

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



**Efecto antiespasmódico del extracto  
hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum  
parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino  
de ratas Wistar. Ayacucho 2013.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. PRADO PALOMINO, PABLO RINALDO

AYACUCHO - PERÚ

2013

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D.N, 248 - 2013 – FCB – D

Bachiller: Prado Palomino Pablo Rinaldo

En la ciudad de Ayacucho, a los dieciocho días del mes de diciembre del año dos mil trece, siendo las cinco y cuarenta y cinco minutos de la tarde, reunidos en la Sala de Sesiones del Consejo Universitario de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, bajo la Presidencia del Mg. César Magallanes Magallanes (Presidente encargado) con la asistencia de los Miembros del Jurado Calificador, Blga. Rosa Cortez Saavedra (secretaria docente y miembro) y el Dr. Edwin Enciso Roca. Reunidos para recepcionar la sustentación de la tesis titulada: Efecto antiespasmódico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas wistar, Ayacucho 2013, presentado por el bachiller en Farmacia y Bioquímica Sr. Pablo Rinaldo Prado Palomino, quien pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

El Presidente del Jurado Calificador Mg. César Magallanes Magallanes (e) inicio el acto de sustentación de tesis dando lectura a la Resolución Decanal N° 248 – 2013 – FCB – D de fecha seis de diciembre del 2013, que autoriza el presente acto y recomendando al sustentante sobre el procedimiento del acto y el tiempo de cuarenta y cinco minutos como máximo, autorizando el inicio del acto.

Culminando la exposición o exposición oral del informe de tesis, el Presidente del Jurado Calificador solicitó la participación de los miembros del Jurado Calificador, a fin de que puedan realizar sus preguntas, observaciones o aclaraciones para la evaluación correspondiente. Terminada la participación de los miembros del Jurado Calificador, el presidente invitó al Sr. sustentante y al público asistente a abandonar la sala de sesiones momentáneamente, a fin que los miembros del Jurado Calificador puedan realizar sus calificaciones correspondientes, obteniéndose los siguientes resultados:


JURADO CALIFICADOR:	EXP. RPTA. A PREGUNTAS PROM.		
Mg. CÉSAR MAGALLANES MAGALLANES	16	15	16
Dr. EDWIN ENCISO ROCA	16	16	16
Blga. ROSA CORTEZ SAAVEDRA	16	14	15

PROMEDIO FINAL: 16

De la evaluación de los miembros del Jurado Calificador, se obtuvo la calificación promedio de DIECISEIS (16), de lo cual dan fe, los miembros del Jurado Calificador, estampando su firma al pie de la presente acta, culminando la sustentación, siendo las siete y veinte minutos de la noche.

  
 Mg. CÉSAR MAGALLANES MAGALLANES  
 Presidente (e) - Miembro

  
 Dr. EDWIN ENCISO ROCA  
 Miembro

  
 Blga. ROSA CORTEZ SAAVEDRA  
 Miembro – Secretaria Docente

**DEDICATORIA**  
A mis padres.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, especialmente a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica por haber contribuido en mi formación profesional.

A mi asesor Dr. Q.F. Aldo Johnny Tinco Jayo por su apoyo constante.

A todas las personas que me apoyaron de manera desinteresada en el presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
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>Tanacetum partenium</i> (L.) Sch. Bip	4
2.2.1. Clasificación taxonómica	4
2.2.2. Descripción botánica	4
2.2.3. Usos medicinales	5
2.3. Metabolitos secundarios que muestran efecto antiespasmódico	5
2.3.1. Taninos	5
2.3.2. Flavonoides	5
2.4. Trastornos de la motilidad gastrointestinal	6
2.5. Antagonistas de los receptores muscarínicos	7
2.6. Atropina, mecanismo de acción y efectos sobre el tubo digestivo	7
2.7. Loperamida y su mecanismo de acción	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1. Ubicación	11
3.2. Población	11
3.3. Muestra	11
3.4. Unidad experimental	11
3.5. Métodos para la recolección de datos	12
3.5.1. Preparación del extracto hidroalcohólico	12
3.5.2. Preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico	12
3.5.3. Procedimiento para realizar el tamizaje fitoquímico	12
3.5.4. Determinación de la actividad antiespasmódica	12
3.5.5. Determinación de la toxicidad aguda (DL <sub>50</sub> )	14
3.6. Análisis de datos	14
IV. RESULTADOS	15
Resultado	16
Observación	16
V. DISCUSIÓN	20
VI. CONCLUSIONES	25
VII. RECOMENDACIONES	26
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	31

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría"	16

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides	6
Figura 2.	Estructura química de la atropina.	9
Figura 3.	Estructura química de la loperamida.	10
Figura 4.	Porcentaje del tránsito intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	17
Figura 5	Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	18
Figura 6	Variación de peso de los ratones en el ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	19



## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría"	32
Anexo 2 <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	33
Anexo 3 Hojas secas y molidas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	34
Anexo 4 Esquema de las pruebas fitoquímicas con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría".	35
Anexo 5 Medida del tránsito intestinal del carbón activado por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	36
Anexo 6 Análisis de varianza (ANOVA) del tránsito intestinal del carbón activado por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	37
Anexo 7. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey del porcentaje de tránsito intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	38
Anexo 8. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey del porcentaje de inhibición intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	39
Anexo 9. Análisis de varianza (ANOVA) de los pesos de los ratones albinos durante el ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.	40
Anexo 10. Matriz de consistencia	41

## RESUMEN

Los dolores intestinales son un padecimiento muy común en la población rural y urbana, principalmente en niños en edad escolar y su etiología de naturaleza múltiple. Con el objetivo de determinar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar, se desarrolló el presente trabajo de investigación en los laboratorios de Farmacognosia, Toxicología y Farmacología, del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de enero - junio del 2013. Las hojas fueron recolectadas en el distrito de Uripa, provincia de Chincheros, región Apurímac. El tipo de investigación fue experimental. Para evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico se empleó el modelo *in vivo* propuesto por Arbos, del tránsito intestinal en ratas utilizando carbón activado como indicador de la motilidad intestinal. Se reportó la presencia de catequinas, lactonas, triterpenoides - esteroides, saponinas, fenoles y taninos, quinonas, flavonoides y alcaloides. El porcentaje de tránsito intestinal obtenido con la loperamida y atropina fue de 21,9 y 17,8 %; mientras que con los extractos a 100, 200 y 400 mg/kg fue de 56,8; 42,6 y 24,5 %, respectivamente, lo que significa que el extracto tiene efecto antiespasmódico. El porcentaje de inhibición de la motilidad obtenido con la loperamida y atropina fue de 73,8 y 79,7 %; mientras que con los extractos a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg fue 33,3; 50,0 y 71,4 %, respectivamente. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" posee efecto antiespasmódico y no mostró signos ni síntomas de toxicidad a la dosis 2000 mg/kg.

**Palabras clave:** *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip., antiespasmódico.

## I. INTRODUCCIÓN

Aún en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina, pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir esta confianza en la naturaleza, sino para agrupar a las plantas de efectos similares, para conocer los principios activos responsables de aliviar o curar enfermedades, separarlos de las plantas que lo contienen, determinar sus estructuras químicas, procurar su síntesis, proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad y finalmente, dar a conocer a la humanidad los resultados de los estudios.<sup>1</sup>

Los antiespasmódicos son un grupo de agentes que incluyen algunos compuestos de origen natural como los alcaloides de la especie *Atropa belladonna* (atropina, belladonna, hiosciamina y escopolamina) o sus derivados sintéticos. 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. Aunque se conocen diversos mecanismos farmacológicos que explican la acción de los compuestos antiespasmódicos, el más común es la actividad antagonista competitiva de la acetilcolina que impide la despolarización de la célula muscular y su consiguiente contracción.

Estudios realizados con *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" le

atribuyen múltiples propiedades terapéuticas, sin embargo, aún no se han realizado estudios científicos que demuestren su potencial terapéutico como antiespasmódico, motivo por el que se estudió y se demostró dicho efecto utilizando el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría", en ratas Wistar, empleando como medicamentos de referencia atropina y loperamida, donde fueron comparadas las respuestas del tránsito intestinal por efecto del extracto a diferentes dosis.

### **Objetivo general**

Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar.

### **Objetivos específicos**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría".
- Evaluar la dosis con mejor efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar.
- Determinar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría"

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Long *et al*, estudiaron los flavonoides bioactivos de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip., cuyo fraccionamiento bioguiado mostró actividad bloqueadora mitótica y permitió el aislamiento e identificación de dos nuevos flavonoles.<sup>2</sup>

Se ha estudiado la actividad antileishmania *in vitro* del partenólido, una lactona sesquiterpénica aislada de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip., contra *Leishmania amazonensis* mostrando una actividad significativa contra promastigotes, con un 50 % de inhibición de crecimiento de las células a una concentración de 0,37 mg/ml. Estos resultados proporcionan nuevas perspectivas sobre el desarrollo de nuevos fármacos con actividad leishmanicida obtenida a partir de productos naturales.<sup>3</sup> Así mismo, estudios sobre la actividad antiinflamatoria del partenólido atenuado mostró ser un potente sensibilizante de la piel. *In vivo*, inhibió la dermatitis inducida por oxazolona y redujo el eritema en un modelo de vasodilatación inducida por nicotinato de metilo. Los resultados indicaron que el extracto de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. posee potente actividad antiinflamatoria.<sup>4</sup>

Un bioensayo guiado y el aislamiento de apigenina del extracto etanólico de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. mostró gran afinidad por el sitio GABA(A)-benzodiazepínico que podría ser responsable de los efectos sobre el SNC.<sup>5</sup>

El estudio del aceite esencial de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. mostró actividad antibacteriana sobre cuatro bacterias grampositivas y cuatro gramnegativas. Los compuestos químicos hallados fueron el alcanfor (18,94 %), acetato de bornilo (18,35 %), canfeno (13,74 %), isovalerato de bornilo (3,15 %), borneol (10,93 %), el enebro alcanfor (6,23 %) y eudesmol (2,65 %).<sup>6</sup>

Se han investigado también los compuestos derivados de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. y la acción del partenólido sobre la producción y atenuación de la actividad plaquetaria. Partenólido aumentó la producción de plaquetas y fue independiente de la respuesta al estrés oxidativo inducido por este.<sup>7</sup>

## **2.2. *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip.**

### **2.2.1. Clasificación taxonómica**

- DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA
- CLASE: MAGNOLIOPSIDA
- SUB CLASE: ASTERIDAE
- ORDEN: ASTERALES
- FAMILIA: ASTERACEAE
- GENERO: TANACETUM
- ESPECIE: *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip.
- N.V.: "santa maría"

### **2.2.2. Descripción botánica**

*Tanacetum parthenium* es una planta herbácea perenne, aromática, de hasta un metro de altura. Hojas ovaladas a oblongo-aovadas de 12 cm, las inferiores pinnadas y pinnatisectas, las superiores pinnatipartidas; segmentos dos a tres pares, dentados, obtusos. Muchas cabezuelas de hasta dos centímetros de diámetro; el disco amarillo; las flores radiadas blancas.<sup>8</sup> Por lo general

*Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. crece a lo largo de los caminos, campos, zonas de desechos.<sup>9</sup>

### **2.2.3. Usos medicinales**

*Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. es una planta medicinal utilizada tradicionalmente en el tratamiento de fiebres, dolores de cabeza por migraña, artritis reumatoide, dolores de estómago, dolores de muelas, picaduras de insectos, infertilidad, problemas con la menstruación y el trabajo durante el parto. También se ha utilizado contra la psoriasis, alergias, asma, zumbido de oídos, mareos, náuseas y vómitos.<sup>9</sup>

## **2.3. Metabolitos secundarios que muestran efecto antiespasmódico**

### **2.3.1. Taninos**

El término “tanino” fue introducido por Seguin en 1796 para designar a ciertas sustancias presentes en extractos vegetales capaces de combinarse con las proteínas de la piel, evitando su putrefacción y convirtiéndola en cuero.<sup>10</sup>

Los taninos están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa, gelatina). Esta capacidad para precipitarlas es la base de sus dos propiedades principales: su capacidad de curtir la piel y su poder astringente.<sup>11</sup>

Las aplicaciones de las drogas con taninos son limitadas y derivan de sus propiedades astringentes: por vía interna ejercen un efecto antidiarreico y antiséptico, por vía externa impermeabilizan las capas más externas de la piel y mucosas, protegiendo así las capas subyacentes; a esto hay que añadir un efecto vasoconstrictor sobre los pequeños vasos superficiales<sup>12</sup>

En uso interno son antidiarreicos, además de disminuir el peristaltismo.<sup>10</sup>

### **2.3.2. Flavonoides**

Desde el punto de vista químico, los flavonoides son fenoles de tipo diaril

propano (Ar-C3-Ar) unidos, la mayoría, a una cadena de azúcar; están constituidos por un anillo bencénico condensado a una  $\gamma$ -pirona (o sus derivados) sustituida en posición 2(3) por un radical fenilo.<sup>10</sup>

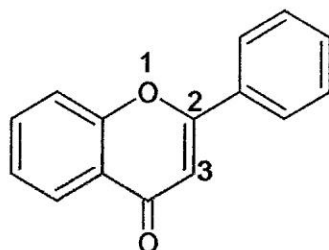


Figura 1. 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides.<sup>10</sup>

Las diferentes especies que contienen flavonoides poseen acciones farmacológicas muy variadas. Acción vitamina P (factor antiescorbútico), antihemorrágica, antiaritmica, protectoras de la pared capilar o vascular, antiinflamatorias, antirradicales libres, antihepatotóxicas, diuréticas y antiurémicas, antiespasmódicas, antibacterianas, antivíricas y antifúngicas.<sup>11</sup>

#### 2.4. Trastornos de la motilidad gastrointestinal

El movimiento del contenido a lo largo del tracto gastrointestinal está controlado por neuronas ubicadas en los plexos submucoso y mientérico del tubo digestivo. Las capas musculares circular y longitudinal del tubo digestivo están inervadas por los axones provenientes de los cuerpos celulares del plexo mientérico. Estas neuronas reciben impulsos de receptores locales ubicados en las capas mucosa y muscular del intestino y estimulación extrínseca del sistema nervioso simpático y parasimpático. Como regla general, el sistema nervioso parasimpático tiende a aumentar la motilidad del intestino y la estimulación simpática tiende a disminuir su actividad.<sup>13</sup>

El contenido de la luz avanza en el tracto gastrointestinal gracias a los movimientos peristálticos regulados por una compleja interacción de mecanismos de controles eléctricos neurales y hormonales.<sup>14</sup>



El sistema nervioso entérico que está incorporado a las paredes del tubo digestivo controla los movimientos básicos del tracto gastrointestinal y recibe estímulos del sistema nervioso autónomo. La irritación local y la composición del contenido gastrointestinal influyen en la motilidad a través de las neuronas aferentes del sistema nervioso entérico ubicadas en la submucosa. La distensión de la pared gastrointestinal, los irritantes químicos, los gradientes osmóticos y las toxinas bacterianas ejercen muchos de sus efectos sobre la motilidad gastrointestinal a través de estas vías aferentes. Las influencias autónomas generadas por factores como medicamentos, traumatismos y emociones interactúan con el sistema nervioso entérico y alteran la motilidad gastrointestinal.<sup>15</sup>

Los patrones patológicos de la motilidad incluyen espasmos e íleo, donde existe una disminución acentuada o ausencia de actividad contráctil.<sup>16</sup>

### **2.5. Antagonistas de los receptores muscarínicos**

Las drogas anticolinérgicas pueden ser divididas de acuerdo con el tipo de receptor que bloquean, en dos grandes grupos:

Bloqueadores muscarínicos que son anticolinérgicos posganglionares o verdaderos parasimpaticolíticos cuyo prototipo es la atropina; y los bloqueadores nicotínicos que a su vez pueden ser clasificados en dos grupos: anticolinérgicos ganglionares o gangliopléjicos y anticolinérgicos neuromusculares.<sup>17</sup>

### **2.6. Atropina, mecanismo de acción y efectos sobre el tubo digestivo**

Los antagonistas de los receptores muscarínicos impiden los efectos de la Acetilcolina al bloquear su fijación a los receptores colinérgicos muscarínicos al nivel de los sitios neuroefectores en músculo liso, músculo cardíaco y células glandulares, lo mismo que en ganglios periféricos y sistema nervioso central. En general, los antagonistas de los receptores muscarínicos producen poco bloqueo de los efectos de la acetilcolina en los sitios receptores nicotínicos. Sin embargo,

los análogos del amonio cuaternario de la atropina y los fármacos relacionados manifiestan, por lo general, un grado más alto de actividad bloqueadora nicotínica y, por tanto, es más probable que tiendan a interferir en la transmisión ganglionar o neuromuscular.<sup>18</sup>

El interés por las acciones de los antagonistas de los receptores muscarínicos en estómago e intestino culminó en su uso como antiespasmódico en el control de trastornos gastrointestinales y de la úlcera péptica. Aunque la atropina puede abolir por completo los efectos de la acetilcolina (y de otros fármacos parasimpaticolíticos) sobre la motilidad de las secreciones del tubo digestivo, inhibe sólo de manera incompleta los efectos de los impulsos vagales. Esta diferencia es particularmente notable con respecto a los efectos de la atropina sobre la motilidad del intestino.<sup>19</sup>

En el estómago inhiben el tono y el peristaltismo retrasando su vaciamiento; en los intestinos delgado y grueso reducen el tono y la amplitud y la frecuencia de las contracciones peristálticas. En las vías biliares, la inhibición del tono es escasa e inferior a la de otros relajantes directos de la fibra muscular lisa. Hay que considerar que la actividad motora intestinal no sólo depende de fibras pre y posganglionares colinérgicas, sino que intervienen también otros muchos mediadores químicos por lo que el bloqueo muscarínico sólo tiene un valor muy limitado.<sup>20</sup>

La atropina es un antagonista competitivo de la acetil colina; en el caso del músculo liso intestinal compiten por el sitio de unión en el receptor muscarínico M<sub>3</sub>, de ahí que una de sus acciones farmacológicas sea la antiespasmódica. Actúan como antidiarreicos porque el efecto antimuscarínico retarda el paso del contenido gastrointestinal favoreciendo la reabsorción de líquidos. Es un alcaloide de la belladona (*Atropa belladonna*), es un éster formado por el ácido trópico y la base orgánica tropina (tropanol). La acción antimuscarínica se debe

al éster intacto de la tropina y al grupo hidroxilo libre presente en la molécula, ni el ácido libre ni la base presentan acción antimuscarínica significativa.

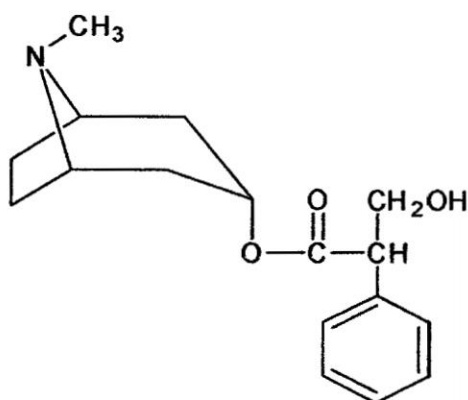


Figura 2. Estructura química de la atropina.<sup>18</sup>

## 2.7. Loperamida y su mecanismo de acción.

Es un derivado estructural de la petidina, Los agentes inhibidores de la motilidad intestinal de tipo opiáceo actúan sobre los receptores opioides  $\mu$  que existen en el plexo mientérico, y posiblemente también sobre los receptores 5H-T, provocando una hiperpolarización de las neuronas que inhibe la liberación de acetil colina. Su efecto global consiste en una disminución de la actividad y el tono segmentario intestinal.<sup>21</sup>

La loperamida es una piperidina opioide que se absorbe con lentitud y en forma incompleta por administración oral, por lo que un gran porcentaje del fármaco se excreta en las heces. Tanto el difenoxilato como la loperamida presentan acción principalmente sobre receptores de opioides  $\mu$  periféricos, sobre las neuronas entéricas aumentando las contracciones gastrointestinales pero interrumpiendo el movimiento peristáltico, lo que retarda el tránsito intestinal facilitando la absorción de líquidos. Actúan principalmente a nivel de sitios locales neurales y en músculo liso, principalmente en el plexo submucoso, incrementando las contracciones de segmento.

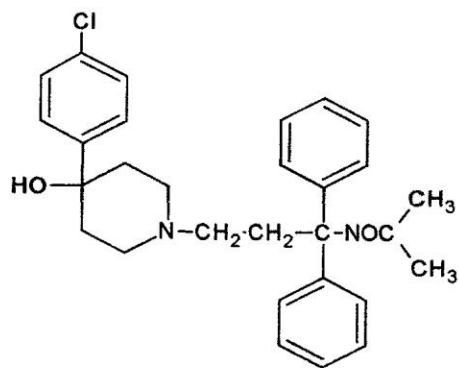


Figura 3. Estructura química de la loperamida.<sup>19</sup>

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación**

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacognosia, Toxicología y Farmacología, del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de enero a junio de 2013.

#### **3.2. Población**

Hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" que crecen en el distrito de Uripa, provincia de Chincheros, región Apurímac, a una altitud de 3150 m.s.n.m.

#### **3.3. Muestra**

3 kg de hojas frescas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" recolectadas en plena floración, en su estado silvestre.

#### **3.4. Unidad experimental**

Se utilizaron 30 ratas Wistar de 200 a 250 g machos, que fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud (INS) - Lima, y transportados al Bioterio del Área de Farmacia UNSCH. Estuvieron en adaptación por siete días, a temperatura ambiente, con dieta balanceada y agua *ad libitum*. Para la prueba toxicológica se utilizaron 10 ratones hembras de 18 a 20 g adquiridos en el Instituto Nacional de Salud (INS) – Lima y llevados al Bioterio del Área de Farmacia de la UNSCH

para su adaptación por siete días.

### **3.5. Métodos para la recolección de datos**

#### **3.5.1. Preparación del extracto hidroalcohólico**

Se pesaron 250 g de la muestra seca y molida. Para macerarlo se colocó en frascos de color ámbar al cual se le adicionó tres litros de alcohol de 80°. Se maceró por siete días agitándolo cada día para su distribución homogénea.

#### **3.5.2. Preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico**

Se filtró el extracto hidroalcohólico macerado, luego de lo cual se llevó al rotavapor para su concentración obteniéndose finalmente el extracto seco. El extracto seco se almacenó en la refrigerado hasta la preparación de una solución madre al 3 % utilizando como vehículo agua destilada, seguidamente se prepararon concentraciones de 100, 200 y 400 mg/kg

#### **3.5.3 Procedimiento para realizar el tamizaje fitoquímico**

Se realizó reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico.<sup>22</sup>

#### **3.5.4. Determinación de la actividad antiespasmódica**

**Fundamento:** Tras la administración vía oral de una solución de carbón activado como contraste (patrón indicador), es posible medir su desplazamiento estimulado por la motilidad intestinal.<sup>23</sup>

#### **Fármacos de referencia**

- Atropina
- Loperamida

#### **Procedimiento experimental**

- Los animales fueron acondicionados en un ambiente higiénico, privados de alimento y mantenidos sólo con agua durante las 6 horas previas al experimento.
- Los animales fueron distribuidos al azar en seis grupos de cinco ratas cada

uno.

- Las dosis se administraron por vía oral mediante sonda orogástrica (suero fisiológico, loperamida 3 mg/kg y los extractos de 100, 200, 400 mg/kg) excepto la dosis de atropina, que se administró por vía IM a razón de 1 mg/kg.
- Transcurrido 30 minutos, se administró carbón activado al 10 % a razón de una dosis de 0,1 ml/kg de peso, por vía oral a cada animal.
- Transcurridos 30 minutos después de los tratamientos, se sacrificaron las ratas por dislocación cervical e inmediatamente se les extrajo el tubo digestivo. Se midió la distancia recorrida por el carbón activado.<sup>23</sup>

Grupo experimental	Nº animales	Tratamiento	Dosis	Vía de administración
Grupo I Control negativo	5	Suero fisiológico	0,1 ml/10g	Oral
Grupo II Control positivo 1	5	atropina	1 mg/kg	I.M.
Grupo III Control positivo 2	5	loperamida	3 mg/kg	Oral
Grupo IV	5	extracto	100 mg/kg	Oral
Grupo V	5	extracto	200 mg/kg	Oral
Grupo VI	5	extracto	400 mg/kg	Oral

$$\% \text{ Tránsito intestinal} = \frac{\text{Distancia recorrida por el carbón (cm)}}{\text{Longitud total del intestino (cm)}} \times 100$$

$$\% \text{ Inhibición de la motilidad} = \frac{\text{DRC blanco (cm)} - \text{DRC prueba (cm)}}{\text{DRC blanco (cm)}} \times 100$$

Donde:

DRC: Distancia recorrida por el carbón

### **3.5.5. Determinación de la toxicidad aguda (DL<sub>50</sub>)**

Para la determinación de la toxicidad aguda del extracto, se empleó 10 ratones (hembras), previamente acondicionados. Los animales estuvieron en ayunas tres a cuatro horas antes de la administración. La sustancia experimental fue administrada a una sola dosis 2000 mg/kg. Dosis de acuerdo al peso por vía oral, usando una cánula adecuada. Terminada la dosificación se volvió a colocar la comida dos horas después.

Se observaron los animales individualmente después de la dosificación con atención especial durante las primeras 4 horas, periódicamente durante las primeras 24 horas y después diariamente, hasta un total de 14 días.

Los pesos individuales de los animales se determinaron antes de administrar la sustancia experimental, a los 7 y 14 días.<sup>24</sup>

### **3.6. Análisis de datos**

Los datos obtenidos se expresaron en forma de medias y desviación estándar, y se representaron mediante cuadros e histogramas. La significancia estadística de la actividad antiespasmódica y de la toxicidad aguda se estimó haciendo uso del análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95 %. Para la estimación de las diferencias entre los resultados de los grupos experimentales se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey haciendo uso del software SPSS versión 20.



## **IV. RESULTADOS**

Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría".

Metabolito secundario	Ensayo	Resultado	Observación
Catequinas	Ensayo de catequinas	(+++)	Color verde carmelita
Azúcares reductores	Benedict	(+)	Coloración roja
Lactonas	Baljet	(+++)	Precipitado café
Triterpenoides- esteroides	Lieberman-Buchard	(+++)	Coloración verde oscuro-negro-azul
Saponinas	Espuma	(+++)	Espuma persistente
Fenoles y taninos	Cl <sub>3</sub> Fe	(+++)	Coloración verde intensa
Aminoácidos	Ensayo de ninhidrina	(+)	Coloración azul
Quinonas	Borntrager	(+++)	Coloración roja
Flavonoides	Shinoda	(++)	Coloración amarilla
Alcaloides	Draguendorf	(+++)	Precipitado naranja
Alcaloides	Mayer	(+)	Suspensión verde lechosa
Alcaloides	Wagner	(++)	Precipitado verde

(+): Escaso, (++): Moderado, (+++): Abundante

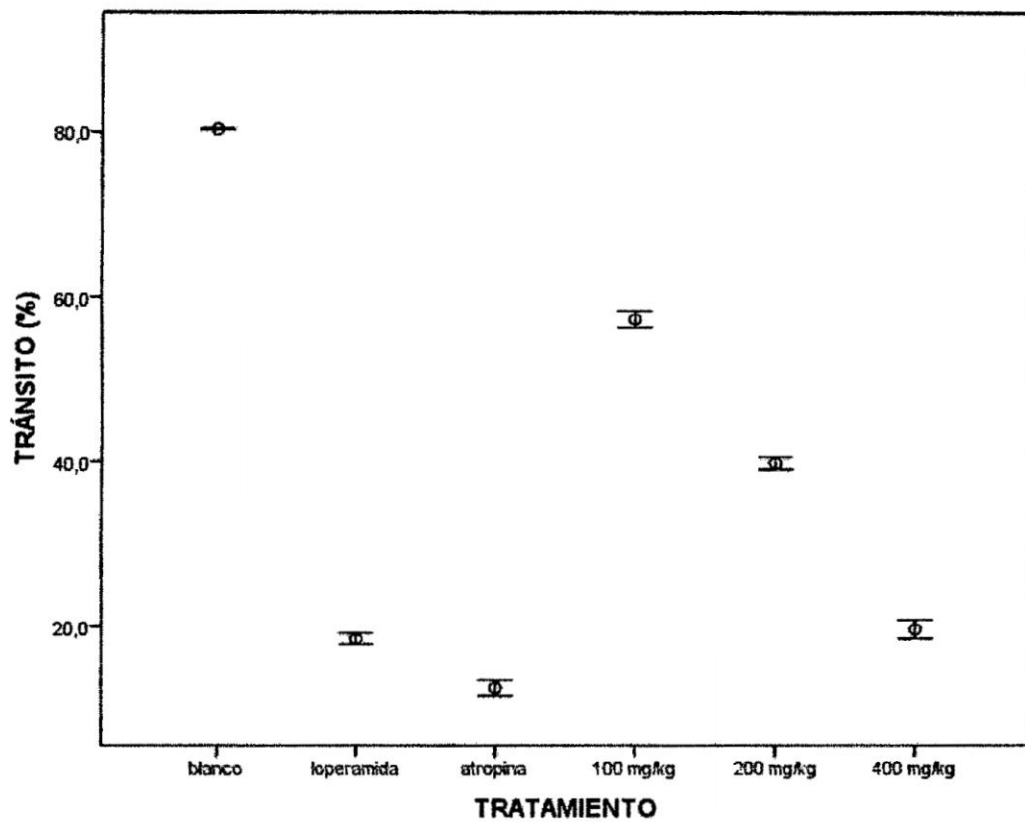


Figura 4. Porcentaje del tránsito intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

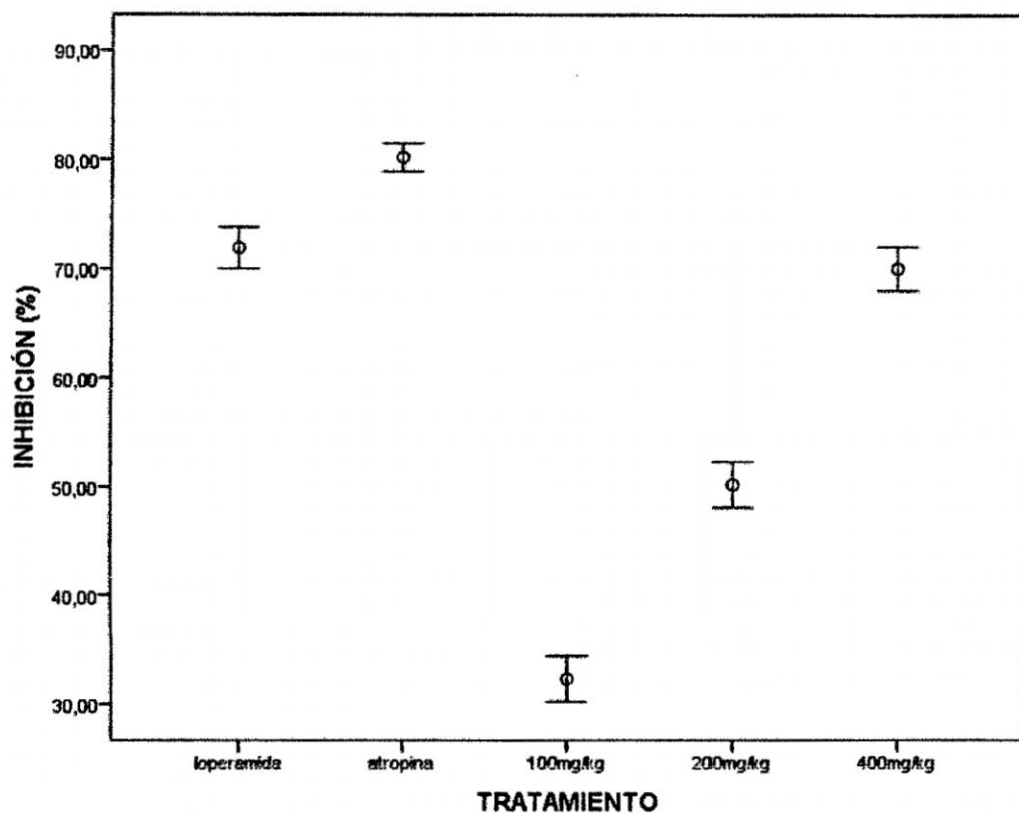


Figura 5. Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

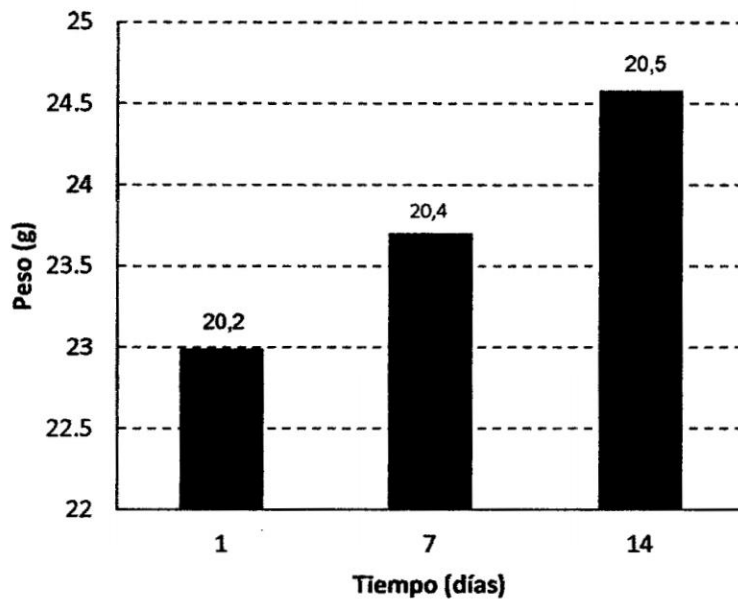


Figura 6. Variación de peso de los ratones en el ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

## V. DISCUSIÓN

En la actualidad, gran parte de la población opta por la terapéutica a base de plantas medicinales en la creencia de que todo lo "natural" carece de toxicidad; sin embargo, frecuentemente se producen cuadros tóxicos agudos y crónicos ocasionados por el uso incontrolado de estos productos. Muchas especies vegetales contienen cientos de sustancias químicas que, en ocasiones, no han sido totalmente identificadas. Algunos de estos principios activos son altamente nocivos, pudiendo provocar reacciones adversas imposibles de predecir. Por otra parte, en la mayoría de los casos, estos efectos tóxicos no se publican, lo que hace muy difícil llevar a cabo una adecuada farmacovigilancia. Las *Asteraceae* con lactonas sesquiterpénicas son frecuentemente responsables de dermatitis de contacto de origen alérgico. Estas moléculas se unen a las proteínas para formar alergenitos que inducen la sensibilización de linfocitos.<sup>25</sup>

Son varios los agonistas (neurotransmisores, hormonas y otros) que se unen a receptores específicos y activan la contracción del músculo liso. Subsecuentemente a esta unión, la respuesta de las células es incrementar la actividad de la fosfolipasa C acoplándose a proteína G. La fosfolipasa C produce dos potentes segundos mensajeros a partir del fosfatidilinositol 4, 5 bifosfato de la membrana: diacilglicerol (DG) e inositol 1,4,5 trifosfato (IP<sub>3</sub>). IP<sub>3</sub> se une a receptores específicos en el retículo sarcoplásmico, originando liberación de

calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ). DG junto con el  $\text{Ca}^{2+}$  activa la proteína cinasa C (PKC), esta fosforila proteínas específicas. En la mayoría de los músculos lisos, PKC tiene efectos promotores de la contracción, tales como fosforilación en canales de calcio u otras proteínas que regulan el proceso cíclico. El  $\text{Ca}^{2+}$  se une a calmodulina provocando la activación de la cinasa de la cadena ligera de la miosina, la cual fosforila la cadena ligera de miosina, y junto con la actina llevan a cabo el proceso iniciando el acortamiento de la célula del músculo liso. La relajación del músculo liso se da como resultado de remover los estímulos contráctiles o por la acción directa de una sustancia que estimule la inhibición del mecanismo contráctil. En cualquier forma, el proceso de relajación requiere una disminución de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, y un incremento en la actividad de la MLC fosfatasa. El retículo sarcoplásmico y la membrana plasmática contienen CaMgATPasas que remueven el  $\text{Ca}^{2+}$  del citosol. Intercambiadores  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  están también localizados sobre la membrana plasmática y ayudan a la disminución de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. Durante la relajación, los canales operados por voltaje y receptores de calcio en la membrana plasmática, se cierran, lo que conduce a restricción en la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a la célula.

La Tabla 1, muestra el resultado del tamizaje fitoquímico del extracto obteniéndose la presencia de catequinas, lactonas, triterpenoides-esteroides, saponinas, fenoles y taninos, quinonas, flavonoides y alcaloides.

Los flavonoides son un grupo grande de metabolitos secundarios con variada actividad farmacológica entre las que destacan: antioxidante, antiinflamatoria, antiespasmódica, antimicrobiana, citoprotectora, analgésica.<sup>11,12</sup>

Las lactonas sesquiterpénicas presentan gran importancia por la variada acción biológica que han demostrado: acción citotóxica, antitumoral, analgésica, inhibidores del crecimiento de bacterias<sup>1</sup> y antiespasmódica.<sup>26</sup>

Los flavonoides, junto a la glicirricina (saponina) de la raíz de regaliz, le confieren acción antiespasmódica, antiulcerosa, antiagregante plaquetaria y antiinflamatoria.

Moron y col. reportaron la presencia de flavonoides, cumarinas y/o sesquiterpenos, compuestos fenólicos, triterpenos y/o esteroides, saponoides y alcaloides en el extracto de *Matricaria recutita* "manzanilla (Asteracea).<sup>27</sup>

Cruz, reportó la presencia de alcaloides, cardiotónicos, triterpenos y/o esteroides, taninos, flavonoides, azúcares reductores, saponinas, principios amargos y resinas en el extracto fluido de *Ambrosia arborescens*.<sup>28</sup>

Tapahuasco, manifiesta la presencia de lactonas, flavonoides, alcaloides, fenoles y triterpenoide en el extracto acuoso de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".<sup>29</sup>

En la figura 4 se observa el porcentaje de tránsito intestinal de la loperamida, atropina y de los extractos de 100, 200, 400 mg/kg, respectivamente. Se obtuvo los siguientes resultados: para la loperamida 21,9 %, atropina 17,8 % y los extractos 56,8; 42,6 y 24,5 %, respectivamente. Al evaluar las diferencias estadísticas del efecto producido por cada uno de los tratamientos se demuestra que la dosis de 400 mg/kg y loperamida son similares y no se comparan estadísticamente a la atropina.

El rutósido es un ramnoglucósido de la quercetina (flavonol) y tiene acción venotónica, antiespasmódica, antihemorrágica y antirreumática.

Morón *et al.* en un estudio de la actividad espasmolítica del extracto fluido de *Matricaria recutita*, este disminuyó de manera dosis dependiente la amplitud de las contracciones espontáneas en el modelo de yeyuno e inhibió las contracciones inducidas por cloruro de bario, acetilcolina e histamina en íleon de cobayo de forma similar a la papaverina.<sup>27</sup>



La motilidad gastrointestinal está regulada por numerosos mediadores, principalmente acetilcolina, que logra sus efectos contráctiles a través de un aumento de  $Ca^{2+}$  citosólico<sup>30</sup> y que media su acción por la estimulación de receptores muscarínicos  $M_3$ . Precisamente los trastornos de la motilidad se tratan mediante fármacos anticolinérgicos.<sup>31</sup>

Emendorfer *et al*, describen la actividad antiespasmódica de algunas fracciones a partir de *Cynara scolimus* en íleon de cobayo. La fracción de diclorometano mostró los efectos biológicos más prometedores con una concentración inhibitoria,  $CI_{50}$  de 0,93 mg/ml. Su principal componente activo la sesquiterpenlactona cinaropicrina, exhibe una potente actividad con  $CI_{50}$  de 0,065 mg/ml, siendo aproximadamente 14 veces más activa que la fracción diclorometano y que tiene una potencia similar a la papaverina, un agente antiespasmódico conocido.<sup>26</sup>

La figura 5 indica el porcentaje de inhibición que muestran el extracto hidroalcohólico, loperamida y atropina; obteniéndose los siguientes resultados atropina 79,9 %; loperamida 73,8 %; extractos 100, 200 y 400 mg/kg respectivamente 33,3; 50,0 y 71,4 %.

Siendo las lactonas sesquiterpénicas y compuestos fenólicos los compuestos mayoritarios, además de haber evidencias científicas de que presentan actividad antiespasmódica podríamos atribuir los resultados obtenidos a estos metabolitos. Dichos metabolitos pueden interferir con la movilización de calcio de los depósitos intracelulares.

El extracto de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. a 2000 mg/kg fue bien tolerado por los animales, no hubo muertes registradas después de la administración oral ni durante el periodo de observación, lo cual se manifestó mediante el aumento del peso corporal.

Como referencia, en otro estudio, el efecto del extracto hidroalcohólico de las

hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” luego de su administración vía oral no resultó ser tóxico a la dosis de 2000 mg/kg.<sup>29</sup>

## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" presenta actividad antiespasmódica.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" son: catequinas, azúcares reductores, lactonas, triterpenoides - esteroides, saponinas, fenoles, taninos, aminoácidos, quinonas, flavonoides y alcaloides.
3. La dosis que posee mejor efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" fue de 400 mg/kg, que obtuvo un porcentaje de tránsito intestinal de 24,5 %.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" no demostró ser tóxico a la dosis de 2000 mg/kg.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con el estudio fitoquímico, farmacológico y toxicológico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría".
2. Aislar e identificar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" responsables del efecto antiespasmódico.
3. Realizar su formulación correspondiente de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría".

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lock O. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial PUC; 1994.
2. Long C, Sauleau P, David B, Lavaud C, Cassabois V, Ausseil F et al. Bioactive flavonoids of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. Fitoquímica. [revista en internet] 2012 [acceso 27 de octubre de 2013]; 2003. 64(2):567-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12943776>
3. Tiunan T, Ueda-Nakamura T, García Cortés D, Dias Filho B, Morgado-Díaz J, de Souza W et al. Antileishmanial activity of parthenolide, a sesquiterpene lactone isolated from *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. Antimicrob Quimioterapia Agentes. [revista en internet] 2012 [acceso 27 de octubre de 2013]; 2005. 49(1):176-82. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15616293>
4. Sur I, Martin K, Liebel F, Lyte P, Shapiro S, Southall M. Anti-inflammatory activity of parthenolide-depleted Feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip.). Inflammopharmacology. [revista en internet] 2009. [acceso 26 de octubre de 2013]; 17(1):42-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19112586>
5. Jager A, Krydsfeldt K, Rasmussen H. Bioassay-guided isolation of apigenin with GABA-benzodiazepine activity from *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. Res Phytother. [revista en internet] 2009. [acceso 26 de octubre de 2013]; 23(11):1642-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19441011>
6. Mohsenzadeh F, Chehregani A, Amiri H. Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxicity of essential oils of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. in different developmental stages. Biol Pharm. [revista en internet] 2011 [acceso 26 de octubre de 2013]; 49(9):920-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21592001>
7. Sahler J, Bernard JJ, Spinelli SL, Blumberg N, Phipps PR. The Feverfew plant-derived compound, parthenolide enhances platelet production and attenuates platelet activation through NF- $\kappa$ B inhibition. Res Thromb. [revista en internet] 2011 [acceso 26 de octubre de 2013]; 127(5):426-34. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21272923>
8. TRAMIL. Programa de Investigación Aplicada a la Medicina Tradicional Popular del Caribe. Farmacopea caribeña. República Dominicana Ediciones

- Emile Désormeaux; 1997.
9. Pareek A, Suthar M, Rathore G, Bansal V. Feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip.): A systematic review. *Pharmacogn Rev.* [revista en internet] 2011 [acceso 26 de octubre de 2013]; 5(9):103-10. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22096324>
  10. Villar Del Fresno. *Farmacognosia general*. Barcelona: Editorial Síntesis; 1999.
  11. Kuklinski C. *Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Barcelona: Ediciones Omega; 2003.
  12. Bruneton J. *Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia*. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 1991.
  13. Uzuruno S. *Farmacología del sistema colinérgico*. Departamento de farmacología y Terapéutica. Madrid: Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid; 2002.
  14. Tórtora G, Derickson B. *Principios de Anatomía y Fisiología*. 11ª ed. Barcelona: Editorial Médica Panamericana; 2007.
  15. Porth C. *Fisiopatología* 7ª ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 2006.
  16. McPhee S, Ganong W. *Fisiopatología médica, una introducción a la medicina clínica*. México DF: Editorial El Manual Moderno; 2007.
  17. Katzung B. *Farmacología básica y clínica*. Barcelona: Editorial El Manual moderno; 2005.
  18. Heller J, Taylor P. Agonistas y antagonistas de los receptores muscarínicos. En Hardman J, Limbird L. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11ª ed. México: Editorial Mc Graw Hill. México; 2001. p. 183-200.
  19. Ceña V, Posadas I. Fármacos antagonistas colinérgicos muscarínicos. En Flórez J, *Farmacología Humana*. 5ª ed. Madrid: Editorial Masson; 1997. p. 287-293.
  20. Clark W. *Farmacología Médica*. 13ª ed. Barcelona: Editorial Mosby; 2003.
  21. Taylor M, Reide P. *Farmacología*. Madrid: Editorial Harcourt; 1999.
  22. Miranda M. *Métodos de análisis de drogas y extracción*. La Habana: Universidad de la Habana; 2002.
  23. Arbos J, Zegri A, López-Soriano F, Argiles J. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. *Arch Int. Physiol Biochim Biophys.* [revista en internet] 1993 [acceso 26 de octubre de 2013]; 101:10-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7689354>

24. OECD. Guideline for testing of chemicals. Acute oral toxicity – Acute toxic class method. N° 423. 2001.
25. Omar A, Dupuy L, Renato A, Bonilla V. Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Viguiera sylvatica* y *Decachaeta thieleana* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos RAW Rev. biol. Trop; [revista en internet] 2008 [acceso 26 de octubre de 2013]; 2008.56(3): 1063-1073 Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid= S0034-77442008000300008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442008000300008&script=sci_arttext)
26. Emendorfer F, Emendorfer F, Bellato F, Floriani V, Cechinel V, Yunes R et al. Antispasmodic activity of fractions and Cynaropicrin from *Cynara scolymus* on guinea - pig ileum. Notes Biol. Pharm. Bull. [revista en internet] 2005 [acceso 26 de octubre de 2013]; 28(5):902-904. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15863902>.
27. Morón F, Furones J, Pinedo Z. Actividad espasmolítica del extracto fluido de *Matricaria recutita* “manzanilla” en órganos aislados. Revista Cubana de Plantas Medicinales. [revista en internet] 1996 [acceso 26 de octubre de 2013]; 1(1):19. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47961996000100005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961996000100005)
28. Cruz P. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco”. [Tesis de Grado]. Riobamba, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2009. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/218>
29. Tapahuasco L. Efecto antiespasmódico del extracto acuoso de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” en intestino de ratones albinos. [Tesis de Grado]. Ayacucho, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Escuela de Farmacia y Bioquímica; 2013
30. Gilani A, Bashir S, Janbaz K, Shah A. Presence of cholinergic and calcium channel blocking activities explains the traditional use of *Hibiscus rosasinensis* in constipation and diarrhea. Journal of ethnopharmacology [revista en internet]. 2005. [acceso 26 de octubre de 2013]; 102:289-294. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16182481>
31. Wang P, Hua C, Xian C. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Ambrosia trifida* L. Molecules. [revista en internet]. 2006.

[acceso 26 de octubre de 2013]; 11:549-555. Disponible en:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17971726>



## **ANEXOS**

Anexo 1

Tabla 2. Certificado de identificación botánica de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría".



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

**C E R T I F I C A**

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Pablo Rinaldo, PRADO PALOMINO, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Tanacetum
ESPECIE	:	<i>Tanacetum parthenium</i> (L) Sch.Bip.
N.V.	:	"santa maría"

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

Ayacucho, 09 de Octubre del 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
  
Dña. Laura Susana Medina  
JEFE

Anexo 2

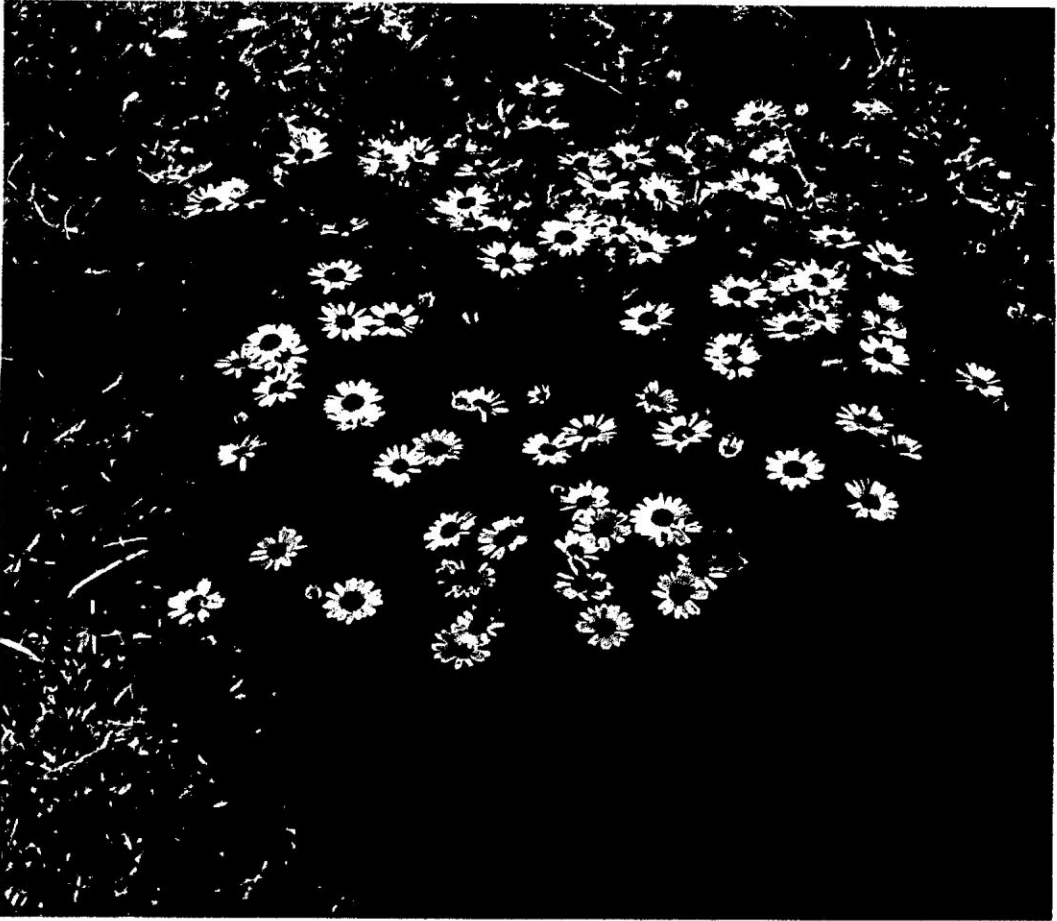


Figura 7. *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

Anexo 3

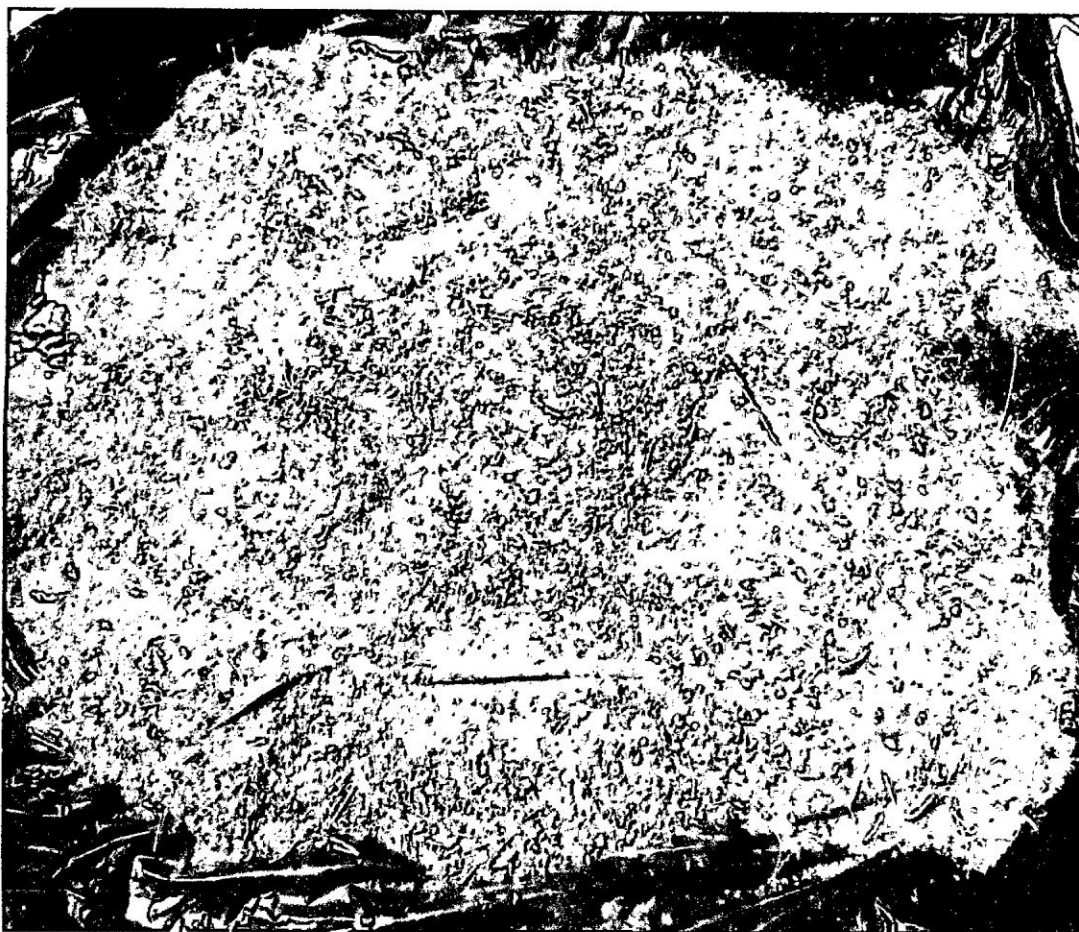


Figura 8. Hojas secas y molidas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

#### Anexo 4

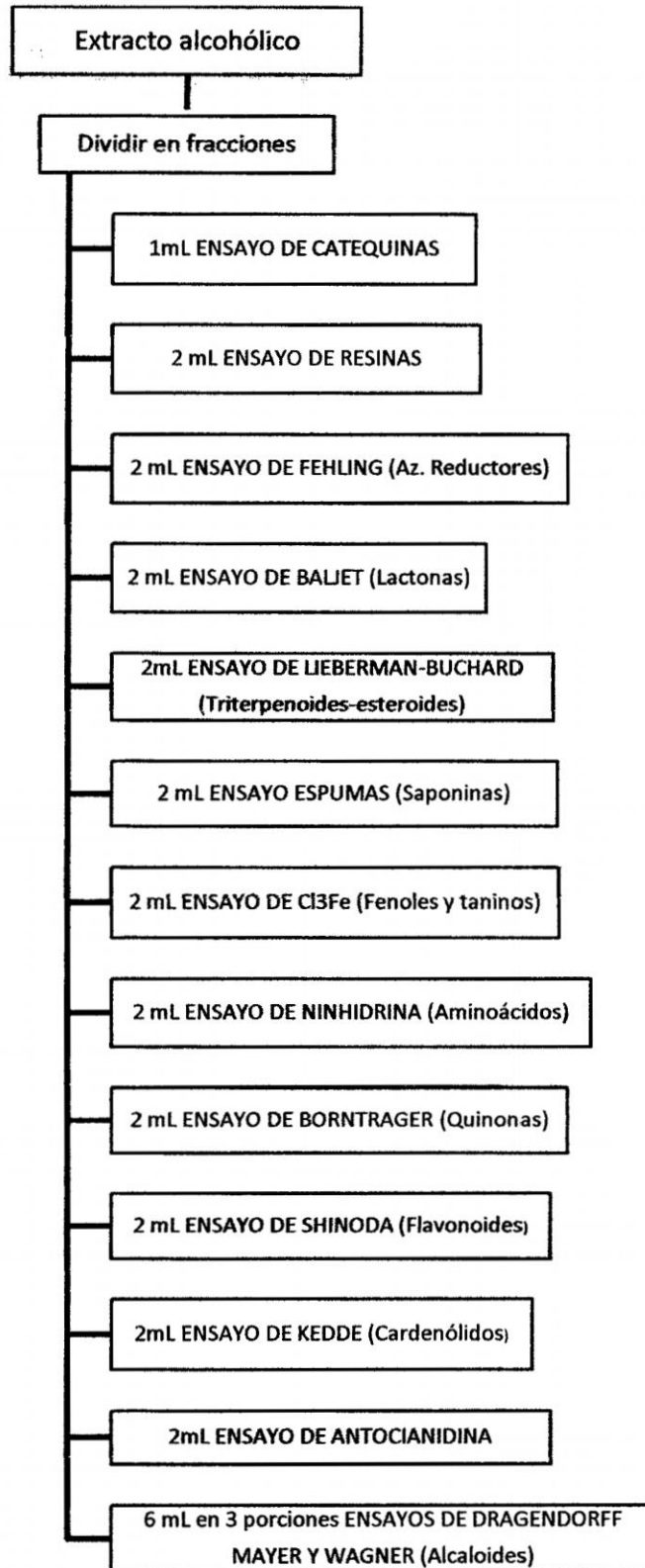


Figura 9. Esquema de las pruebas fitoquímicas con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría".

Anexo 5



Figura 10. Medida del tránsito intestinal del carbón activado por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

## Anexo 6

Tabla 3. Análisis de varianza (ANOVA) del tránsito intestinal del carbón activado por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	17671,067	5	3534,213	7744,806	,000
Intra-grupos	10,952	24	,456		
Total	17682,019	29			

Anexo 7

Tabla 4. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey del porcentaje de tránsito intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
atropina	5	12,520				
loperamida	5		18,480			
400 mg/kg	5		19,640			
200 mg/kg	5			39,800		
100 mg/kg	5				57,260	
blanco	5					80,340
Sig.		1,000	,109	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.



## Anexo 8

Tabla 5. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey del porcentaje de inhibición intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	7545,558	4	1886,389	804,636	,000
Intra-grupos	46,888	20	2,344		
Total	7592,446	24			

## Anexo 9

Tabla 6. Análisis de varianza (ANOVA) de los pesos de los ratones albinos durante el ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2013.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	12,689	2	6,344	4,210	,026
Intra-grupos	40,685	27	1,507		
Total	53,374	29			

Anexo 10

Tabla 7. Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Marco teórico	Metodología
Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar. Ayacucho 2013.	¿Tendrá efecto antiespasmódico el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar?	<p><b>Objetivo general</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar.</li> </ul> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría".</li> <li>• Evaluar la dosis con mejor efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar.</li> <li>• Determinar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip.</li> </ul>	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría" posee efecto antiespasmódico en intestino de ratas Wistar.	<p><b>Variable independiente</b></p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría"</p> <p><b>Indicadores</b> Dosis de 100, 200 y 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría".</p> <p><b>Variable dependiente</b></p> <p>Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría"</p> <p><b>Indicador</b></p> <p>% de tránsito intestinal del carbón activado.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antecedentes</li> <li>• Aspectos botánicos               <ul style="list-style-type: none"> <li>-Clasificación sistemática</li> <li>-Descripción botánica</li> </ul> </li> <li>• Usos medicinales</li> <li>• Metabolitos secundarios que muestran efecto antiespasmódico.               <ul style="list-style-type: none"> <li>-Taninos</li> <li>-Flavonoides</li> </ul> </li> <li>• Trastornos de la motilidad gastrointestinal</li> <li>• Antagonistas de los receptores muscarínicos</li> <li>• Atropina, mecanismo de acción y efectos sobre el tubo digestivo</li> <li>• Loperamida y su mecanismo de acción.</li> </ul>	<p><b>Nivel de Investigación:</b> Básica experimental</p> <p><b>Población.</b> Hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría" que crece en el distrito de Uripa, provincia de Chincheros, región Apurímac.</p> <p><b>Muestra.</b> 3 kg de hojas frescas de <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip. "santa maría"</p> <p><b>Unidad experimental:</b> 30 ratas Wistar machos, de 200 a 250 g de peso, adquiridos del Instituto Nacional de Salud-Centro Nacional de Productos Biológicos -Lima.</p> <p><b>Método.</b> Modelo de el tránsito intestinal de carbón activado propuesto por Arbos et al.<sup>23</sup></p> <p><b>Determinación de toxicidad aguda (DL<sub>50</sub>).</b> Según lo establecido por la OECD.<sup>24</sup></p> <p><b>Diseño experimental.</b> Diseño aleatorio. Las ratas fueron divididas en seis grupos, cada uno con repeticiones de cinco ratas.</p> <p><b>Análisis estadístico.</b> Se hizo un análisis de varianza (ANOVA) de los datos, considerando un nivel de significancia de 95 %. Las diferencias entre los grupos experimentales se analizaron mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.</p>

# EFECTO ANTIESPASMÓDICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Tanacetum parthenium* (L.) Sch.Bip. "santa maría" EN INTESTINO DE RATAS WISTAR. AYACUCHO 2013.

Pablo Prado<sup>1</sup>, Aldo Tinco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas,  
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

## RESUMEN

Los dolores intestinales son un padecimiento muy común en la población rural y urbana, principalmente en niños en edad escolar y su etiología de naturaleza múltiple. Con el objetivo de determinar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar, se desarrolló el presente trabajo de investigación en los laboratorios de Farmacognosia, Toxicología y Farmacología, del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de enero - junio del 2013. Las hojas fueron recolectadas en el distrito de Uripa, provincia de Chincheros, región Apurímac. El tipo de investigación fue experimental. Para evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico se empleó el modelo *in vivo* método de Arbos, del tránsito intestinal en ratas utilizando carbón activado como indicador de la motilidad intestinal. Se reportó la presencia de catequinas, lactonas, triterpenoides - esteroides, saponinas, fenoles y taninos, quinonas, flavonoides y alcaloides. El porcentaje de tránsito intestinal obtenido con la loperamida y atropina fue de 21,9 y 17,8%; mientras que con los extractos a 100, 200 y 400 mg/kg fue de 56,8; 42,6 y 24,5%, respectivamente, lo que significa que el extracto tiene efecto antiespasmódico. El porcentaje de inhibición de la motilidad obtenido con la loperamida y atropina fue de 73,8 y 79,7%; mientras que con los extractos a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg fue 33,3; 50,0 y 71,4%, respectivamente. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" posee efecto antiespasmódico y no mostró signos ni síntomas de toxicidad a la dosis 2000 mg/kg.

**Palabras clave:** *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip., antiespasmódico.

## SUMMARY

Intestinal pain is a very common condition in the rural and urban population, mainly schoolchildren and etiology of multiple nature. With the aim of determining the antispasmodic effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "Santa Maria" in Wistar rat intestine, this paper Research Labs Pharmacognosy, Pharmacology and Toxicology, the Department of Pharmacy, School of Biological Sciences, National University of San Cristobal de Huamanga developed during the months of January to June 2013. The leaves were collected in the district of Uripa province of Chinchero Apurimac region. The research was experimental. To evaluate the effect of the hydroalcoholic extract antispasmodic *in vivo* model proposed by Arbos, intestinal transit in rats using indicator activated as coal intestinal motility model was used. Steroids, saponins, phenols and tannins, quinones, flavonoids and alkaloids - the presence of catechins, lactones, triterpenoids were reported. Intestinal transit percentage obtained with loperamide and atropine was 21,9 and 17,8%; . While the extracts at 100, 200 and 400 mg/kg was 56,8; 42,6 and 24,5% respectively, meaning that the extract has antispasmodic effect . The percent inhibition obtained with motility loperamide and atropine was 73,8 and 79,7%; While extracts at doses of 100, 200 and 400mg/kg was 33,3; 50,0 and 71,4%, respectively. We conclude that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "Santa Maria" has antispasmodic effect and showed no signs or symptoms of toxicity at 2000 mg/kg.

**Keywords:** *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip., antispasmodic.

## INTRODUCCIÓN

Aún en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina, pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir esta confianza en la naturaleza, sino para agrupar a las plantas de efectos similares, para conocer los principios activos responsables de aliviar o curar

enfermedades, separarlos de las plantas que lo contienen, determinar sus estructuras químicas, procurar su síntesis, proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad y finalmente, dar a conocer a la humanidad los resultados de los estudios.<sup>1</sup>

Los antiespasmódicos son un grupo de agentes, que incluyen algunos compuestos de origen natural como los alcaloides de la especie *Atropa belladonna*

(atropina, belladona, hiosciamina y escopolamina) o sus derivados sintéticos. 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. Aunque se conocen diversos mecanismos farmacológicos que explican la acción de los compuestos antiespasmódicos, el más común es la actividad antagonista competitiva de la acetilcolina que impide la despolarización de la célula muscular y su consiguiente contracción.

Estudios realizados con *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" le atribuyen múltiples propiedades terapéuticas; sin embargo, aún no se han realizado estudios científicos que demuestren su potencial terapéutico como antiespasmódico, motivo por el que se estudió y se demostró dicho efecto utilizando el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría", en ratas Wistar, empleando como medicamentos de referencia atropina y loperamida, donde fueron comparadas las respuestas del tránsito intestinal por efecto del extracto a diferentes concentraciones.

#### Objetivo general

Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar.

#### Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría".
- Evaluar la dosis con mejor efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar.
- Determinar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría"

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Población

Hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" que crecen en el distrito de Uripa, provincia de Chincheros, región Apurímac, a una altitud de 3150 msnm.

### Muestra

3 kg de hojas frescas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" recolectadas en plena floración, en su estado silvestre.

### Unidad experimental

Se utilizaron 30 ratas Wistar de 200 a 250 g machos, que fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud (INS) - Lima, y transportados al Bioterio del Área de Farmacia UNSCH. Estuvieron en adaptación por siete días, a temperatura ambiente,

con dieta balanceada y agua *ad libitum*. Para la prueba toxicológica se utilizaron 10 ratones hembras de 18 a 20 g adquiridos en el Instituto Nacional de Salud (INS) - Lima y llevados al Bioterio del Área de Farmacia de la UNSCH para su adaptación por siete días.

### Determinación de la actividad antiespasmódica

- Se les acondicionó en un ambiente higiénico. Los animales fueron privados de alimento y mantenidos sólo con agua durante las 6 horas previas al experimento.
- Los animales fueron distribuidos al azar en seis grupos de cinco ratas cada uno.
- Las dosis se administraron por vía oral mediante sonda orogástrica (suero fisiológico, loperamida 3 mg/kg y los extractos de 100, 200, 400 mg/kg) excepto la dosis de atropina, que se administró por vía IM a razón de 1mg/kg.
- Transcurrido 30 minutos, se administró carbón activado al 10% a razón de una dosis de 0,1ml/kg de peso, por vía oral a cada animal.
- Transcurridos 30 minutos después de los tratamientos, se sacrificaron las ratas por dislocación cervical e inmediatamente se les extrajo el tubo digestivo. Se midió la distancia recorrida por el carbón activado.<sup>2</sup>
- Los porcentajes de tránsito e inhibición se calcularon con las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Tránsito intestinal} = \frac{\text{Distancia recorrida por el carbón (cm)}}{\text{Longitud total del intestino (cm)}} \times 100$$

$$\% \text{ Inhibición de la motilidad} = \frac{\text{DRC blanco (cm)} - \text{DRC prueba (cm)}}{\text{DRC blanco (cm)}} \times 100$$

DRC: Distancia recorrida por el carbón

### Determinación de la toxicidad aguda

Se empleó 10 ratones (hembras), previamente acondicionados. Los animales estuvieron en ayunas tres a cuatro horas antes de la administración. La sustancia experimental fue administrada a una sola dosis 2000 mg/kg, de acuerdo al peso por vía oral, usando una cánula adecuada. Terminada la dosificación se volvió a colocar la comida dos horas después. Se observaron los animales individualmente después de la administración con atención especial durante las primeras 4 horas, periódicamente durante las primeras 24 horas y después diariamente, hasta un total de 14 días.

Los pesos individuales de los animales se determinaron antes de administrar la sustancia experimental, a los 7 y 14 días.<sup>3</sup>

### Análisis de datos

Los datos obtenidos se expresaron en forma de medias y desviación estándar, y se representaron mediante cuadros e histogramas. La significancia estadística de la actividad antiespasmódica y de la

toxicidad aguda se estimó haciendo uso del análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95%. Para la estimación de las diferencias entre los resultados de los grupos experimentales se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey haciendo uso del software SPSS versión 20.

## RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría".

Metabolito secundario	Ensayo	Resultado	Observación
Catequinas	Ensayo de catequinas	(+++)	Color verde carmelita
Azúcares reductores	Benedict	(+)	Coloración roja
Lactonas	Baljet	(+++)	Precipitado café
Triterpenoides-esteroides	Lieberman-Buchard	(+++)	Coloración verde oscuro-negro-azul
Saponinas	Espuma	(+++)	Espuma persistente
Fenoles y taninos	Cl <sub>3</sub> Fe	(+++)	Coloración verde intensa
Aminoácidos	Ensayo de ninhidrina	(+)	Coloración azul
Quinonas	Borntrager	(+++)	Coloración roja
Flavonoides	Shinoda	(++)	Coloración amarilla
Alcaloides	Draguendorf	(+++)	Precipitado naranja
Alcaloides	Mayer	(+)	Suspensión verde lechosa
Alcaloides	Wagner	(++)	Precipitado verde

(+): Escaso, (++): Moderado, (+++): Abundante

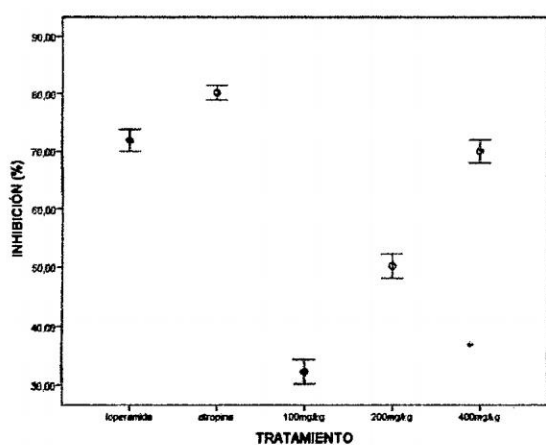


Figura 1. Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría".

## DISCUSIÓN

La tabla 1, muestra el resultado del tamizaje fitoquímico del extracto obteniéndose la presencia de catequinas, lactonas, triterpenoides-esteroides, saponinas, fenoles y taninos, quinonas, flavonoides y alcaloides.

Los flavonoides son un grupo grande de metabolitos secundarios con variada actividad farmacológica entre las que destacan: antioxidante, antiinflamatoria, antiespasmódica, antimicrobiana, citoprotectora, analgésica.<sup>4,5</sup>

Las lactonas sesquiterpénicas presentan gran importancia por la variada acción biológica que han demostrado: acción citotóxica, antitumoral, analgésica, inhibidores del crecimiento de bacterias<sup>1</sup> y antiespasmódica.<sup>6</sup>

Siendo las lactonas sesquiterpénicas y compuestos fenólicos los compuestos mayoritarios, además de haber evidencias científicas de que presentan actividad antiespasmódica podríamos atribuir los resultados obtenidos a estos metabolitos. Dichos metabolitos pueden interferir con la movilización de calcio de los depósitos intracelulares.

El extracto de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. a 2000 mg/kg fue bien tolerado por los animales, no hubo muertes registradas después de la administración oral ni durante el periodo de observación, lo cual se manifestó mediante el aumento del peso corporal.

Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. posee efecto antiespasmódico, siendo la dosis de 400 mg/kg la que posee mejor efecto, con un porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de 71,4% (figura 1).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lock O. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial PUC; 1994.
2. Arbos J, Zegri A, López-Soriano F, Argiles J. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. Arch Int. Physiol Biochim Biophys. [revista en internet] 1993 [acceso 26 de octubre de 2013]; 101:10-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7689354>
3. OECD. Guideline for testing of chemicals. Acute oral toxicity – Acute toxic class method. N° 423. 2001.
4. Kuklinski C. Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Ediciones Omega; 2003.

5. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 1991.
6. Emendorfer F, Emendorfer F, Bellato F, Floriani V, Cechinel V, Yunes R, Delle F, Maia A. Antispasmodic activity of fractions and Cynaropicrin from *Cynara scolymus* on guinea - pig ileum. Notes Biol. Pharm. Bull. [revista en internet] 2005 [acceso 26 de octubre de 2013]; 28(5):902-904. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15863902>.