Liebermann – Burchard, y de cloruro férrico; mediante las cuales se observaron la presencia de flavonoides, terpenos, taninos y alcaloides, respectivamente; ya que según diversas investigaciones la actividad antiespasmódica se le atribuye principalmente a estos metabolitos secundarios.^{6,36}

El ensayo farmacológico se realizó teniendo en cuenta que los segmentos aislados del intestino de cualquier especie animal menor mantiene la función de contracción y relajación durante un tiempo prolongado, a condición de mantenerlos inmersos en solución adecuada y a temperatura adecuada.³⁶ Por tales razones, las fracciones del órgano aislado se mantuvieron todo el tiempo inmersos en la solución nutritiva Tyrode a 37°C, con oxigenación constante en todo momento desde que fueron aislados.

Los resultados se observan gracias a que la contracción y relajación del órgano aislado modifica la tensión mecánica que ejerce, la que es convertida en señal eléctrica mediante un transductor de tensión, esta señal es amplificada y registrada para cuantificar los cambios en la tensión.³⁴

En la Figura 3, se observa que las alturas alcanzadas por las contracciones con atropina alcanzan un promedio de altura de 2,14 mm, y las concentraciones al 15%, 20% y 30%, muestran alturas de 2,94; 2,68 y 2,36 mm respectivamente, a comparación de la tratada sólo con acetilcolina, que alcanzó una altura de 3,6 mm.

Ahora, respecto al número de contracciones (Figura 4), con la atropina presenta el menor número de contracciones con 1,0 en promedio seguido del extracto

hidroalcohólico al 30% con 4,2 y de las concentraciones de 20% y 15% con 8,4 y 17,8 respectivamente.

El análisis de varianza de la altura, y número de las contracciones del íleon aislado de rata (Anexos 10 y 12) presentan un nivel de significancia menor a 0,05; lo que significa que existen diferencias significativas en los diferentes tratamientos, mostrando que las tres concentraciones tienen actividad antiespasmódica.

Al realizar las comparaciones múltiples con la prueba de Dunnett para la altura, y número de las contracciones del íleon aislado de rata (Anexos 11 y 13), se encontró que las tres concentraciones del extracto hidroalcohólico tienen respuestas estadísticamente diferentes entre sí, y que también tienen diferentes respuestas estadísticas comparadas con el control atropina; mostrando que la concentración al 30% posee una mejor actividad antiespasmódica que las concentraciones al 20% y 15%.

Se puede establecer entonces una relación dosis – respuesta, puesto que a mayor dosis se obtuvo una mayor disminución de la altura, y número de las contracciones en el íleon aislado de rata.

En el presente trabajo la atropina presentó la mejor actividad antiespasmódica, antagonizando por completo a la acetilcolina, como se observa en las Figuras 3 y 4; al igual que en el estudio realizado por Yuncacallo, con *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl., donde la atropina inhibe por completo la respuesta contráctil de la acetilcolina y el extracto hidroalcohólico lo hace en un 85%, mientras que el extracto acuoso no presentó efecto, responsabilizando de esta actividad antiespasmódica a los terpenos.⁸

Las plantas medicinales con aceites esenciales, son muy usadas para el tratamiento de los cólicos, porque en su composición química presentan generalmente terpenos.³⁷ Entre los componentes antiespasmódicos de aceites

esenciales, tenemos 1,8 cineol y eugenol (*Ocimum gratissimum*), timol (*Thymus membranaceus*, *Acalypha phleoides*), estragol y anetol (*Croton zehntneri*), α y β -pinenos (*Ferula gummosa*), nonanal (*Artemisia ludoviciana*), linalol (*Lavandula angustifolia*).^{6,37}

La actividad espasmolítica de algunos flavonoides se ha indicado hace tiempo,^{6,35} en el sistema gastrointestinal, los flavonoides antiespasmódicos prolongan el tiempo de tránsito en el intestino delgado, inhiben la amplitud de la contracción fásica, disminuyen el tono del íleon y antagonizan las contracciones inducidas en preparaciones de órgano aislado intestinal por varios agentes, entre ellos prostaglandinas E₂, acetilcolina, BaCl₂ (cloruro de bario). Dentro de los trabajos revisados se encuentran los relativos al aislamiento de los flavonoides quercetina (*Psidium guajava*, *Matricaria chamomilla*), quercitrina (*Euphorbia hirta*), sakuranetina (*Dodonaea viscosa*), rutina (*Coryza filaginoides*), bisabolol (*Matricaria chamomilla*), con actividad antiespasmódica.⁶ Como también se evaluó la actividad antiespasmódica de la apigenina y la naringenina, flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* Epl., en íleon aislado de rata, demostrando que estos flavonoides redujeron la altura y el número de las contracciones inducidos por la acetilcolina 5×10^{-5} M, concluyendo en que la concentración de 1%, tiene una respuesta farmacológica cercana al patrón (atropina).¹¹

Ghayur *et al.*, exploraron las bases biológicas para el uso medicinal del flavonoide catequina, investigando si exhibe alguna actividad farmacológica sobre preparaciones de musculatura lisa. Hallaron que la catequina relaja de manera dosis dependiente el yeyuno de conejo, produciendo cambios calcio-dependiente sobre la contracción muscular, bloqueando los canales de calcio y la actividad sobre los receptores colinérgicos similares a la atropina. Concluyeron que la catequina, podría tener una actividad calcio antagonista.³⁸

Ochoa *et al.*, determinaron el efecto antidiarreico y antiespasmódico del extracto de *Punica Granatum* L. "granada" en ratones, demostrando que el efecto global de inhibición del peristaltismo que ejerce la granada se debe a diversos compuestos activos que contiene, principalmente taninos. La elevada concentración de gallotaninos y ellagitaninos como la punicalina y punicalagina (mayor a 28%) explica su acción antiespasmódica directa.³⁹

Los alcaloides, como ya se conoce tienen muy importantes antecedentes en el rubro de antiespasmódicos naturales; por ejemplo, atropina, escopolamina, papaverina.⁶

Respecto a la acetilcolina, la presencia de un nitrógeno cuaternario o terciario permite a ésta fijarse al grupo aniónico de su receptor, además la fijación al grupo esterofílico se realiza por uniones dipolo del enlace éster. La atropina en su estructura química presenta nitrógeno y un puente éster, por ello se comporta como antagonista competitivo de la acetilcolina y otros estimulantes muscarínicos.²⁹

El antagonismo como es de tipo competitivo, puede verse superado por un incremento en la concentración de acetilcolina en los sitios receptores²⁸

En el presente trabajo de investigación, la ACh (acetilcolina) en el baño de órganos va a interactuar sólo con receptores muscarínicos, concretamente M3 del músculo liso del íleon aislado de rata. Tras su estimulación se desencadenan una serie de procesos que conducen a un incremento de calcio intracelular, provocando la contracción del músculo liso. Este receptor M3 está asociado a una proteína G cuya activación estimula la actividad de la fosfolipasa C (PLC). El íleon presenta una contracción bifásica, con un componente fásico (un pico de contracción) seguido de otro tónico (una meseta mantenida). El pico de contracción se asocia con la liberación de calcio de los depósitos intracelulares y la contracción tónica con la entrada de calcio a través de canales.²⁸ Ahora bien,

de este mecanismo mencionado, se puede explicar el posible mecanismo de acción del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa"; el cual sería por un antagonismo competitivo por los receptores muscarínicos M3, que se traduciría en una relajación, con disminución del tono y del peristaltismo del músculo liso del íleon de la rata, inhibiendo el influjo de calcio. Pero este bloqueo sólo sería temporal, ya que aumentando la dosis de acetilcolina, se perdería el efecto antagonista del extracto hidroalcohólico.

Ahora bien Berardi, plantea otro mecanismo de acción por el cual se ejerce la actividad antiespasmódica, como por ejemplo un antagonismo no competitivo con la acetilcolina con los extractos acuosos y las tinturas de las especies de "burrito" *Aloysia polystachya* y de "palo amarillo" *Aloysia gratissima* que al parecer no bloquean el receptor muscarínico en el que actúa la acetilcolina, sino que interfieren en otro sitio correspondiente a la cascada intracelular que se desencadena por activación de dicho receptor, inhibiendo no competitivamente el influjo de calcio.⁴⁰

Finalmente podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", tiene actividad antiespasmódica, siendo la concentración al 30% la que presenta un efecto próximo al de la atropina.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa", presenta actividad antiespasmódica dosis - dependiente.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa", son: alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, compuestos terpénicos, cumarinas, aminoácidos y catequinas.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" al 15%, 20% y 30% tiene una menor actividad antiespasmódica comparada con la atropina.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" al 30 % presenta mejor actividad antiespasmódica.

VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar y elucidar las estructuras de los metabolitos secundarios responsables de la actividad antiespasmódica que podrían ser flavonoides, alcaloides o terpenos, los cuales están presentes en las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa".
2. Realizar estudios de toxicidad de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa".
3. Elaborar formulaciones farmacéuticas (cápsulas, jarabes, tabletas) para emplearlos como antiespasmódicos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Capasso F, Gaginella T, Grandolini G, Izzo AA. *Phytotherapy*. Berlín: Springer; 2003.
2. Organización Mundial de la Salud. *Monografías sobre plantas medicinales seleccionadas*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1999.
3. Alba RC, Camacho R, Polanco M, Gómez S. Efecto relajante de las hojas de *Ocimum basilicum* y *Foeniculum vulgare* colombianas en íleon aislado de rata. *Univ. Med. Bogotá [Revista on-line]* 2009 [Consultado agosto de 2013]; 50 (1). Disponible en: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v50n1/pdf/Efecto%20relajante.pdf>
4. Aguilar A, Camacho JR, Chino S, Jáquez P, López ME. *Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social, información etnobotánica*. México: Instituto Mexicano del Seguro Social; 1994.
5. García M, Martínez T, Morón R. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. *Revista Cubana de Plantas Medicinales. [Revista on-line]* 2001 [Consultado julio de 2013]; 6(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962001000100005&script=sci_arttext
6. Astudillo VA, Mata R, Navarrete A. El reino vegetal, fuentes de agentes antiespasmódicos gastrointestinales y antidiarreicos. *Rev. Latinoamer. Quim. [Revista on-line]* 2009 [Consultado junio de 2013]; 37(1). Disponible en: <http://www.relaquim.com/archive/2009/p2009371-7.pdf>
7. De la Cruz J, Aucasime L, Ramírez A. *Plantas medicinales alto-andinas de las zonas de Ayacucho – Huancavelica*. Ayacucho: UNSCH; 2006.
8. Yuncacallo HL. Efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. “pampa salvia” en el íleon aislado de “cuy” [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2005.
9. Espinoza CP. Efecto antiespasmódico de los extractos de *Melissa officinalis* L. “toronjil” [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2004.
10. Diez MJ. Efecto antiespasmódico de la *Satureja brevicallix* Epl. “wayra muña” sobre íleon aislado de rata [Instituto de Investigación]. Ayacucho: Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH; 2002.
11. Gonzales AG. Actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicallix* Epl. “wayra muña” [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2011.
12. Vargas SR, Pérez GR y Figueroa TG. Efecto de la actividad antiespasmódica del extracto metanólico, del alga *Oedogonium capillare* (Linn) Kuetz sobre íleon de rata Wistar. *Rev. Salud Pública y Nutrición [Revista on-line]* 2011 [Consultado setiembre de 2013]; 12(2). Disponible en: <http://www.respyn.uanl.mx/xii/2/articulos/Actividadnuevaantiespasmódica>.
13. Mostacero J, y Mejía F. *Taxonomía de fanerógamas peruanas*. Trujillo: Libertad E.I.R.L.; 1993.
14. Sung, I, y Agapito T. *Fitomedicina (1100 Plantas Medicinales)*. Tomo I. Cornell University: Isabel; 2003.
15. Hoffmann A, Farga C, Lastra J, Veghazi E. *Plantas medicinales de uso común en Chile*. Santiago: Fundación Ediciones Claudio Gay; 1992.
16. Hirzel J, Rodríguez N, Del Valle P. Efecto de la nutrición mineral sobre la producción de *Otholobium glandulosum* (L.) Grimes “culén”. *Agric. Téc.*

- [Revista on-line] 2004 [Consultado agosto de 2013]; 64(3). Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072004000300008
17. Bondarenko AS, Aizenman BE, Bakina LA, Kozhina IS, Prikhod'ko VA, Mishenkova EL, *et al.* Antimicrobial and antiviral activity of essential oil from *Psoralea drupacea* and its activity [abstract]. *Rast. Resur.* 1974; 583.
 18. Madrid A, Espinoza L, González C, Mellado M, Villena J, Santander R, *et al.* Study of the chemical composition of the resinous exudate isolated from *Psoralea glandulosa* and evaluation of the antioxidant properties of the terpenoids. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* [Revista on-line] 2013 [Consultado octubre de 2013];12(4). Disponible en: http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?id_revista=168&id_ejemplar=9402
 19. Yang HJ, Youn H, Seong KM, Yun YJ, Kim W, Kim YH, *et al.* Psoralidin, a dual inhibitor of COX-2 and 5-LOX, regulates ionizing radiation (IR)-induced pulmonary inflammation [abstract]. *Biochem Pharmacol.* 2011. 82(5):524-34.
 20. Choi SY, Lee S, Choi WH, Lee Y, Jo YO, Ha TY. Isolation and anti-inflammatory activity of bakuchiol from *Ulmus davidiana* var. *japonica* [abstract]. *J Med Food.* 2010; 13(4):1019-23.
 21. Backhouse CN, Delporte CL, Negrete RE, Erazo S, Zuñiga A, Pinto A, *et al.* Active constituents isolated from *Psoralea glandulosa* L. with antiinflammatory and antipyretic activities [abstract]. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 78(1):27-31.
 22. Solgorré E. Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Otholobium pubescens* "culén" en la hiperglicemia experimental en *Rattus norvegicus* var. *Albinus* [Tesis de postgrado]. Lima: Universidad Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2005.
 23. Castro AL, Choquecillo FP, Félix LV, Milla H, Bell C, Castro N, *et al.* Investigación de metabolitos secundarios en plantas medicinales con efecto hipoglicemiante y determinación del cromo como factor de tolerancia a la glucosa. *Ciencia e Investigación* [Revista on-line] 2002 [Consultado julio de 2013]; 5 (1). Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v05_n1/investigaci%C3%B3n_metabolitos.htm
 24. Enciso M, Rudas E, Chávez J, Félix L. Estudio fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (poiret) Grimes "Culén" [Unidad de investigación]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2010.
 25. Lamb JF, Ingram CG, Joh IA, Pitman RM. *Fundamentos de Fisiología.* 2ª ed. Zaragoza: Acribia S.A.; 1987.
 26. Guyton AC. *Tratado de Fisiología Médica de Guyton.* 11ª ed. Madrid: Elsevier Science; 2006.
 27. Almagia A, Lizana P. *Anatomía del aparato digestivo,* Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Ciencias – Instituto de Biología. Chile; 2009. Disponible en: http://biblioceop.files.wordpress.com/2011/02/digestivo_morfo2009-externo.pdf
 28. Flores, J. *Farmacología humana.* 3ª ed. Barcelona: Masson S.A.; 1997.
 29. Flores SM, Segura TJ. Estructura y función de los receptores de acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. *Rev. Mex. Neuroci.* [Revista on-line] 2005 [Consultado 29 de julio de 2013]; 6(4). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmexneu/rmn-005/rmn054f.pdf>

30. Velasco MA, Fernández PL, Serrano MJ, Trelles FA. Velázquez Farmacología. 16ª ed. España: McGraw-Hill – Interamericana de España; 1993.
31. Paredes CA, Gallegos BF, Gálvez D. Unidad de Gastroenterología. Medicina Interna. Chile:Universidad de la Frontera; 2003.
32. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman GA. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 2003.
33. Miranda MM, y Cuellar CA. Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. Habana: Instituto de farmacia y alimentos; 2000.
34. Barástegui AC. Esquemas y prácticas de Farmacología. Barcelona: Espaxs; 1976.
35. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega; 2003.
36. Serrano L. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de ileon de cobayo [Tesis doctoral]. España: Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2005.
37. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica. Terpenos y esteroides. 2ªed. España: Acribia; 2001.
38. Ghayur MN, Khan H, Gilani AH. Antispasmodic, bronchodilator and vasodilator activities of catechin, a naturally occurring flavonoid. *Arch. Pharm. Res.*[Revista on-line] 2007 [Consultado agosto de 2013]; 30(8). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17879750>
39. Ochoa CL, Chapoñan MO, Granda CA, Quintana W, Chauillco XW, Puerta EB, et al. Efecto antidiarreico y antiespasmódico del extracto metanólico de *Punica granatum L.* (granada) en ratones. Lima: UNMSM. Facultad de Medicina - Departamento de Farmacología; 2008.
40. Berardi A. Etnofarmacología gastrointestinal de plantas medicinales argentinas del género *Aloysia*, familia Verbenaceae: mecanismos de acción y relación con los principios activos [Tesis de maestría]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2012.

ANEXO

Anexo 1



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

CERTIFICA

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Nahud Alfredo, QUILLA CÁRDENAS, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	FABALES
FAMILIA	:	PAPILIONACEAE
GENERO	:	<i>Otholobium pubescens</i> (Poir.)
ESPECIE	:	J.W. Grimes
N.V.	:	"culén", "wallwa".

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 23 de Mayo del 2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Dña. Carolina Pineda Medina
JEFE

Figura 5. Certificado de identificación botánica de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". Ayacucho, 2013.

Anexo 2

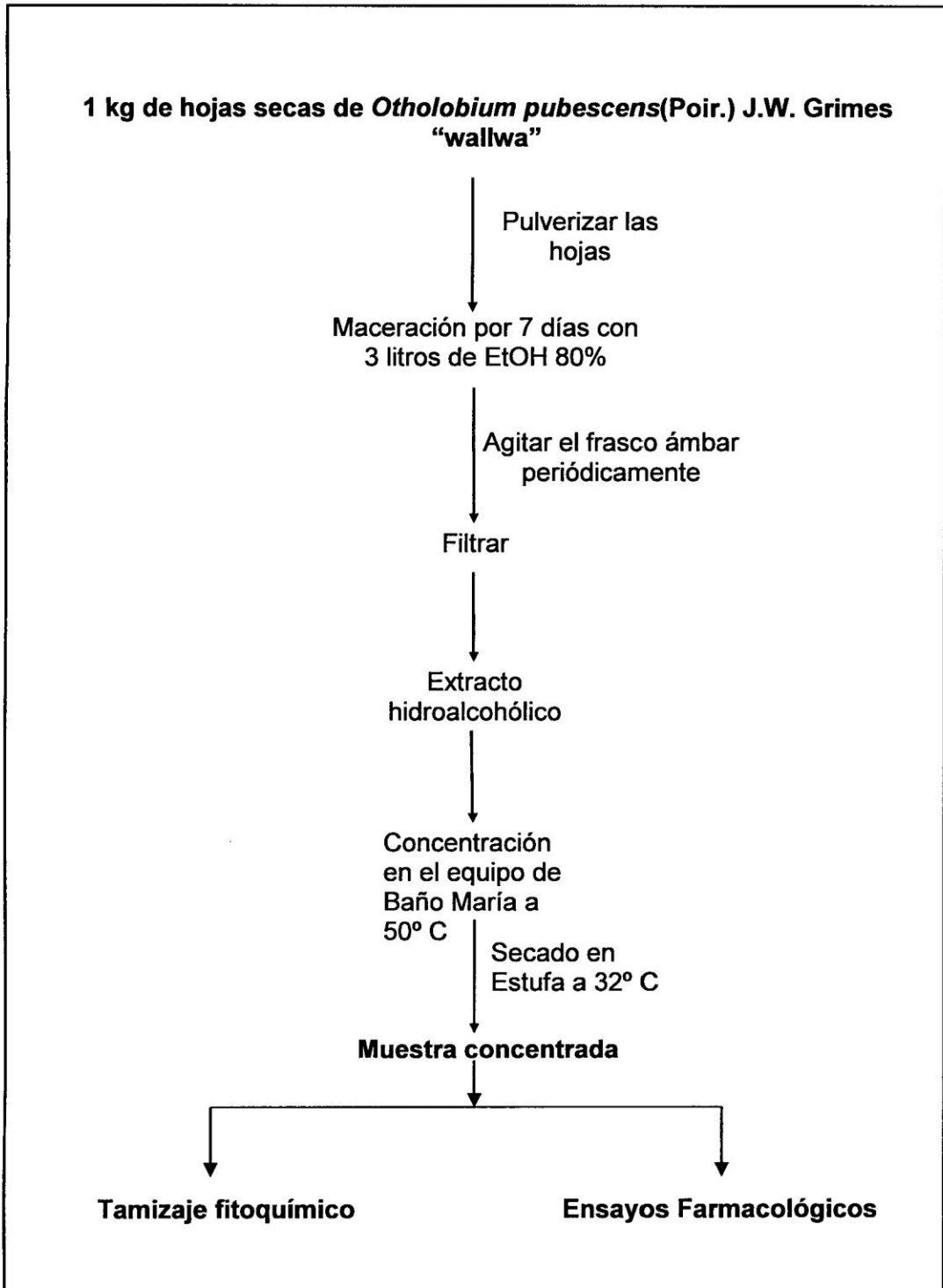


Figura 6. Flujograma de obtención del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes “wallwa”. Ayacucho, 2013.

Anexo 3

Tabla 3. Composición del medio nutritivo Tyrode.

Compuesto	Cantidad
NaCl	8,0 g
KCl	0,2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,2 g
NaHCO ₃	1,0 g
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	0,05 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,2 g
H ₂ O (d) c.s.p. para	1 000 ml

Fuente: Barástegui³⁶

Anexo 4



Figura 7. Pulverización de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". Laboratorio de Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, 2013.

Anexo 5



Figura 8. Concentración del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa" en el equipo de Baño María. Laboratorio de Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, 2013.

Anexo 6

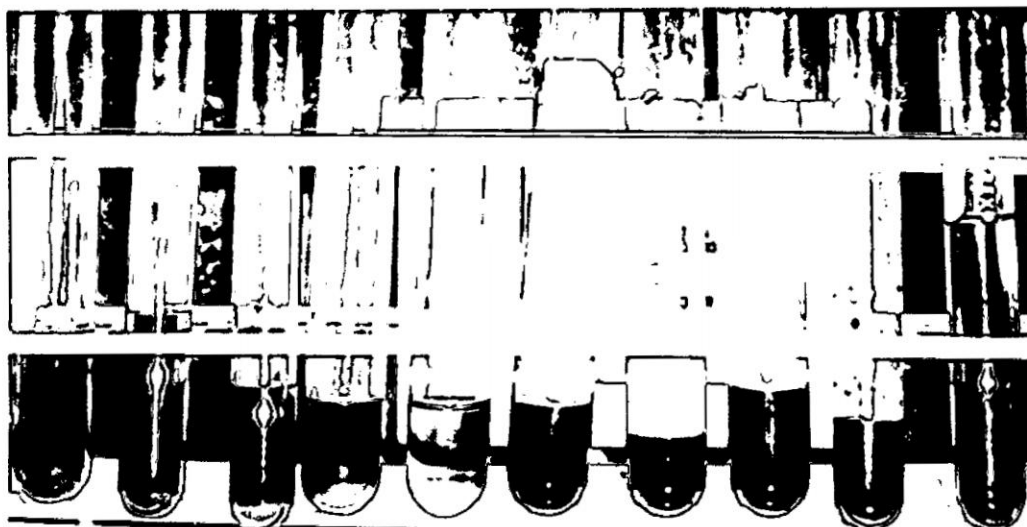


Figura 9. Tubos de ensayo del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". Laboratorio de Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, 2013.

Anexo 7

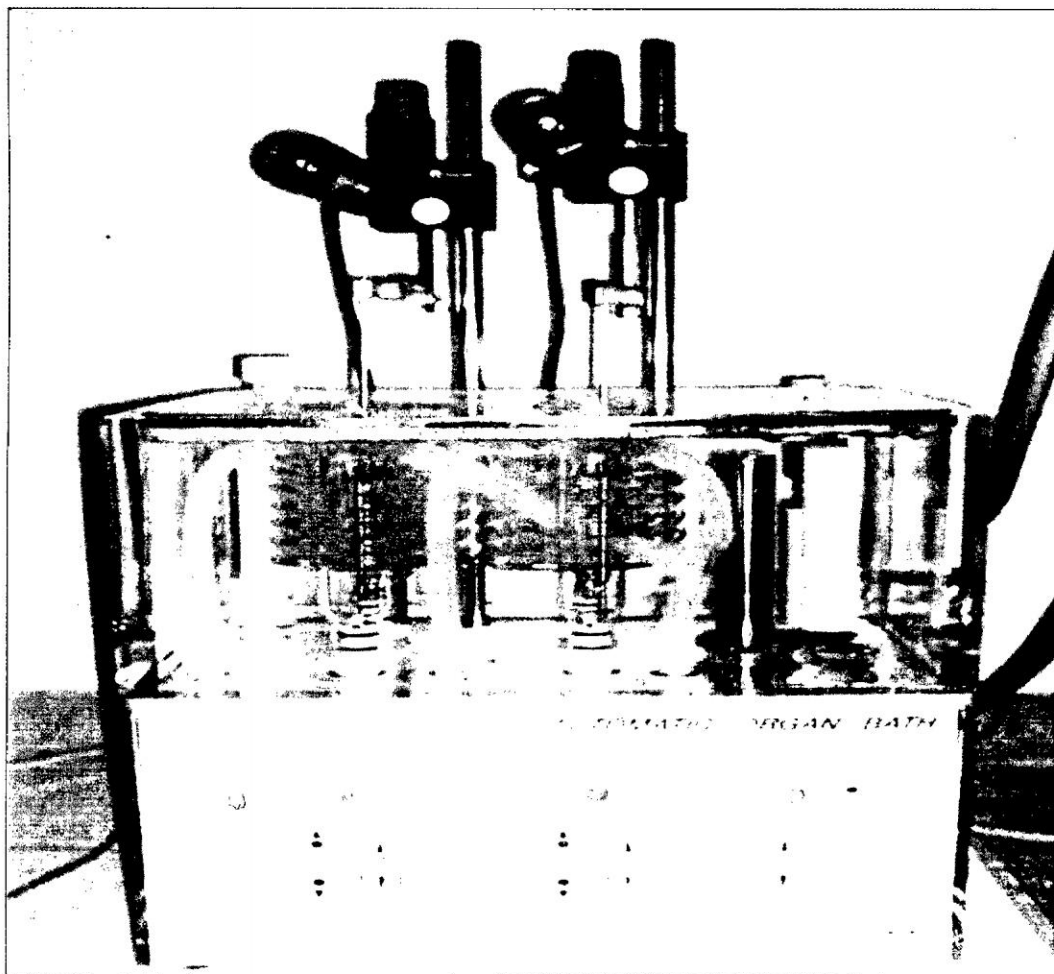


Figura 10. Quimógrafo automático Panlab Harvard. Laboratorio de Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, 2013.

Anexo 8



Figura 11. Acondicionamiento del íleon aislado de rata. Laboratorio de Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, 2013.

Anexo 9

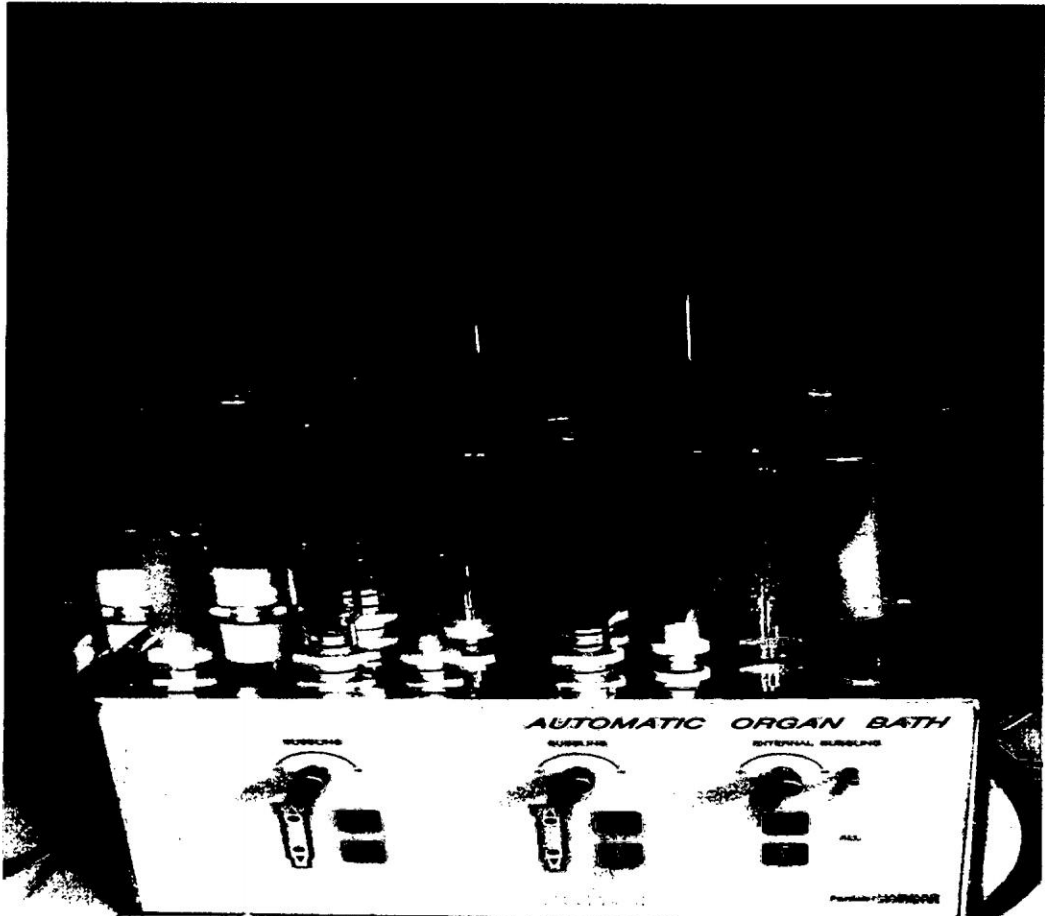


Figura 12. Baño automático de órganos aislados. Laboratorio de Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, 2013.

Anexo 10

Tabla 4. Análisis de varianza de la altura de las contracciones generadas tras la aplicación de atropina y las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". Ayacucho, 2013.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
ALTURA	Inter- grupos	6,438	4	1,609	309,500	,000
	Intra- grupos	,104	20	,005		
	Total	6,542	24			

Anexo 11

Tabla 5. Prueba de Dunnett de la altura de las contracciones generadas tras la aplicación de atropina y las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". Ayacucho, 2013.

T3 de Dunnett		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
(I) Tratamientos	(J) Tratamientos				Límite inferior	Límite superior
Atropina	Ext. H.A.				-	-
	15 %	-0,8	0,04582576	,000	0,93111018	0,66888982
	Ext. H.A.				-	-
	20 %	-0,54	0,04582576	,000	0,67111018	0,40888982
	Ext. H.A.				-	-
	30 %	-0,22	0,04582576	,001	0,35111018	0,08888982

Anexo 12

Tabla 6. Análisis de varianza del número de contracciones generados tras la aplicación de atropina y las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". Ayacucho, 2013.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
CONTRAC- CIONES	Inter- grupos	1528,000	4	382,000	477,500	,000
	Intra- grupos	16,000	20	,800		
	Total	1544,000	24			

Anexo 13

Tabla 7. Prueba de Dunnett del número de contracciones generados tras la aplicación de atropina y las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". Ayacucho, 2013.

T3 de Dunnett		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
(I) Tratamientos	(J) Tratamientos				Límite inferior	Límite superior
Atropina	Ext. H.A.				-	-
	15 %	-17,20	0,04582576	,000	0,93111018	0,66888982
	Ext. H.A.				-	-
	20 %	-7,80	0,04582576	,000	0,67111018	0,40888982
	Ext. H.A.				-	-
	30 %	-3,60	0,04582576	,001	0,35111018	0,08888982

Anexo 14

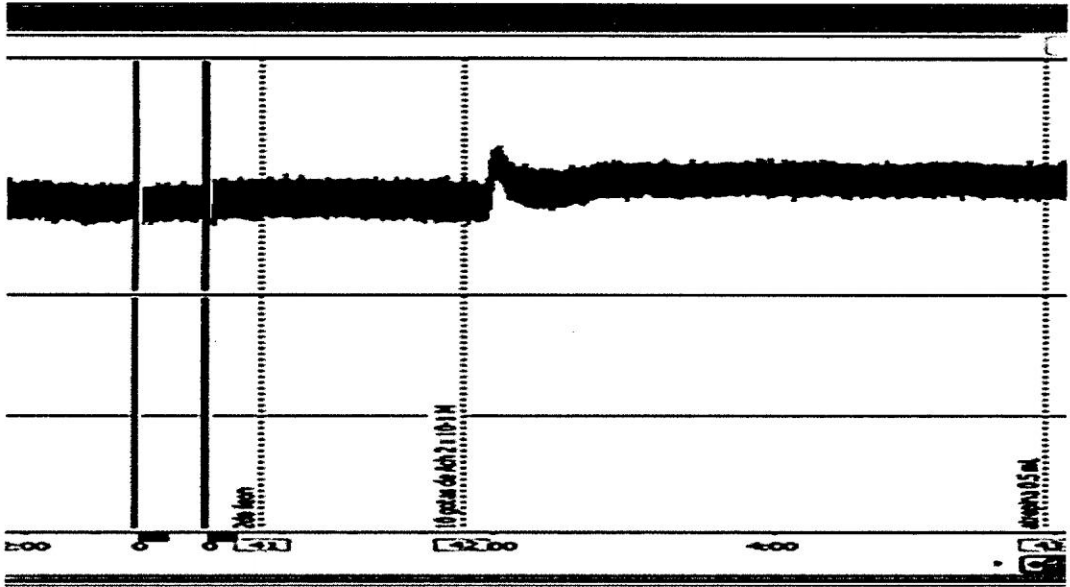


Figura 13. Respuesta gráfica del íleon tras la aplicación de acetilcolina, en íleon aislado de rata. Ayacucho, 2013.

Anexo 15

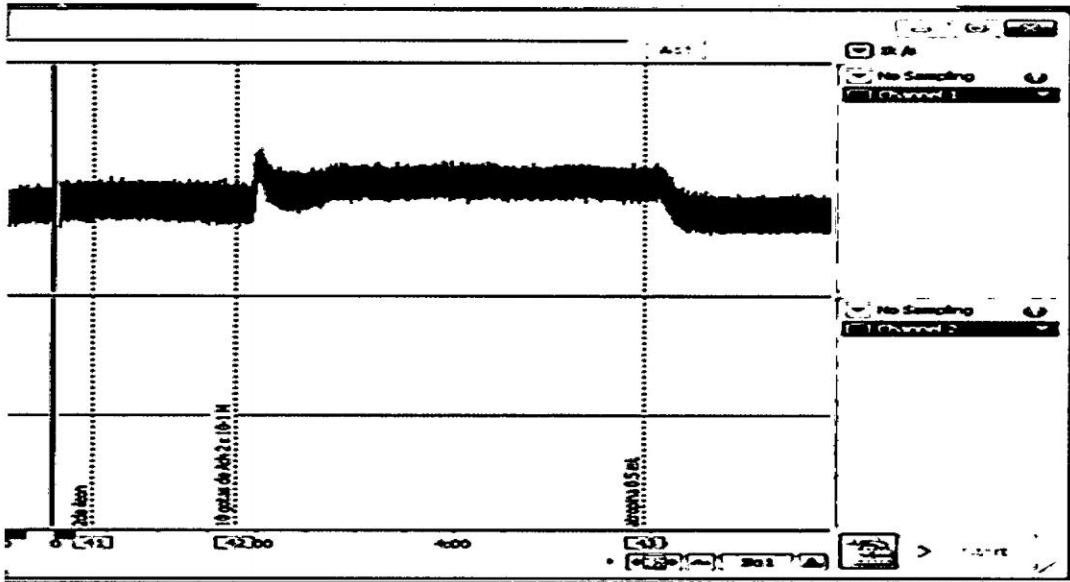


Figura 14. Respuesta gráfica del íleon tras la aplicación de acetilcolina más atropina, en íleon aislado de rata. Ayacucho, 2013.

Anexo 16

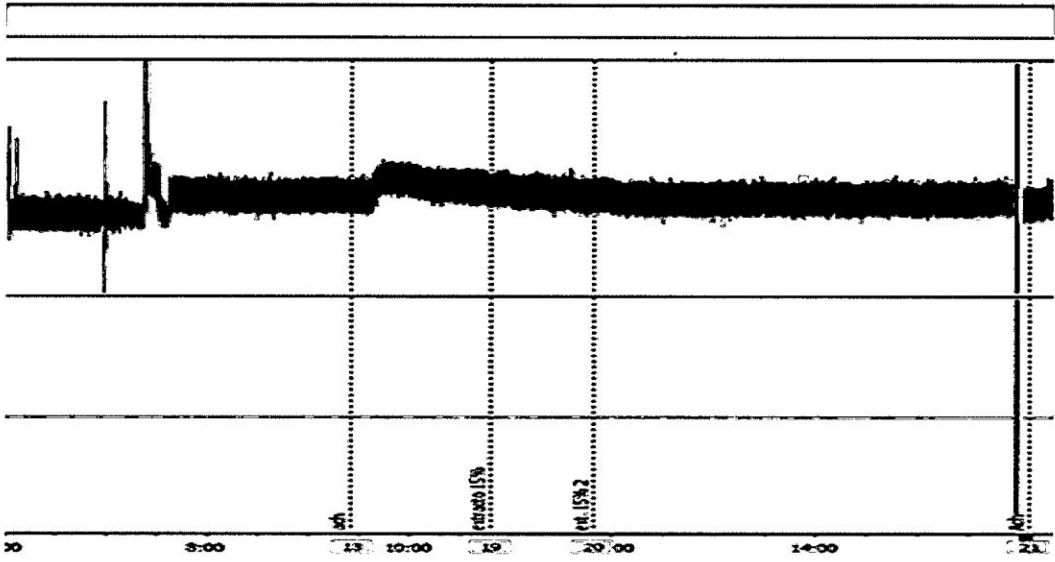


Figura 15. Respuesta gráfica del íleon tras la aplicación de acetilcolina más el extracto hidroalcohólico al 15%. Ayacucho, 2013.

Anexo 17

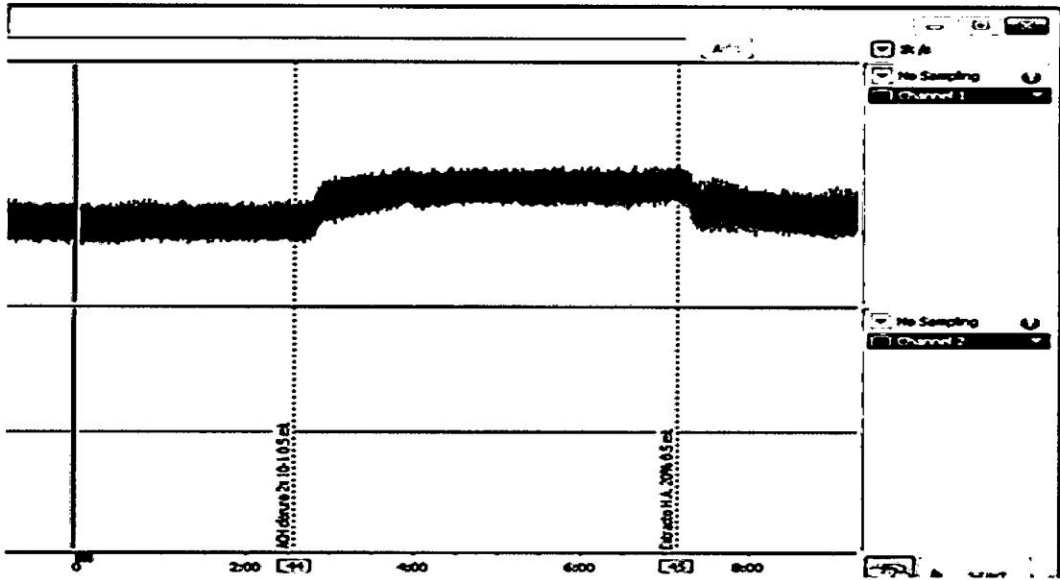


Figura 16. Respuesta gráfica del ileon tras la aplicación de acetilcolina más el extracto hidroalcohólico al 20%. Ayacucho, 2013.

Anexo 18

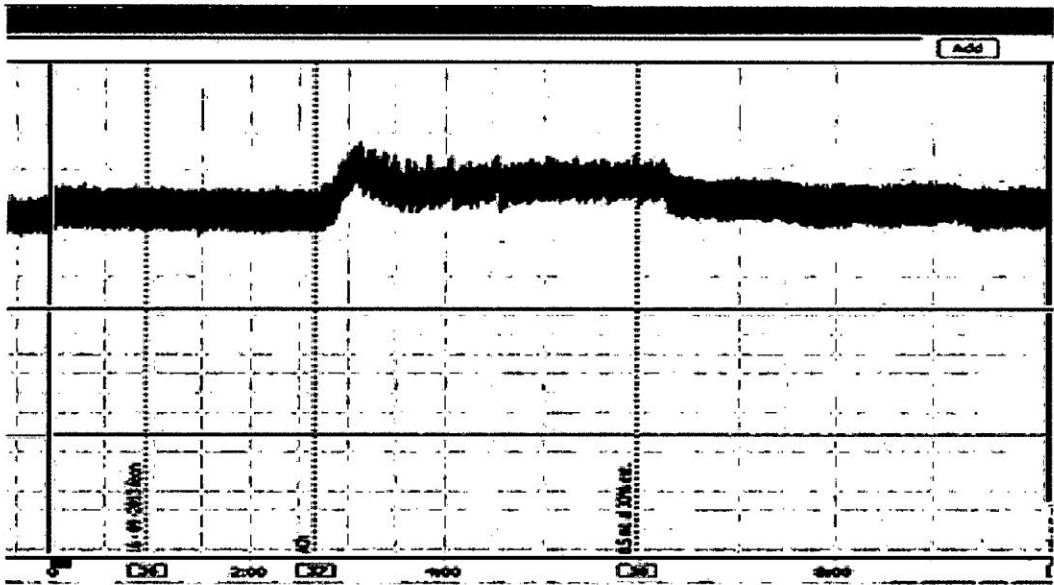


Figura 17. Respuesta gráfica del íleon tras la aplicación de acetilcolina más el extracto hidroalcohólico 30%. Ayacucho, 2013.

Tabla 6. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". Ayacucho – 2013.	¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes "wallwa" a diferentes concentraciones tendrán diferente actividad antiespasmódica comparado con el estándar atropina?	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes "wallwa". <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa". Comparar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i>(Poir.) J.W. Grimes "wallwa" con la atropina sobre íleon aislado de rata. Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Otholobium pubescens</i>"wallwa" con mejor actividad antiespasmódica. 	<p><i>Otholobium pubescens</i>"wallwa". Es una planta silvestre que tradicionalmente se usa como digestivo, antiespasmódico, antidiarreico, laxante, vermífugo e hipoglucemiante, para lo cual se utiliza la planta entera en forma de cocimiento o infusión (De la Cruz, 2006).</p> <p>El cólico intestinal se define como un dolor agudo en cualquier parte del intestino provocada por una contracción espasmódica (contracción involuntaria persistente de un músculo o grupo muscular) de la musculatura lisa de la pared intestinal. (Paredes et al., 2003).</p> <p>Los antiespasmódicos son un grupo de agentes, que disminuyen el tono y la motilidad intestinal, debido a lo cual se utilizan para aliviar el dolor tipo cólico del tracto gastrointestinal y otras vísceras con músculo liso (Hardman y Limbird, 2003).</p>	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes "wallwa" a diferentes concentraciones tienen diferente actividad antiespasmódica comparado con el estándar atropina.	<p>Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes "wallwa".</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> Concentraciones de 15%; 20% y 30%. <p>Variable dependiente: Actividad antiespasmódica</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> Altura de las contracciones. Número de contracciones. 	<p>Tipo de estudio: Básico – experimental.</p> <p>Población: Las plantas de la especie <i>Otholobium pubescens</i> "wallwa", que se encuentra en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho, ubicado a 3 276 m.s.n.m.</p> <p>Muestra: 1 kg de hojas secas.</p> <p>Animales de experimentación: Ratas Wistar con pesos comprendidos entre 200 – 250g, que serán adquiridos en el SNS – Lima.</p> <p>Método: La actividad antiespasmódica será determinada según el método propuesto por Magnus modificado, que consiste en la inducción de espasmos en fracciones de íleon aislado de rata.</p> <p>Análisis de datos: Se evaluará la existencia de diferencias estadísticamente significativas de los diferentes tratamientos usando el análisis de varianza con un nivel de confianza del 95% y las diferencias en los tratamientos comparados con la atropina mediante la prueba de Dunnet.</p>

Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes “wallwa”. Ayacucho – 2013

Nahúd Alfredo Quilla Cárdenas.¹ Dr. Edwin Carlos Enciso Roca.¹

¹Farmacia y Bioquímica: UNSCH

RESUMEN

Entre las opciones terapéuticas, la terapia herbal se convierte en una posibilidad frente al tratamiento de los cólicos gastrointestinales; es por ello que *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes “wallwa” es una especie utilizada tradicionalmente como antiespasmódico. El presente trabajo de investigación experimental se realizó con el objetivo de determinar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. “wallwa” en ileon aislado de rata, desarrollado en los laboratorios del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga entre los meses de junio a octubre del 2013. Las hojas fueron colectadas en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho. Se extrajo con alcohol al 80%, se evaporó a sequedad y se realizó los ensayos fitoquímicos, donde se evidenció la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, terpenos, cumarinas, aminoácidos y catequinas. La evaluación de la actividad antiespasmódica se realizó mediante el método de Magnus modificado en ileon aislado de rata, haciendo uso de un quimógrafo automatizado, Panlab Harvard; las contracciones fueron inducidas con acetilcolina $2 \times 10^{-1} M$, registrándose el aumento de la altura, y número de las contracciones. Se usó como control a la atropina y se evaluó el extracto hidroalcohólico a las concentraciones de 15%, 20% y 30%. La altura de las contracciones fueron de 2,14 mm con la atropina; 2,94 mm con el extracto al 15%; 2,68 mm al 20% y 2,36 mm con la concentración al 30% ($p < 0,05$). El número de las contracciones fueron de 1 con la atropina; 17,8 con el extracto al 15%; 8,4 al 20% y finalmente 4,2 con la concentración al 30% ($p < 0,05$). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. “wallwa” tiene actividad antiespasmódica, mostrando mejor efecto al 30%.

Palabras clave: *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes “wallwa”, actividad antiespasmódica.

SUMMARY

Therapeutic options, herbal therapy becomes a possibility against the treatment of gastrointestinal colic, that is why *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa" is a species traditionally used as an antispasmodic. This experimental research was conducted to determine the antispasmodic activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" in isolated rat ileum, developed in the laboratories of the Department of Pharmacy, School of Biological Sciences, National University of San Cristobal de Huamanga between June and October 2013. The leaves were collected in the district of Huamanguilla, Huanta province, Ayacucho department. Was extracted with 80% alcohol, was evaporated to dryness and phytochemicals tests where the presence of secondary metabolites such as alkaloids, phenolics, tannins, flavonoids, terpenes, coumarins, amino acids and catechins evidenced was performed. The evaluation of the antispasmodic activity was performed by the method of Magnus modified rat isolated ileum, using an automated Kymograph, Panlab Harvard contractions were induced with acetylcholine $2 \times 10^{-1} M$, recording the increase in height and number of contractions. Was used as control to atropine and hydroalcoholic concentrations of 15%, 20 % and 30 % extract was evaluated. The height of the contractions were atropine 2,14 mm; 2,94 mm with 15% extract; 2,68 mm to 2,36 mm and 20 % to 30% concentration ($p < 0,05$). The number of contractions were 1 with atropine and 17,8 to 15% extract; 8,4 to 20 % and finally with concentration 4,2 to 30% ($p < 0,05$). We conclude that the hydroalcoholic extract *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" has antispasmodic activity, showing better effect to 30%.

Key words: *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes “wallwa”, antispasmodic activity.

INTRODUCCIÓN

En los sistemas de salud de los países subdesarrollados o en desarrollo, las plantas representan una alternativa terapéutica de diversas afecciones del ser humano y animales. La Organización Mundial de la Salud, estimó que más del 80% de la población mundial usa la medicina tradicional para cubrir sus necesidades en la atención primaria, con el empleo de extractos de plantas o sus principios activos.^{1,2}

Una gran variedad de enfermedades se manifiestan con dolor abdominal tipo cólico, un síntoma claramente inespecífico, pero significativamente molesto, cuya prevalencia estimada para la población adulta es cercana al 30%.³

Las posibilidades terapéuticas incluyen una amplia gama de alternativas, entre las opciones terapéuticas para tratar el cólico gastrointestinal, tenemos a la medicina alternativa, y dentro de ella a la terapia herbal que se convierte en una posibilidad frente al tratamiento de las alteraciones gastrointestinales, siendo su uso muy común en la población general.³

Se recopiló información etnofarmacológica, detectando 473 plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional principalmente para tratar padecimientos gastrointestinales (diarrea, cólico intestinal y vómito).⁴ Existen diversos estudios con plantas medicinales para evaluar la actividad antiespasmódica, siendo los más usados los modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*.⁵ Dentro de los metabolitos secundarios con actividad antiespasmódica principalmente los mayores porcentajes corresponden a flavonoides (33%), terpenos (25,3%) y alcaloides (22%).⁶

El empleo tradicional de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa" es en el tratamiento de cólicos gastrointestinales como digestivo, carminativo, antiespasmódico, antidiarreico.⁷ Además de tener propiedad hipoglicémica.⁸

En el presente trabajo de investigación se ha evaluado la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico en ileon aislado de rata, haciendo uso de un baño automático de órganos y un quimógrafo automatizado. Este equipo tiene un transductor y amplificador con conexión a un computador que permitió registrar la actividad muscular del órgano aislado de manera más precisa.

Por estas consideraciones, los objetivos del presente trabajo de investigación fueron los siguientes:

Objetivo general

- Determinar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa".

Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa".
- Comparar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" con la atropina sobre ileon aislado de rata.
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa" con mejor actividad antiespasmódica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del lugar de estudio

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios del Área de Farmacia, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, durante los meses de junio a octubre del 2013.

Población

Hojas de la especie *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", del distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho, ubicado a 3 276 m.s.n.m.

Muestra

La muestra estuvo constituida por un kg de hojas secas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", recolectadas por conveniencia en buen estado, de las cuales se obtuvo el extracto hidroalcohólico.

Animales de experimentación: 15 ratas albinas machos de raza Wistar de peso entre 200 y 250 g, adquiridos en el Bioterio del Instituto Nacional de Salud, ubicado en el distrito de Chorrillos, ciudad de Lima.

Diseño metodológico: Básico-experimental.

Diseño metodológico para la recolección de datos

Recolección y preparación de la muestra

Un tallo, con hojas y flores de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", fue recolectado y secado con sumo cuidado para la identificación botánica por la Blga. Laura Aucasime del *Herbarium Huamangensis* de la

Facultad de Ciencias Biológicas. Se recolectó y seleccionó las hojas de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", éstas se secaron a temperatura ambiente en una habitación ventilada hasta la eliminación de la humedad cambiando el papel de soporte cada 24 horas y removiendo el vegetal para evitar su descomposición, por un período aproximado de dos semanas. Luego se pulverizó la muestra utilizando un mortero y se pesó aproximadamente 500 g para realizar la extracción hidroalcohólica con tres litros de etanol al 80%, en frascos de color ámbar por una semana, durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se filtró, obteniendo así la solución hidroalcohólica; seguidamente se procedió a concentrar el extracto en baño María a 50°C, y luego se realizó la evaporación a sequedad, en una estufa a 32°C.

Tamizaje fitoquímico

Para poder identificar los posibles metabolitos secundarios presentes en este extracto hidroalcohólico se realizó el tamizaje fitoquímico, siguiendo los procedimientos de Miranda y Cuellar.³⁵

Determinación de la actividad antiespasmódica

La actividad antiespasmódica se evaluó siguiendo el método de Magnus modificado citado por Barástegui,³⁶ que consiste en la inducción de espasmos en fracciones de íleon aislado, conservados en el medio nutricio Tyrode, con acetilcolina y evaluación del efecto antiespasmódico con la sustancia problema, utilizando como patrón de referencia a la atropina.

Procedimiento

- Se suspendió la alimentación de los animales con 24 horas de anticipación.
- Se sacrificó a las ratas y se extrajo el íleon que fue sumergido en la solución nutritiva Tyrode a 37°C; se lavó cuidadosamente, luego se cortó en segmentos de dos centímetros.
- Se acondicionó el íleon en el quimógrafo automatizado Panlab - Harvard para el estudio farmacológico.
- Se adicionó 0,5 ml de acetilcolina $2 \times 10^{-1}M$ como inductor de espasmos.
- Se evaluó el efecto antiespasmódico con 0,5 ml del extracto hidroalcohólico al 15, 20 y 30%, utilizando como patrón de referencia 0,5 ml de atropina 1mg/ml.

- Todos los cambios y movimientos fueron captados por un transductor y registrados en la computadora.

Diseño experimental

De acuerdo con la Tabla 1, se empleó el Diseño Completamente Randomizado (DCR) con cinco tratamientos; por el cual se extrajo dos íleon de cada animal de experimentación, y se dividieron en cinco grupos de cinco repeticiones cada uno. Tabla 1. Diseño experimental.

	Tratamientos				
	Acetilcolina $2 \times 10^{-1}M$ 0,5 ml	Atropina $1^{mg}/ml$ 0,5 ml	Extracto hidroalco- hólico 15% 0,5 ml	Extracto hidroalco- hólico 20% 0,5 ml	Extracto hidroalco- hólico 30% 0,5 ml
Grupo I	X				
Grupo II	X	X			
Grupo III	X		X		
Grupo IV	X			X	
Grupo V	X				X

Análisis de datos

Se determinó el promedio y la desviación estándar de la altura y el número de las contracciones alcanzadas por las concentraciones del extracto hidroalcohólico al 15%, 20%, 30%; y la atropina. Las diferencias entre los promedios de los tratamientos se evaluaron mediante el análisis de varianza (ANOVA), con un 95% ($\alpha=0,05$) de confianza, para aceptar o rechazar la hipótesis nula; que indica que no existen diferencias entre ellos. Así mismo, se realizó la prueba de comparación múltiple de Dunnett con un 95% ($\alpha=0,05$), que permitió hacer todas las posibles comparaciones de las medias de todos los tratamientos contra un control, que en este caso sería la atropina; para aceptar o rechazar la hipótesis nula; que indica que no existen diferencias entre los tratamientos comparados con el control.

RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios

Metabolitos Secundarios	Ensayo	Resultado	Observación
Alcaloides	Dragendorf	(+++)	Precipitado
	Mayer	(+++)	Precipitado
	Wagner	(+++)	Precipitado
Flavonoides	Shimoda	(+++)	Rojo
Compuestos fenólicos y/o taninos	Cloruro férrico	(++)	Azul oscuro
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman - burchard	(+++)	Verdeazulado
Cumarinas	Bajjet	(+++)	Precipitado
Aminoácidos	Ninhidrina	(+++)	Azul violáceo
Catequinas	Catequinas	(+++)	Verde camelita

Leyenda:

- +++ : Abundante
- ++ : Moderado
- + : Leve

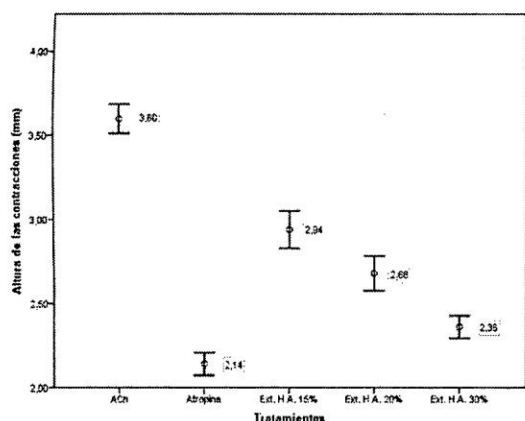


Figura 3. Altura de las contracciones del íleon aislado de rata por efecto de los tratamientos.

Leyenda:

ACh : acetilcolina
 Ext. H.A. 15% : extracto hidroalcohólico al 15%
 Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%
 Ext. H.A. 30% : extracto hidroalcohólico al 30%

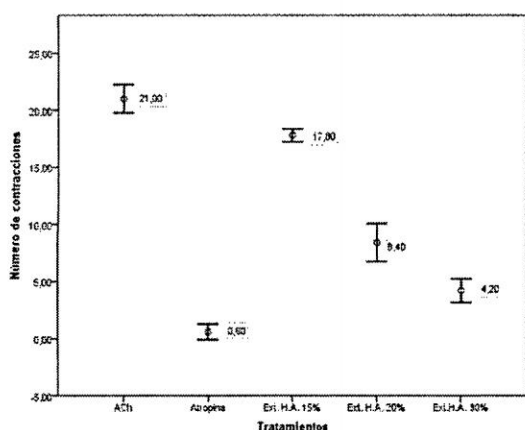


Figura 4. Número de las contracciones del íleon aislado de rata por efecto de los tratamientos.

Leyenda:

ACh : acetilcolina
 Ext. H.A. 15% : extracto hidroalcohólico al 15%
 Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%
 Ext. H.A. 30% : extracto hidroalcohólico al 30%

DISCUSIÓN

Otholobium pubescens (Poir.) J.W. Grimes “wallwa”, es una planta muy empleada en la medicina tradicional, por amplios sectores de nuestra población y de otros países como Chile, Bolivia y Argentina;¹⁹ los cuales le atribuyen diversas propiedades, entre las que se encuentra la antiespasmódica.⁷ Este hecho fue lo que motivó a estudiar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico.

Por lo que se procedió a realizar una extracción con etanol al 80% (Anexo 2), se utilizó como menstruo al alcohol porque arrastra la mayoría de los metabolitos secundarios presentes en la planta.³³

Según los resultados observados en el tamizaje fitoquímico en la Tabla 1 se pudo comprobar la

presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, triterpenos y/o esteroides, cumarinas, aminoácidos y catequinas.

Castro *et al.*, en el tamizaje fitoquímico realizado de las hojas de *Otholobium pubescens* “wallwa”, demostró la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas y glicósidos.²³

Solgorré, en experiencias previas no evidenció la presencia de alcaloides, pero si demostró la presencia de antraquinonas y azúcares reductores en las hojas y flores de dicha planta.⁸ En otro estudio sobre los metabolitos secundarios presentes en *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “wallwa”, se demostró la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos, azúcares reductores.²⁴

La variación en la composición química entre las especies recolectadas en diferentes zonas se debe al tipo de suelo, el clima, el ecosistema, el estado vegetativo en las que crecen las plantas medicinales.³⁵

Resaltando los ensayos fitoquímicos de Shinoda, Liebermann – Burchard, y de cloruro férrico; mediante las cuales se observaron la presencia de flavonoides, terpenos, taninos y alcaloides, respectivamente; ya que según diversas investigaciones la actividad antiespasmódica se le atribuye principalmente a estos metabolitos secundarios.^{6,36}

El ensayo farmacológico se realizó teniendo en cuenta que los segmentos aislados del intestino de cualquier especie animal menor mantiene la función de contracción y relajación durante un tiempo prolongado, a condición de mantenerlos inmersos en solución adecuada y a temperatura adecuada.³⁶ Por tales razones, las fracciones del órgano aislado se mantuvieron todo el tiempo inmersos en la solución nutritiva Tyrode a 37°C, con oxigenación constante en todo momento desde que fueron aislados.

Los resultados se observan gracias a que la contracción y relajación del órgano aislado modifica la tensión mecánica que ejerce, la que es convertida en señal eléctrica mediante un transductor de tensión, esta señal es amplificada y registrada para cuantificar los cambios en la tensión.³⁴

En la Figura 3, se observa que las alturas alcanzadas por las contracciones con atropina alcanzan un promedio de altura de 2,14 mm, y las concentraciones al 15%, 20% y 30%, muestran alturas de 2,94; 2,68 y 2,36 mm respectivamente, a comparación de la tratada sólo con acetilcolina, que alcanzó una altura de 3,6 mm.

Ahora, respecto al número de contracciones (Figura 4), con la atropina presenta el menor

número de contracciones con 1,0 en promedio seguido del extracto hidroalcohólico al 30% con 4,2 y de las concentraciones de 20% y 15% con 8,4 y 17,8 respectivamente.

El análisis de varianza de la altura, y número de las contracciones del íleon aislado de rata (Anexos 10 y 12) presentan un nivel de significancia menor a 0,05; lo que significa que existen diferencias significativas en los diferentes tratamientos, mostrando que las tres concentraciones tienen actividad antiespasmódica.

Al realizar las comparaciones múltiples con la prueba de Dunnett para la altura, y número de las contracciones del íleon aislado de rata (Anexos 11 y 13), se encontró que las tres concentraciones del extracto hidroalcohólico tienen respuestas estadísticamente diferentes entre sí, y que también tienen diferentes respuestas estadísticas comparadas con el control atropina; mostrando que la concentración al 30% posee una mejor actividad antiespasmódica que las concentraciones al 20% y 15%.

Se puede establecer entonces una relación dosis – respuesta, puesto que a mayor dosis se obtuvo una mayor disminución de la altura, y número de las contracciones en el íleon aislado de rata.

En el presente trabajo la atropina presentó la mejor actividad antiespasmódica, antagonizando por completo a la acetilcolina, como se observa en las Figuras 3 y 4; al igual que en el estudio realizado por Yuncacallo, con *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl., donde la atropina inhibe por completo la respuesta contráctil de la acetilcolina y el extracto hidroalcohólico lo hace en un 85%, mientras que el extracto acuoso no presentó efecto, responsabilizando de esta actividad antiespasmódica a los terpenos.⁸

Las plantas medicinales con aceites esenciales, son muy usadas para el tratamiento de los cólicos, porque en su composición química presentan generalmente terpenos.³⁷ Entre los componentes antiespasmódicos de aceites esenciales, tenemos 1,8 cineol y eugenol (*Ocimum gratissimum*), timol (*Thymus membranaceus*, *Acalypha phleoides*), estragol y anetol (*Croton zehntneri*), α y β -pínenos (*Ferula gummosa*), nonanal (*Artemisia ludoviciana*), linalol (*Lavandula angustifolia*).^{6,37}

La actividad espasmolítica de algunos flavonoides se ha indicado hace tiempo;^{6,35} en el sistema gastrointestinal, los flavonoides antiespasmódicos prolongan el tiempo de tránsito en el intestino delgado, inhiben la amplitud de la contracción fásica, disminuyen el tono del íleon y antagonizan las contracciones inducidas en preparaciones de órgano aislado

intestinal por varios agentes, entre ellos prostaglandinas E₂, acetilcolina, BaCl₂ (cloruro de bario). Dentro de los trabajos revisados se encuentran los relativos al aislamiento de los flavonoides quercetina (*Psidium guajava*, *Matricaria chamomilla*), quercitrina (*Euphorbia hirta*), sakuranetina (*Dodonaea viscosa*), rutina (*Conyza filaginoides*), bisabolol (*Matricaria chamomilla*), con actividad antiespasmódica.⁶ Como también se evaluó la actividad antiespasmódica de la apigenina y la naringenina, flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicallix* Epl., en íleon aislado de rata, demostrando que estos flavonoides redujeron la altura y el número de las contracciones inducidos por la acetilcolina 5×10^{-5} M, concluyendo en que la concentración de 1%, tiene una respuesta farmacológica cercana al patrón (atropina).¹¹

Ghayur *et al.*, exploraron las bases biológicas para el uso medicinal del flavonoide catequina, investigando si exhibe alguna actividad farmacológica sobre preparaciones de musculatura lisa. Hallaron que la catequina relaja de manera dosis dependiente el yeyuno de conejo, produciendo cambios calcio-dependiente sobre la contracción muscular, bloqueando los canales de calcio y la actividad sobre los receptores colinérgicos similares a la atropina. Concluyeron que la catequina, podría tener una actividad calcio antagonista.³⁸

Ochoa *et al.*, determinaron el efecto antidiarreico y antiespasmódico del extracto de *Punica Granatum* L. “granada” en ratones, demostrando que el efecto global de inhibición del peristaltismo que ejerce la granada se debe a diversos compuestos activos que contiene, principalmente taninos. La elevada concentración de galotaninos y ellagitaninos como la punicalina y punicalagina (mayor a 28%) explica su acción antiespasmódica directa.³⁹

Los alcaloides, como ya se conoce tienen muy importantes antecedentes en el rubro de antiespasmódicos naturales; por ejemplo, atropina, escopolamina, papaverina.⁶

Respecto a la acetilcolina, la presencia de un nitrógeno cuaternario o terciario permite a ésta fijarse al grupo aniónico de su receptor, además la fijación al grupo esterofílico se realiza por uniones dipolo del enlace éster. La atropina en su estructura química presenta nitrógeno y un puente éster, por ello se comporta como antagonista competitivo de la acetilcolina y otros estimulantes muscarínicos.²⁹

El antagonismo como es de tipo competitivo, puede verse superado por un incremento en la

concentración de acetilcolina en los sitios receptores²⁸

En el presente trabajo de investigación, la ACh (acetilcolina) en el baño de órganos va a interaccionar sólo con receptores muscarínicos, concretamente M3 del músculo liso del íleon aislado de rata. Tras su estimulación se desencadenan una serie de procesos que conducen a un incremento de calcio intracelular, provocando la contracción del músculo liso. Este receptor M3 está asociado a una proteína G cuya activación estimula la actividad de la fosfolipasa C (PLC). El íleon presenta una contracción bifásica, con un componente fásico (un pico de contracción) seguido de otro tónico (una meseta mantenida). El pico de contracción se asocia con la liberación de calcio de los depósitos intracelulares y la contracción tónica con la entrada de calcio a través de canales.²⁸ Ahora bien, de este mecanismo mencionado, se puede explicar el posible mecanismo de acción del extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. "wallwa"; el cual sería por un antagonismo competitivo por los receptores muscarínicos M3, que se traduciría en una relajación, con disminución del tono y del peristaltismo del músculo liso del íleon de la rata, inhibiendo el flujo de calcio. Pero este bloqueo sólo sería temporal, ya que aumentando la dosis de acetilcolina, se perdería el efecto antagonista del extracto hidroalcohólico.

Ahora bien Berardi, plantea otro mecanismo de acción por el cual se ejerce la actividad antiespasmódica, como por ejemplo un antagonismo no competitivo con la acetilcolina con los extractos acuosos y las tinturas de las especies de "burrito" *Aloysia polystachya* y de "palo amarillo" *Aloysia gratissima* que al parecer no bloquean el receptor muscarínico en el que actúa la acetilcolina, sino que interfieren en otro sitio correspondiente a la cascada intracelular que se desencadena por activación de dicho receptor, inhibiendo no competitivamente el flujo de calcio.⁴⁰

Finalmente podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico de *Otholobium pubescens* (Poir.) J.W. Grimes "wallwa", tiene actividad antiespasmódica, siendo la concentración al 30% la que presenta un efecto próximo al de la atropina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Capasso F, Gaginella T, Grandolini G, Izzo AA. Phytotherapy. Berlín: Springer; 2003.
2. Organización Mundial de la Salud. Monografías sobre plantas medicinales

seleccionadas. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1999.

3. Alba RC, Camacho R, Polanco M, Gómez S. Efecto relajante de las hojas de *Ocimum basilicum* y *Foeniculum vulgare* colombianas en íleon aislado de rata. Univ. Med. Bogotá [Revista on-line] 2009 [Consultado agosto de 2013]; 50 (1). Disponible en: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v50n1/pdf/Efecto%20relajante.pdf>
4. Aguilar A, Camacho JR, Chino S, Jácquez P, López ME. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social, información etnobotánica. México: Instituto Mexicano del Seguro Social; 1994.
5. García M, Martínez T, Morón R. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. Revista Cubana de Plantas Medicinales. [Revista on-line] 2001 [Consultado julio de 2013]; 6(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962001000100005&script=sci_arttext
6. Astudillo VA, Mata R, Navarrete A. Elreino vegetal, fuentes de agentes antiespasmódicos gastrointestinales y antidiarreicos. Rev. Latinoamer. Quim. [Revista on-line] 2009 [Consultado junio de 2013]; 37(1). Disponible en: <http://www.relaquim.com/archive/2009/p2009371-7.pdf>
7. De la Cruz J, Aucasime L, Ramírez A. Plantas medicinales alto-andinas de las zonas de Ayacucho – Huancavelica. Ayacucho: UNSCH; 2006.
8. Yuncacallo HL. Efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pampa salvia" en el íleon aislado de "cuy" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2005.
9. Espinoza CP. Efecto antiespasmódico de los extractos de *Melissa officinalis* L. "toronjil" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2004.
10. Díez MJ. Efecto antiespasmódico de la *Satureja brevicallix* Epl. "wayra muña" sobre íleon aislado de rata [Instituto de Investigación]. Ayacucho: Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH; 2002.
11. Gonzales AG. Actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicallix* Epl. "wayra muña" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2011.
12. Vargas SR, Pérez GR y Figueroa TG. Efecto de la actividad antiespasmódica del extracto metanólico, del alga *Oedogonium capillare* (Linn) Kuetz sobre íleon de rata *Wistar*. Rev. Salud Pública y Nutrición [Revista on-line] 2011 [Consultado setiembre de 2013]; 12(2). Disponible en:

<http://www.respyn.uanl.mx/xii/2/articulos/Actividadnuevaantiespasmodica>.

13. Mostacero J, y Mejía F. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Trujillo: Libertad E.I.R.L.; 1993.

14. Sung, I, y Agapito T. Fitomedicina (1100 Plantas Medicinales). Tomo I. Cornell University: Isabel; 2003.

15. Hoffmann A, Farga C, Lastra J, Veghazi E. Plantas medicinales de uso común en Chile. Santiago: Fundación Ediciones Claudio Gay; 1992.

16. Hirzel J, Rodríguez N, Del Valle P. Efecto de la nutrición mineral sobre la producción de *Otholobium glandulosum* (L.) Grimes "culén". Agric. Téc. [Revista on-line] 2004 [Consultado agosto de 2013]; 64(3). Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072004000300008

17. Bondarenko AS, Aizenman BE, Bakina LA, Kozhina IS, Prikhod'ko VA, Mishenkova EL, et al. Antimicrobial and antiviral activity of essential oil from *Psoralea drupacea* and its activity [abstract]. Rast. Resur. 1974; 583.

18. Madrid A, Espinoza L, González C, Mellado M, Villena J, Santander R, et al. Study of the chemical composition of the resinous exudate isolated from *Psoralea glandulosa* and evaluation of the antioxidant properties of the terpenoids. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat [Revista on-line] 2013 [Consultado octubre de 2013]; 12(4). Disponible en: http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?id_revista=168&id_ejemplar=9402

19. Yang HJ, Youn H, Seong KM, Yun YJ, Kim W, Kim YH, et al. Psoralidin, a dual inhibitor of COX-2 and 5-LOX, regulates ionizing radiation (IR)-induced pulmonary inflammation [abstract]. Biochem Pharmacol. 2011. 82(5):524-34.

20. Choi SY, Lee S, Choi WH, Lee Y, Jo YO, Ha TY. Isolation and anti-inflammatory activity of bakuchiol from *Ulmus davidiana* var. *japonica* [abstract]. J Med Food. 2010; 13(4):1019-23.

21. Backhouse CN, Delporte CL, Negrete RE, Erazo S, Zuñiga A, Pinto A, et al. Active constituents isolated from *Psoralea glandulosa* L. with anti-inflammatory and antipyretic activities [abstract]. J. Ethnopharmacol. 2001; 78(1):27-31.

22. Solgorré E. Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Otholobium pubescens* "culén" en la hiperglicemia experimental en *Rattus norvegicus* var. *Albinus* [Tesis de postgrado]. Lima: Universidad Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2005.

23. Castro AL, Choquecillo FP, Félix LV, Milla H, Bell C, Castro N, et al. Investigación de metabolitos secundarios en plantas medicinales con efecto hipoglicemiante y determinación del cromo como factor de tolerancia a la glucosa. Ciencia e Investigación [Revista on-line] 2002 [Consultado julio de 2013]; 5 (1). Disponible en:

http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v05_n1/investigaci%C3%B3n_metabolitos.htm

24. Enciso M, Rudas E, Chávez J, Félix L. Estudio fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Otholobium pubescens* (poiret) Grimes "Culén" [Unidad de investigación]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2010.

25. Lamb JF, Ingram CG, Joh IA, Pitman RM. Fundamentos de Fisiología. 2ª ed. Zaragoza: Acribia S.A.; 1987.

26. Guyton AC. Tratado de Fisiología Médica de Guyton. 11ª ed. Madrid: Elsevier Science; 2006.

27. Almagia A, Lizana P. Anatomía del aparato digestivo, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Ciencias – Instituto de Biología. Chile; 2009. Disponible en: http://biblioceop.files.wordpress.com/2011/02/digestivo_morfo2009-externo.pdf

28. Flores, J. Farmacología humana. 3ª ed. Barcelona: Masson S.A.; 1997.

29. Flores SM, Segura TJ. Estructura y función de los receptores de acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. Rev. Mex. Neuroci. [Revista on-line] 2005 [Consultado 29 de julio de 2013]; 6(4). Disponible en:

<http://www.medigraphic.com/pdfs/revmexneu/rmn-005/rmn054f.pdf>

31. Velasco MA, Fernández PL, Serrano MJ, Trelles FA. Velázquez Farmacología. 16ª ed. España: McGraw-Hill – Interamericana de España; 1993.

32. Paredes CA, Gallegos BF, Gálvez D. Unidad de Gastroenterología. Medicina Interna. Chile: Universidad de la Frontera; 2003.

33. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman GA. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2003.

34. Miranda MM, y Cuellar CA. Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. Habana: Instituto de farmacia y alimentos; 2000.

35. Barástegui AC. Esquemas y prácticas de Farmacología. Barcelona: Espaxs; 1976.