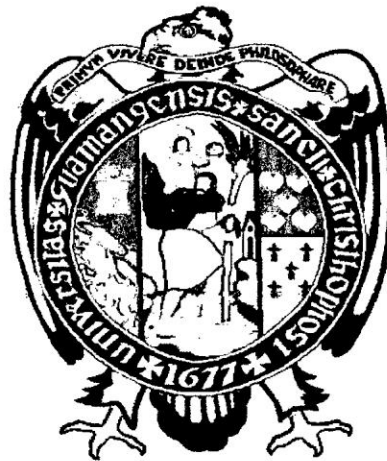


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo". Ayacucho - 2013.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR LA:

Bach. FLORES CHÁVEZ, Liliam Jenniffer

AYACUCHO – PERÚ

2015

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D.N° 037 – FC de la S-UNSCH-2015
Bach. Liliam Jenniffer FLORES CHÁVEZ

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro y quince de la tarde del día siete de agosto del dos mil quince, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, con la asistencia de los docentes: Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA (Presidente), Mg. Saturnino Martín TENORIO BAUTISTA (miembro), Dr. Edwin Carlos ENCISO ROCA (miembro), Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO (asesor) y el Mg. Q.F. Edgar CÁRDENAS LANDEO (miembro y cuarto jurado) para recepcionar la exposición de Tesis Titulada: Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en ileon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo". Ayacucho – 2013, presentado por la Bach. Liliam Jenniffer FLORES CHÁVEZ, quien pretende obtener el Título Profesional de Químico farmacéutica. Actuando como Secretaria Docente encargada de la Facultad de Ciencias de la Salud al Mg. Q.F. Nancy Victoria CASTILLO TORRES según R.D.N° 037- FC de la S-UNSCH – 2015.

El presidente Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA inicio el acto de sustentación solicitando a la Secretaria Docente para que de lectura a la Resolución Decanal N° 037-FC de la S-UNSCH – 2015, que declara expedita para el acto de sustentación, así como los miembros del jurado evaluador y la secretaria docente; a continuación el presidente solicita a la sustentante que inicie la exposición de su trabajo de investigación en el tiempo correspondiente.

En la segunda etapa, los docentes miembros del jurado, realizan las observaciones, aclaraciones y preguntas que crean concernientes para la evaluación de la Bachiller sustentante.


Concluido esta etapa el presidente solicita a la sustentante y al público en general para que abandonen el auditorio, a fin de que los miembros del jurado deliberen y procedan a calificar según se observa en el siguiente resumen:


Miembros del jurado	Exposición	Respuesta a preguntas	Promedio
Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA	17	17	17
Mg. Saturnino Martín TENORIO BAUTISTA	17	17	17
Dr. Edwin Carlos ENCISO ROCA	17	17	17
Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO	18	18	18
Mg. Edgar CÁRDENAS LANDEO	17	17	17
	Promedio total		17

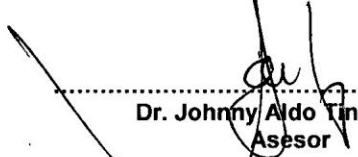
De la evaluación realizada la sustentante obtiene la nota de diecisiete (17). Luego de solicitar el ingreso de la sustentante y el público, el presidente comunica los resultados de la evaluación de los miembros del jurado así como la juramentación de la sustentante como una nueva Químico Farmacéutica.

Siendo las seis y catorce de la tarde se da por finalizado el acto de sustentación y para dar fe de lo actuado, los miembros del jurado estampan su firma al pie de la presente en señal de conformidad.

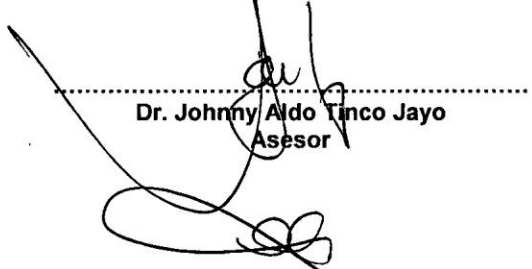

.....
Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA
Presidente


.....
Mg. Saturnino Martín TENORIO BAUTISTA
Miembro


.....
Dr. Edwin Carlos ENCISO ROCA
Miembro


.....
Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo
Asesor


.....
Mg. Edgar CÁRDENAS LANDEO
Miembro


.....
Mg. Nancy Victoria CASTILLO TORRES
Secretaria Docente

A Dios.

A mis padres Alejandro y Teodomira con mucha gratitud, afecto y respeto por su orientación, dedicación y su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

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

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a todos los docentes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica por su invaluable labor al formar tanto académica como moralmente a los estudiantes y presentarlos ante la sociedad como excelentes profesionales.

A mi asesor del presente trabajo, el Dr. Q.F. Johnny Aldo Tinco Jayo, por su paciencia, amabilidad e interés mostrado en todo momento; por su dirección, asesoramiento, dedicación y continuo apoyo; por haberme ayudado y animado a continuar con la labor investigadora comenzada que culmina en el presente trabajo.

A mi hermana Mayra y a todas las personas que de una u otra manera contribuyeron en la ejecución del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico"	5
2.2.1. Taxonomía	5
2.2.2. Descripción botánica	5
2.2.3. Distribución geográfica	6
2.2.4. Etnobotánica y etnofarmacología	6
2.2.5. Parte utilizable	6
2.2.6. Composición química	6
2.2.7. Propiedades y usos	7
2.2.8. Propiedades farmacológicas	7
2.3. Intestino delgado	9
2.3.1. Anatomía y fisiología del intestino delgado	9
2.3.2. Estructura histológica del tubo digestivo	10
2.3.3. Motilidad gastrointestinal	11
2.3.4. Neurotransmisión en el tracto gastrointestinal	11
2.3.5. Mecanismo de contracción del músculo liso	12
2.4. Acetilcolina	12
2.4.1. Acciones farmacológicas sobre el aparato gastrointestinal	13
2.5. Cólico intestinal	14
2.6. Fármacos antiespasmódicos	14
2.7. Antagonistas colinérgicos y espasmolíticos	14
2.7.1. Atropina	14
2.8. Fármacos no anticolinérgicos	15

III.	MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1.	Ubicación del trabajo de investigación	17
3.2.	Materiales	17
3.3.	Diseño metodológico	17
3.4.	Diseño experimental	20
3.5.	Análisis de datos	20
IV.	RESULTADOS	21
V.	DISCUSIÓN	26
VI.	CONCLUSIONES	37
VII.	RECOMENDACIONES	39
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
	ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Diseño experimental.	20
Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" recolectadas en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región de Ayacucho 2013.	22

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esqueleto común de los flavonoides.	8
Figura 2. Estructura histológica del tubo digestivo.	11
Figura 3. Sinapsis colinérgica.	13
Figura 4. Estructura química de la atropina.	14
Figura 5. Altura (mm) de las contracciones del íleon por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" con un nivel de confianza de ($p < 0,05$).	23
Figura 6. Tensión de la contracción del íleon por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" con un nivel de confianza de ($p < 0,05$).	24
Figura 7. Numero de contracciones del íleon por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" con un nivel de confianza de ($p < 0,05$).	25

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de la identificación botánica de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" Ayacucho - 2013.	46
Anexo 2. Recolección de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región de Ayacucho - 2013.	47
Anexo 3. Flujograma de la obtención del extracto hidroalcohólico de las las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región de Ayacucho - 2013.	48
Anexo 4. Hojas secas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico", maceración, filtrado, tintura madre, concentracion y obtencion del extracto seco.	49
Anexo 5. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" Ayacucho 2013.	50
Anexo 6. Composición del medio nutricio Tyrode.	51
Anexo 7. Quimógrafo automático Panlab Harvard.	52
Anexo 8. Preparación del extracto hidroalcohólico al 5%,10% y 20%; solución Tyrode, acetilcolina y jeringas rotuladas para la administración de los tratamientos.	53
Anexo 9. Flujograma del efecto antiespasmódico del extrato hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" en íleon aislado de <i>Cavia porcellus</i> "cobayo".	54
Anexo 10. Íleon aislado de <i>Cavia porcellus</i> "cobayo" acondicionado en el baño de órganos.	55
Anexo 11. Análisis de varianza de la altura de las contracciones generadas por la contracción del íleon aislado por efecto de los tratamientos.	56
Anexo 12. Prueba de Tukey de la altura de las contracciones generadas por la contracción del íleon aislado por efecto de los tratamientos.	57

Anexo 13.	Análisis de varianza de la tensión generada por la contracción del íleon aislado por efecto de los tratamientos.	58
Anexo 14.	Prueba de Tukey de la tensión generada por la contracción del íleon aislado por efecto de los tratamientos.	59
Anexo 15.	Análisis de varianza del número de contracciones generadas por la contracción de los anillos traqueales por efecto de los tratamientos.	60
Anexo 16.	Prueba de Tukey del número de contracciones generadas por la contracción del íleon aislado por efecto de los tratamientos.	61
Anexo 17.	Respuesta gráfica de íleon tras la administración de acetilcolina.	62
Anexo 18.	Respuesta gráfica de íleon tras la administración de acetilcolina y atropina.	63
Anexo 19.	Respuesta gráfica de íleon tras la administración de acetilcolina y del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" al 5%.	64
Anexo 20.	Respuesta gráfica de íleon tras la administración de acetilcolina y del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" al 10%.	65
Anexo 21.	Respuesta gráfica de íleon tras la administración de acetilcolina y del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" al 20%.	66
Anexo 22.	Matriz de consistencia	67

RESUMEN

Entre las opciones terapéuticas para tratar el cólico intestinal, los antiespasmódicos suelen considerarse los fármacos de primera línea de tratamiento. Las especies de *Ambrosia* se caracterizan por ser plantas aromáticas, con propiedades medicinales muy difundidas entre los pobladores de nuestra región por su conocida acción antiespasmódica y carminativa, es usada para aliviar las molestias digestivas. El presente trabajo de investigación experimental se realizó con el objetivo de determinar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en ileon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo", desarrollado en los laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga entre los meses de julio a diciembre del 2013. Las hojas fueron colectadas en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región de Ayacucho ubicado a 3 276 m.s.n.m., una vez colectadas las hojas se dejaron secar bajo sombra durante 15 días, posteriormente se hizo la molienda de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" hasta la obtención de un polvo fino. La extracción se realizó con etanol al 70%, se evaporó a sequedad hasta la obtención de un extracto blando, al cual se le realizó el tamizaje fitoquímico; donde se evidenció la presencia de sustancias de naturaleza terpénica y flavonoides. La evaluación del efecto antiespasmódico se realizó mediante el método de Magnus modificado en ileon aislado de cobayos, haciendo uso de un Quimógrafo automatizado Modelo Panlab Harvard; las contracciones fueron inducidas con acetilcolina a una concentración de 2×10^{-1} M registrándose el aumento de la tensión, número y altura de las contracciones. Se usó como control atropina y se evaluó el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" a las concentraciones de 5, 10 y 20%. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" al 20% redujo la tensión a 2,62 g semejante al de la atropina (2,53 g), a comparación al 10% y 5% que redujeron a 3,86 g y 4,55 g respectivamente. El número y altura de las contracciones fueron de 23,80 y 3,36 mm con atropina; 37 y 5,84 g al 5%; 28 y 4,69 mm al 10% y finalmente 25 y 3,47 mm al 20% respectivamente. El análisis estadístico mostro diferencias significativas en los diferentes tratamientos ($p < 0,05$). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" tiene efecto antiespasmódico, mostrando mayor efecto al 20%.

Palabras clave: *Chenopodium ambrosoides* L. "paico", efecto antiespasmódico.

I. INTRODUCCIÓN

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%.¹ Las posibilidades terapéuticas incluyen una amplia gama de alternativas, entre las que se encuentran los antiespasmódicos y la terapia herbal, que se convierte en una de las más utilizadas hoy en día.¹ Sobre todo en países económicamente dependientes, donde los padecimientos gastrointestinales afectan a grandes grupos de la población.² Un espasmo es la contracción involuntaria, persistente de un músculo o grupo muscular, algunos reservan dicho nombre para la contracción tónica persistente de los músculos de fibra lisa.³

Existen diversos estudios con plantas medicinales para evaluar el efecto antiespasmódico, siendo los más usados los modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*, y los más recomendados el de íleon aislado de cobayo (*in vitro*) y actividad sobre el tránsito intestinal en ratones y diarrea en rata (ambos *in vivo*), para lograr mejores resultados.⁴

Las especies de *Ambrosia* se caracterizan por ser plantas aromáticas, con propiedades medicinales muy difundidas entre los pobladores de nuestra región por su conocida acción antiespasmódica y carminativa, es usada para aliviar las molestias digestivas, cólicos de gases y para la expulsión de los gusanos intestinales.⁵

Dentro de los metabolitos secundarios con actividad antiespasmódica principalmente son reportados flavonoides, terpenos y alcaloides.² Lo que convierte a esta planta en un remedio casero ideal para el tratamiento natural y alivio de cólicos y dolores asociados a espasmos y contracturas musculares

involuntarias; además de poseer otras actividades también importantes como antibacterianas, antioxidante y antiinflamatorias.⁶

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

Objetivo general

- Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo".

Objetivos específicos.

- Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico".
- Determinar que concentración del extracto de las hojas del *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" presenta mayor efecto antiespasmódico.
- Comparar el efecto antiespasmódico de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" con la atropina en el íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo".

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Se revisaron 242 trabajos de investigación ejecutados entre 1972 y 2008, reportándose estudios de actividad antiespasmódica y/o antidiarreica para 319 especies pertenecientes a 101 familias, siendo de mayor frecuencia las Asteraceae, Ambrosioia y Labiatae. La mayoría de ellos realizadas en estudios *in vitro* utilizándose mayormente íleon aislado de cobayo y yeyuno aislado de conejo.²

En la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga se han realizado trabajos sobre efecto antiespasmódico en varias especies tales como:

Evaluaron el efecto antiespasmódico de *Rosmarinus officinalis* L. "romero" en donde la infusión al 30% y cocimiento al 20% redujo significativamente la contracción provocada por la acetilcolina sobre el íleon aislado de cobayo.⁷

Evaluaron el efecto antiespasmódico de *Melissa officinalis* L. "toronjil" en íleon aislado de cuy donde se observó que el extracto que tiene mejor efecto antiespasmódico frente a la acetilcolina, es el acuoso a las dosis de 5% y 15% (58,66% y 64,66% respectivamente). También señalaron que el extracto alcohólico al 15% presenta efecto relativamente mayor (49,85%) con respecto a la atropina (42,58%).⁸

Evaluaron el efecto antiespasmódico de las hojas de *Marrubium vulgare* L. "ojejora" en íleon aislado del cuy. Según los resultados observados manifiestan que el extracto fluido a dosis de 500 mg en presencia de acetilcolina (5×10^{-4}) se obtuvo una amplitud de respuesta promedio de 0.67 cm correspondiente a una disminución de la respuesta contráctil de 6.47 cm el cual mostró un mejor efecto farmacológico que el extracto fluido a dosis de 200mg que obtuvo una amplitud de respuesta promedio de 1.20 cm, paralelamente se evaluó la bioactividad en

nauplios de *Artemia salina*, determinándose que la concentración letal fue de 881.3126 ppm indicando que el extracto fluido contiene sustancias químicas con gran actividad biológica.⁹

Evaluaron el efecto antiespasmódico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pampa salvia" en el íleon aislado de cuy en la cual observaron que el extracto hidroalcohólico al 5% y 10% obtuvieron una disminución de la respuesta contráctil de 52,17% y 85,28% respectivamente. También señalaron que el extracto acuoso al 10% no presentó efecto antiespasmódico, obteniendo una mayor amplitud de respuesta que la acetilcolina. Paralelamente se evaluó la bioactividad en nauplios de *Artemia salina*, determinándose que la concentración letal fue de 29.17966 indicando que el extracto hidroalcohólico contiene sustancias químicas con gran actividad biológica.¹⁰

Evaluaron la actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. Grupo control positivo (atropina y papaverina) y extracto fluido al 45%. Todos los tratamientos provocaron una disminución significativa y dosis dependiente respecto a control negativo. Lo que afirma la actividad antiespasmódica del extracto en el intestino.¹¹

En el estudio de la actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* 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).¹²

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.¹³

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.¹⁴

En el estudio sobre el efecto antiespasmódico de la infusión acuosa de *Satureja breviculix* 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.¹⁵

2.2. *Chenopodium ambrosioides* L. "paico"

El paico es una planta medicinal y aromática usada desde tiempos prehispánicos por los indígenas americanos. Según Soukup, el nombre científico dado por Linneus proviene del griego (Chen: ganso y pous, podos: pata), traducido como "pata de ganso" en alusión a sus hojas irregularmente aserradas que se asemejan a las patas de este animal. Esta planta tiene múltiples propiedades y es beneficiosa para un sin número de enfermedades.¹⁶

2.2.1. Taxonomía

Según el certificado de identificación botánica del Herbarium Huamangensis (Anexo 2), la especie se ubica en la siguiente categoría taxonómica:¹⁷

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
CLASE : MAGNOLIOPSIDA
SUB- CLASE : CARYOPHYLLIDAE
ORDEN : CARYOPHYLLIDALES
FAMILIA : CHENOPODIACEAE
GÉNERO : *Chenopodium*
ESPECIE : *Chenopodium ambrosoides* L.
N.V. : "paico"

Otros nombres: paicco, payco, paiku, paiko, pamatai, pashiva, pashua, mmasamas, mmush, mmash, mnserina, mierba de manta maría, pastruco, mastruz, mentruz, pozote. (México) y wormseed (EE.UU).¹⁸

2.2.2. Descripción botánica

Es una hierba erecta, perenne o anual que puede alcanzar hasta 1 metro de altura, Su tallo puede ser simple o ramificado en la base y con pubescencia glandular. Posee hojas alternas de color verde oscuro, siendo las inferiores ovoides, lanceoladas y de bordes dentados, y las superiores pequeñas, lanceoladas y de bordes enteros. Miden hasta 10 cm de largo y 5 cm de ancho. Tiene una inflorescencia en forma de espigas dispuestas en panícula piramidal, y presenta flores pequeñas. Posee un fruto de forma globular que contiene una semilla lisa de color negro y de aproximadamente 0.7 mm de diámetro.^{19, 20}

2.2.3. Distribución geográfica

El paico crece de manera silvestre en la costa, sierra y selva del Perú, hasta los 4,000 msnm, en los bordes de las chacras, los terrenos de cultivo y los jardines. Es común encontrarlo en los departamentos de Cajamarca, Cusco, Huánuco, Loreto y San Martín. Es una especie introducida en la Amazonía desde otras regiones de América en épocas remotas, siendo su uso muy difundido. Es cultivado con gran facilidad en climas tropicales, subtropicales y templados, y en suelos de cualquier tipo con abundante materia orgánica. Se propaga por semillas y esquejes, y se le puede sembrar durante todo el año, en asociación con hortalizas.^{19, 21}

2.2.4. Etnobotánica y etnofarmacología

Según informaciones etnobotánicas y etnofarmacológicas se le atribuye al paico propiedades medicinales. Se le señalan beneficios para los nervios, los atrasos menstruales, la patología respiratoria, etc. Sin embargo, sus virtudes más importantes se refieren a las afecciones del aparato digestivo actuando como un gran agente antiespasmódico, donde calman las molestias cólicas, disminuyendo los gases intestinales y regulando el conjunto de las funciones digestivas. Otra propiedad importante es la de actuar como antiparasitario, característica que ha sido reconocida en todas partes del mundo. Estudios etnobotánicos realizados en diversos estados africanos corroboran esta afirmación.^{22, 23}

2.2.5. Parte utilizable

En la parte aérea tenemos a los: frutos, hojas, sumidades y tallos fructíferos. La infusión de las hojas se utiliza como analgésico, y a nivel digestivo se emplea para mejorar la digestión y como carminativo. En Egipto, la infusión de las hojas y brotes jóvenes se emplea como febrífugo y galactogogo. Las hojas y frutos se utilizan como antiespasmódico, antihelmíntico, vermífugo y diurético.²⁴

2.2.6. Composición química

Los compuestos químicos reportados de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico", son los siguientes: Taninos, flavonoides, saponinas, esteroides y alcaloides.²⁵ Presenta un aceite volátil, mezcla de varios componentes, entre ellos 76 - 86% ascaridol, 5% es un isómero del ascaridol, una mezcla de varios líquidos hidrocarbonados y alrededor del 0.5% de metilsalicilato. El aceite esencial de la planta contiene (Alcanfor, ascaridol, p-cimeno, geraniol, alfa-limoneno, mirceno, terpineno, pinocareol, flavonoides y diterpenos), ácido butírico, metilsalicilato, saponinas, sapogeninas, ureasa, y triaconta.²⁶

La raíz contiene heterósidos triterpénicos, en tanto la semilla y la fruta contienen una sustancia química activa llamada ascaridol ó 1, 4-peróxido de p-menta- 2-eno²⁶.

Otro principio activo importante es el anetol (éster fenólico) con efectos antiinflamatorios. El ascaridol es el principal responsable del aroma del paico, así como también de sus propiedades desparasitantes y de sus efectos tóxicos.²⁵

2.2.7. Propiedades y usos

Las hojas y flores son ampliamente usadas para tratar una gran diversidad de afecciones, tales como: digestivas (alivian los cólicos estomacales, espasmos, diarrea, disentería, estreñimiento, inapetencia, indigestión, flatulencias y gastritis); hepáticas, respiratorias (antitusígeno, asma, pulmonías, catarro); nerviosas, dolor de muela, desordenes menstruales, inflamaciones de las vías urinarias, trastornos cardiacos, hipertensión, malaria y reumatismo. La decocción de las hojas y semillas en cataplasma para quemaduras, infecciones de la piel, llagas, picadura de insectos, tumores y ciertos cánceres; los supositorios en polvo de las hojas se aplica en apendicitis.²⁷ También es usado como antihelmíntico, el ascaridol es uno de sus principales componentes, responsable de su aroma y de sus propiedades parasitocidas.²⁰

2.2.8. Propiedades farmacológicas de algunos metabolitos del *Chenopodium ambrosioides* L. "paico"

Ascaridol

Es un endoperóxido cíclico que constituye el principal principio farmacológicamente activo. Sus infusiones y decocciones continúan aplicándose como antihelmíntico aunque existen discrepancias sobre su efectividad terapéutica y grado de toxicidad. La Farmacopea Latinoamericana lo recomendaba como vermífugo a dosis de 10 a 15 gotas de ascaridol, seguido de una purga con aceite de ricino.²⁶

Flavonoides

Los flavonoides son metabolitos secundarios que se encuentran en todas las partes de las plantas cumplen una función protectora de ella y sus frutos, además de ser responsables de la coloración de numerosas flores y ciertas frutas.²⁸

Por ejemplo, los flavonoides se encargan de proteger a los vegetales de la incidencia de rayos ultravioletas y visibles, protege a la planta de los insectos,

hongos, virus y bacterias. También ejercen un efecto antioxidante, controlan la acción de hormonas vegetales, son atrayentes de insectos polinizadores.²⁸

Se originan mediante una ruta biosintética mixta (en el caso de los flavonoides, a través de la ruta del ácido Shikímico y la ruta de los Policétidos). Los flavonoides son Compuestos fenólicos diaril-propánicos, es decir, su estructura es del tipo C6-C3-C6, con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno.²⁹

Se han identificado más de 5.000 flavonoides, entre los que se pueden destacar:²⁸

1. Citroflavonoides: quercitina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno. La quercitina es un flavonoide amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócoles, cerezas, uvas o repollo rojo.
2. Flávonoides de la soja o isoflavonoides: están presentes en los alimentos con soja tales como porotos, tofu, leche, proteína vegetal texturizada, harina, miso.
3. Antocianidinas: son pigmentos vegetales responsables de los colores rojo y rojo-azulado de las cerezas.
4. Ácido elágico: es un flavonoide que se encuentra en frutas como la uva y en verduras.
5. Catequina: el té verde y negro son buenas fuentes.
6. Kaemferol: aparece en puerros, brócoles, rábano, endibias y remolacha roja.

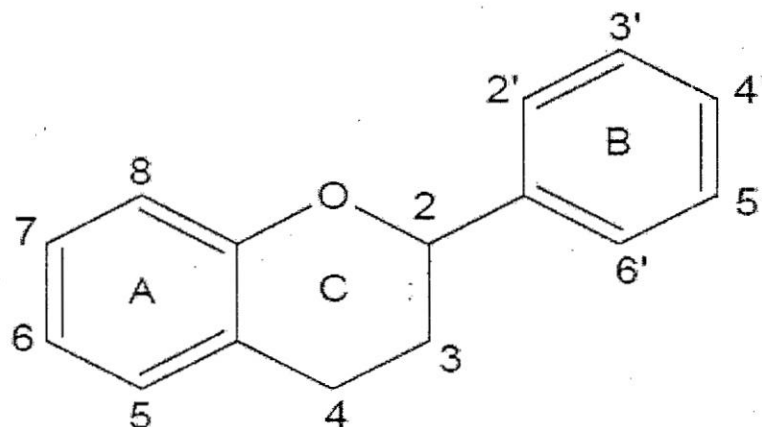


Figura 1. Esqueleto común de los flavonoides.²⁹

Desde el punto de vista de sus propiedades biológicas, numerosos estudios *in vitro* ponen de manifiesto que estos compuestos tienen efectos antioxidantes, pueden inhibir la peroxidación lipídica. Asimismo, estudios *in vivo* demuestran que los flavonoides potencialmente presentan numerosas actividades farmacológicas entre las que tenemos: Antiinflamatoria, diurética, antiespasmódica, antitrombótica, hepatoprotectora, antioxidante, antiulcerosa, antineoplásica, entre otras.³⁰

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.³¹ Es la parte de mayor longitud del sistema gastrointestinal (aproximadamente cinco metros), alrededor del 5% de su longitud inicial corresponde al duodeno (caracterizado por la ausencia del mesenterio y que se extiende desde el píloro hasta el ángulo duodeno-yeyunal), enseguida se ubica el yeyuno (alrededor del 40% de longitud intestinal), y finaliza con el íleon.³²

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 cuya función principal es evitar el reflujo de materias fecales desde el colon al intestino delgado.³³

Es el órgano de absorción y digestión alimenticia más importante en el organismo. Las alteraciones en su funcionamiento pueden provocar reflujo, esofagitis, úlceras pépticas, trastornos estomacales, propulsión inadecuada del quimo y sólidos en el intestino delgado, colon y recto; diarrea, infecciones, inflamaciones, etc.³²

El intestino delgado presenta dos tipos de movimientos:³⁴

- 1) Propulsión o peristaltismo: mediante los músculos longitudinales que realizan movimientos de contracción para el tránsito del quimo.
- 2) Mezcla, mediante movimientos peristálticos débiles y movimientos segmentarios: a cargo de los músculos circulares, que realizan contracciones rítmicas sin progresión.

2.3.2. Estructura histológica del tubo digestivo

Las cuatro capas que componen el sistema digestivo en todo su trayecto son:³⁵

- 1. La mucosa** es la capa interna del tubo digestivo y está dividida a su vez en: Epitelio, que es el que está en contacto directo con los órganos, su función se basa en proteger estas estructuras, además de secretar y absorber. Y la muscular de la mucosa que está formada por fibras es la encargada de aumentar el espesor de la superficie para promover la digestión y absorción. La mucosa segrega moco, que es un material viscoso y espeso que mantiene las membranas húmedas y flexibles.
- 2. La submucosa** es la capa que va inmediatamente debajo de la mucosa. Está formada por tejido conectivo laxo, es la que une la mucosa con la muscular externa. Es la capa más vascularizada por lo cual ayuda a la innervación autónoma de la muscular de la mucosa.
- 3. La muscular externa** posee dos capas de fibras musculares; la primera capa es circular y por encima de ella está la capa muscular longitudinal, en esta capa más externa se encuentra el plexo mientérico de Auerbach, que es el primer componente del sistema neuroentérico intrínseco, ésta actúa sobre el músculo del tubo digestivo y regula la motilidad muscular. Esta capa es la encargada de la función del peristaltismo, mediante su contracción rítmica ayuda a desplazar el alimento a lo largo del tubo digestivo. Esta contracción también ayuda a la mezcla de los alimentos con el jugo gástrico.
- 4. La serosa** es la capa más externa, formada por tejido conjuntivo y epitelio; forma parte del peritoneo. Se encuentra adherida a la pared de la cavidad abdominal por el mesenterio, que es un pliegue doble y grande tejido peritoneal (el peritoneo es la membrana más extensa del cuerpo, es serosa, húmeda y deslizante, encargada de cubrir los órganos situados en la cavidad abdominal).

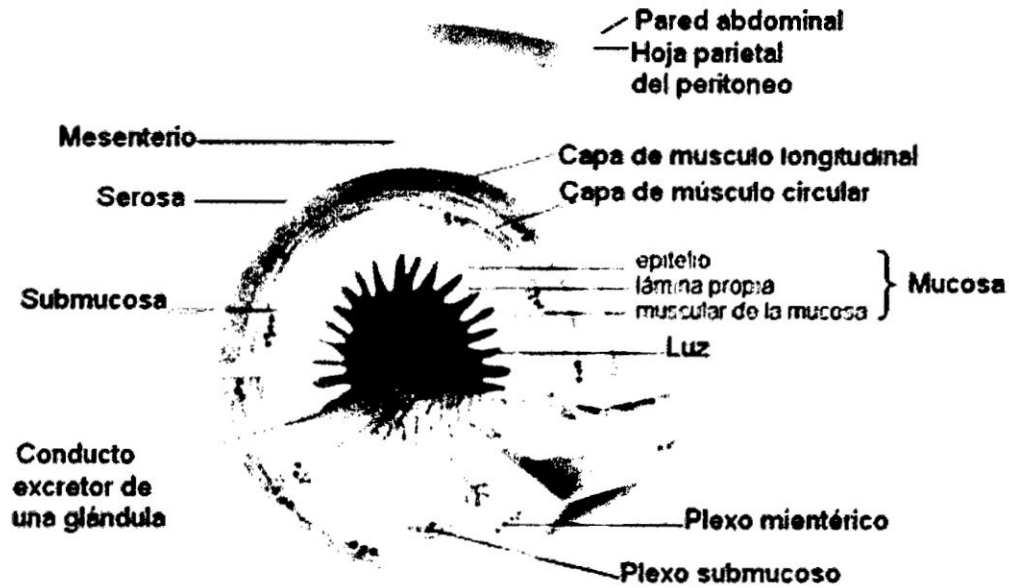


Figura 2. Estructura histológica del tubo digestivo.³⁵

2.3.3. Motilidad gastrointestinal

La motilidad gastrointestinal es “la propiedad de las paredes intestinales para contraerse y relajarse a fin de que el contenido del intestino vaya de un lugar a otro, favoreciendo la absorción adecuada de nutrientes”. Las estructuras involucradas para realizar esta función son: 1. Sistema nervioso entérico (SNE) 2. Plexos nerviosos: submucoso (Meissner) y mientérico (Auerbach) 3. Las capas musculares (circular y longitudinal) 4. Células intersticiales de Cajal.³⁶

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.³⁷

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. La innervación 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.³⁷

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. Acetilcolina

La acetilcolina (AC) fue el primer neurotransmisor caracterizado tanto en el sistema nervioso periférico (SNP) como en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos.³⁸ Es sintetizada en el citoplasma neuronal a partir de la colina y de la acetilcoenzima A (acetil-CoA) mediante la acción de la enzima colinoacetiltransferasa (CAT). 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.³⁹

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 sobreponerse durante el desarrollo y son responsables de las diversas acciones fisiológicas de la acetilcolina.³⁷ 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.³⁸

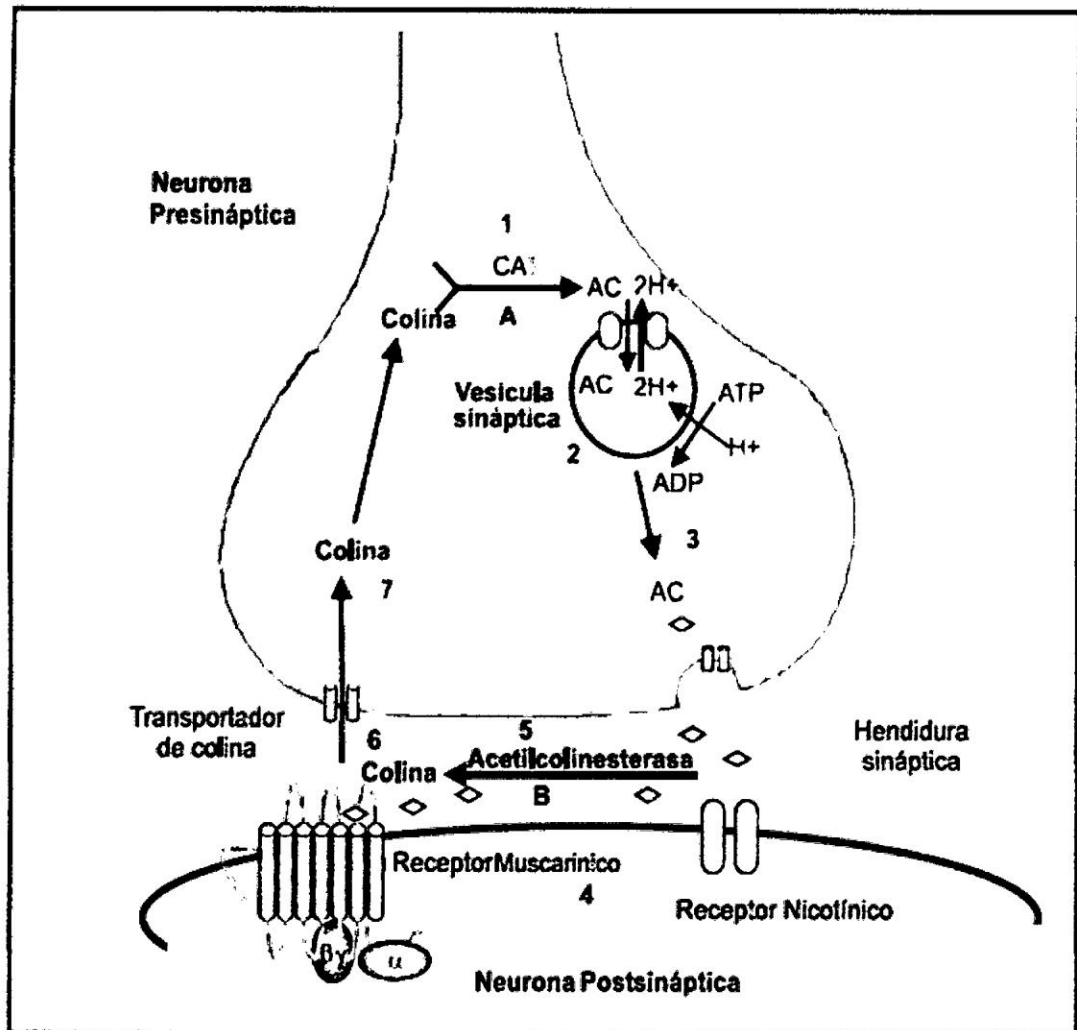


Figura 3. Sinapsis colinérgica.³⁷

2.4.1. Acciones farmacológicas sobre el aparato gastrointestinal

La acetilcolina en el tracto gastrointestinal actúa aumentando la motilidad, secreción glandular y el peristaltismo gastrointestinal. Estos efectos, exacerbados por agonistas directos o indirectos colinérgicos activan en mayor grado las glándulas salivales y gástricas 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.⁴⁰

2.5. Cólico intestinal

El cólico puede ser definido como la aparición de un dolor agudo, intenso y agotador en algunos casos, cuyo origen se encuentra en el aparato gastrointestinal.⁴¹ Es un síntoma inespecífico que carece de marcadores biológicos que puedan determinar su valor y significado en las enfermedades gastrointestinales de carácter orgánico y funcional. Entre las opciones terapéuticas para tratar el cólico intestinal, los antiespasmódicos suelen considerarse los fármacos de primera línea de tratamiento.¹

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. 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.⁴²

2.7. Antagonistas colinérgicos y espasmolíticos

Los anticolinérgicos (llamados también antagonistas colinérgicos), son fármacos capaces de bloquear la acción de la acetilcolina sobre sus efectores autónomos, pueden dividirse en antagonistas nicotínicos y muscarínicos.³⁷

2.7.1. Atropina

La atropina es la d-l-hiosciamina, forma racémica, pero la actividad antimuscarínica se debe principalmente a la forma levógira natural (l-hiosciamina) que es 50 – 100 veces más potente que el d-isómero. La scopolamina es la l-hioscina.³⁷

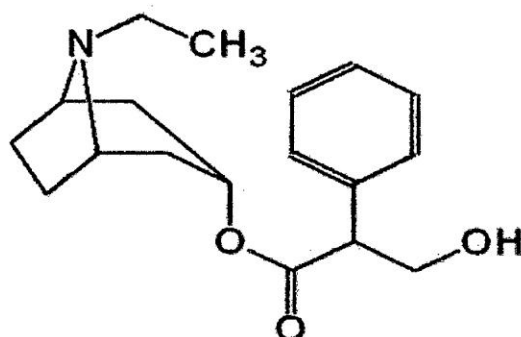


Figura 4. Estructura química de la Atropina.³⁷

La presencia del grupo OH libre en la porción ácida de la molécula es necesaria para la acción antimuscarínica. El anillo bencénico de la atropina o escopolamina determina la pérdida de la actividad específica o eficacia de la molécula, conservando la afinidad, base de su acción antagonista competitiva. 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.³⁷

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 en el tratamiento de las alteraciones motoras digestivas (cólicos, espasmos o distonías) continúa siendo muy controvertida.³⁷

2.8. Fármacos no anticolinérgicos

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 inhibitoria 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.³⁷

Las propiedades relajantes del músculo liso de los anticolinérgicos y otros fármacos antiespasmódicos pueden ser útiles en la dispepsia, el síndrome de colon irritable, y en la enfermedad diverticular.⁴³

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación, se desarrolló en los Laboratorios de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, región Ayacucho, durante los meses de julio a diciembre del 2013.

3.2. Materiales

3.2.1. Población

Hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" recolectados en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región Ayacucho, ubicado a 3 276 m.s.n.m.

3.2.2. Muestra vegetal

1 Kg de hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" no cultivadas, recolectados en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región Ayacucho, el sistema de muestreo fue por conveniencia.

3.2.3. Animales de experimentación

Se extrajo el ileon de 20 cobayos (*Cavia porcellus*) de la misma edad, sexo (macho) entre 400 a 500 g aproximadamente, adquiridos del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) – Ayacucho, los mismos que fueron acondicionados con alimentación balanceada y agua *Ad libitum* en el bioterio del Laboratorio de Farmacología del área de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.3. Diseño metodológico: básico – experimental.

3.3.1. Procedimiento metodológico para la recolección de datos

3.3.1.1. Recolección de la muestra

Las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico", fueron recolectados en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región Ayacucho a 3 276 m.s.n.m., en la primera semana del mes de agosto, entre las 6:00 y 7:00 am, antes que los rayos solares iluminen la planta provocando su transpiración. Se recolectó las hojas que no estaban dañadas ni maltratadas y que hayan alcanzado un buen desarrollo biológico. En la identificación botánica se emplearon hojas y tallo de la muestra, el cual estuvo a cargo de los especialistas del *Herbarium Huamanguensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1).

3.3.1.2. Desección y estabilización

Las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" fueron sometidos a un tratamiento de limpieza y selección para eliminar todo elemento extraño. Luego las hojas se dejaron secar bajo sombra, extendiéndolas apropiadamente durante 15 días a temperatura ambiente.

3.3.1.3. Molienda

Las hojas ya secas se molieron utilizando un mortero de porcelana; obteniéndose un polvo fino y seco.

3.3.1.4. Preparación del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico"

Se utilizó 500 g de hojas secas, las cuales fueron molidas, posteriormente llevadas a maceración en un frasco de color ámbar limpio y seco durante 15 días con 3 L de etanol al 70%, este cubrió a la muestra por 1 cm de diferencia. Durante el proceso se agitó el frasco a diario para que el solvente se distribuya homogéneamente en la muestra. Posteriormente se realizó el filtrado del macerado a través del filtro al vacío utilizando papel Whatman N° 40, finalmente se procedió a la evaporación a sequedad en un rotavapor rotatorio BUCHI 3000, y en una estufa 40°C, obteniéndose el extracto blando.

3.3.1.5. Tamizaje fitoquímico

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo los procedimientos propuestos por Miranda y Cuellar.⁴⁵ (Anexo 5)

3.3.1.6. Fármaco de referencia

Veinte ampollas de Atropina Sulfato de 1 mg/ml, fabricado por el laboratorio Medifarma S.A.

3.3.2. Determinación de la actividad antiespasmódica: Método de Magnus ⁴⁶

Fundamento

Consiste en la inducción de espasmos en fracciones de íleon aislado conservados en el medio nutritivo de Tyrode (Anexo 6) con acetilcolina y evaluación del efecto antiespasmódico con la sustancia problema, utilizando como patrón de referencia atropina.

Materiales

- Acetilcolina, se preparó en agua destilada a una concentración de 2×10^{-1} M.
- Veinte ampollas de atropina de 1 mg/ml (Laboratorio Medifarma S.A.).
- Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" a diferentes concentraciones: 5, 10 y 20%, que se prepararon con medio nutritivo de Tyrode.

Procedimiento

Se suspendió la alimentación de los animales con 24 horas de anticipación siendo mantenidas con agua *Ad libitum*. Para iniciar el trabajo se encendió y calibró el quimógrafo automatizado Panlab Harvard, luego se sacrificó a los cobayos por dislocación cervical, se abrió la cavidad abdominal y se extrajo el íleon que fue sumergido de inmediato en la solución nutritiva Tyrode a 37°C, se lavó cuidadosamente (Anexo 9) y luego se cortó transversalmente en segmentos de dos centímetros aproximadamente, luego se transfirió al baño de órganos y fueron fijados con seda quirúrgica, por un extremo a un transductor y por el otro a la cámara para órgano aislado, con 25 ml de solución Tyrode, burbujeo constante y a 37°C (Anexo 10).

Se encendió el software (LabChart) y a los cuatro minutos aproximadamente se adicionó 0,5 ml de acetilcolina 2×10^{-1} M y se dejó en observación por 25 min (Grupo I) (Anexo 9). Para el caso de los Grupos II, III IV y V, se hizo un registro control durante cuatro 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 1 ml de atropina, y 3 ml de extracto al 5%, 10% y 20% respectivamente para cada grupo y se dejó en observación durante 25 min más. Todos los cambios y movimientos fueron captados por un transductor y registrados en la computadora (Anexo 17 al 21). Para cada uno de los grupos se utilizaron tejidos recién obtenidos y se acondicionaron aproximadamente por 10 min. Se realizaron cinco repeticiones por grupo, la

dosis óptima de acetilcolina y de atropina se determinaron en experiencias previas.

3.4. Diseño experimental

Las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" fueron sometidas a la evaluación del efecto antiespasmódico. Los animales de experimentación se dividieron utilizando un diseño completamente aleatorizado en cinco grupos de cinco repeticiones cada una; procediéndose de la siguiente manera:

Tabla 1. Diseño experimental

	Acetilcolina 2x10 ⁻¹ M 0,5 ml	Atropina 1 mg/ml 0,5 ml	Extracto hidroalco- hólico 5% 3 ml	Extracto hidroalco- hólico 10% 3 ml	Extracto hidroalco- hólico 20% 3 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 de las diferencias de tensión generada entre las normales y las generadas con acetilcolina (2x10⁻¹M), atropina y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" (5, 10 y 20%). También se calculó el promedio y los valores de dispersión de la tensión (g), altura (mm) y número de las contracciones para cada uno de los tratamientos. Los resultados se presentaron comparativamente en cuadros y gráficos estadísticos y fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) que permitió determinar las diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias intergrupos se analizaron por la prueba de Tukey, para el estudio se utilizó un nivel de confianza (p<0,05); el software empleado para el análisis estadístico fue el SPSS versión 21.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas *Chenopodium ambrosoides* L. "paico", recolectada en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región de Ayacucho 2013 a 3 276 m.s.n.m.

Metabolitos secundarios	Ensayo	Resultado	Observación
	Dragendorf	(+++)	Precipitado
Alcaloides	Mayer	(++)	Precipitado
	Wagner	(+++)	Precipitado rojo
Lactonas y Cumarinas	Baljet	(++)	Precipitado
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman - burchard	(+++)	Coloración ligeramente verde
Aminoácidos	Ninhidrina	(+++)	Azul violáceo
Flavonoides	Shinoda	(+++)	Coloración rojo carmelita
Antocianidinas	Antocianididas	(++)	Coloración marrón
Taninos y fenoles	Cloruro férrico	(++)	Coloración azul
Saponinas	Espuma	(++)	Formación de espuma

LEYENDA:

(+++) Abundante

(++) Moderado

(+) Leve

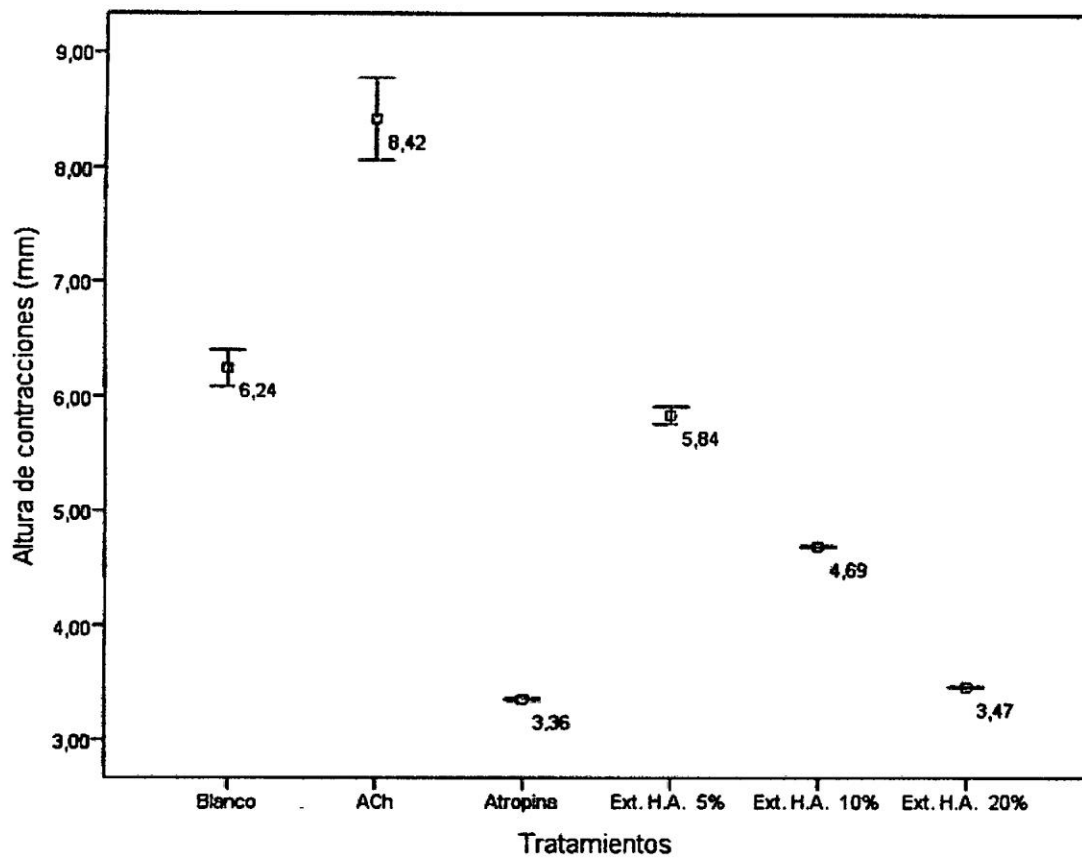


Figura 5. Altura (mm) de las contracciones del íleon por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" con un nivel de confianza de ($p < 0,05$).

Leyenda:

ACh : acetilcolina (2×10^{-1} M)

Ext. H.A. 5% : extracto hidroalcohólico al 5%

Ext. H.A. 10% : extracto hidroalcohólico al 10%

Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%

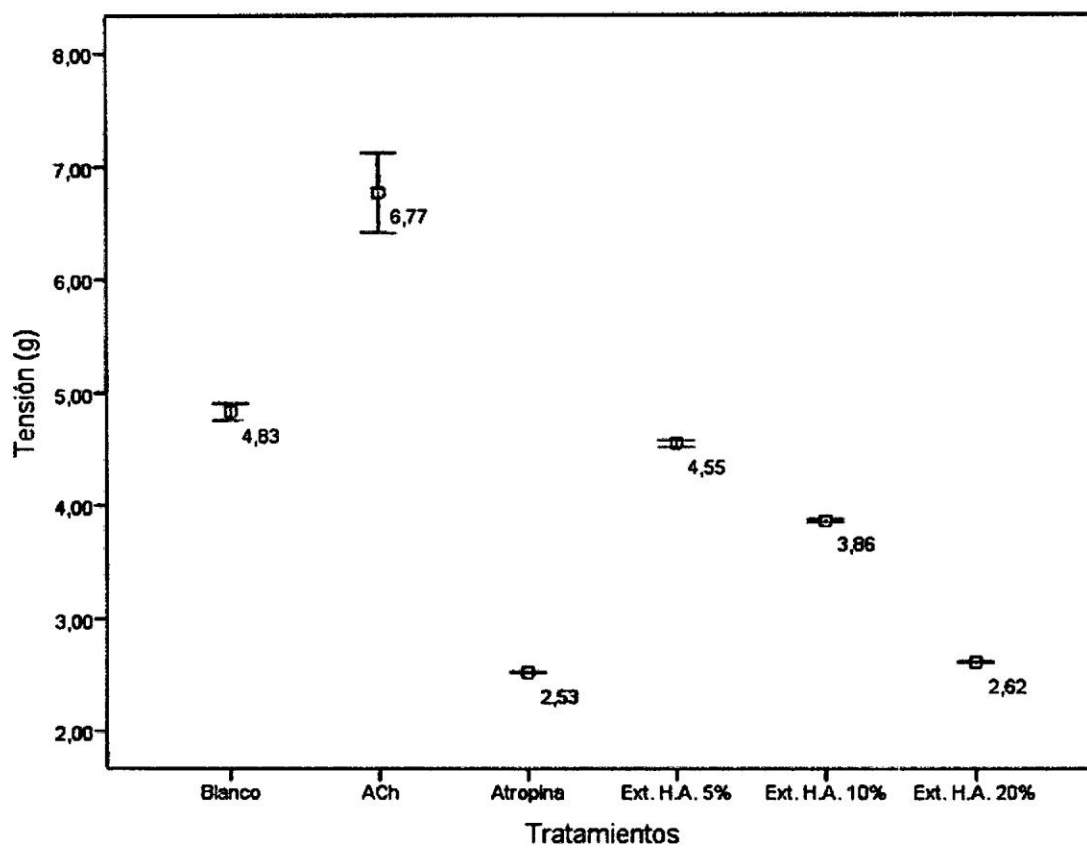


Figura 6. Tensión (g) de la contracción del íleon por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" con un nivel de confianza de ($p < 0,05$).

Leyenda:

ACh : acetilcolina (2×10^{-1} M)

Ext. H.A. 5% : extracto hidroalcohólico al 5%

Ext. H.A. 10% : extracto hidroalcohólico al 10%

Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%

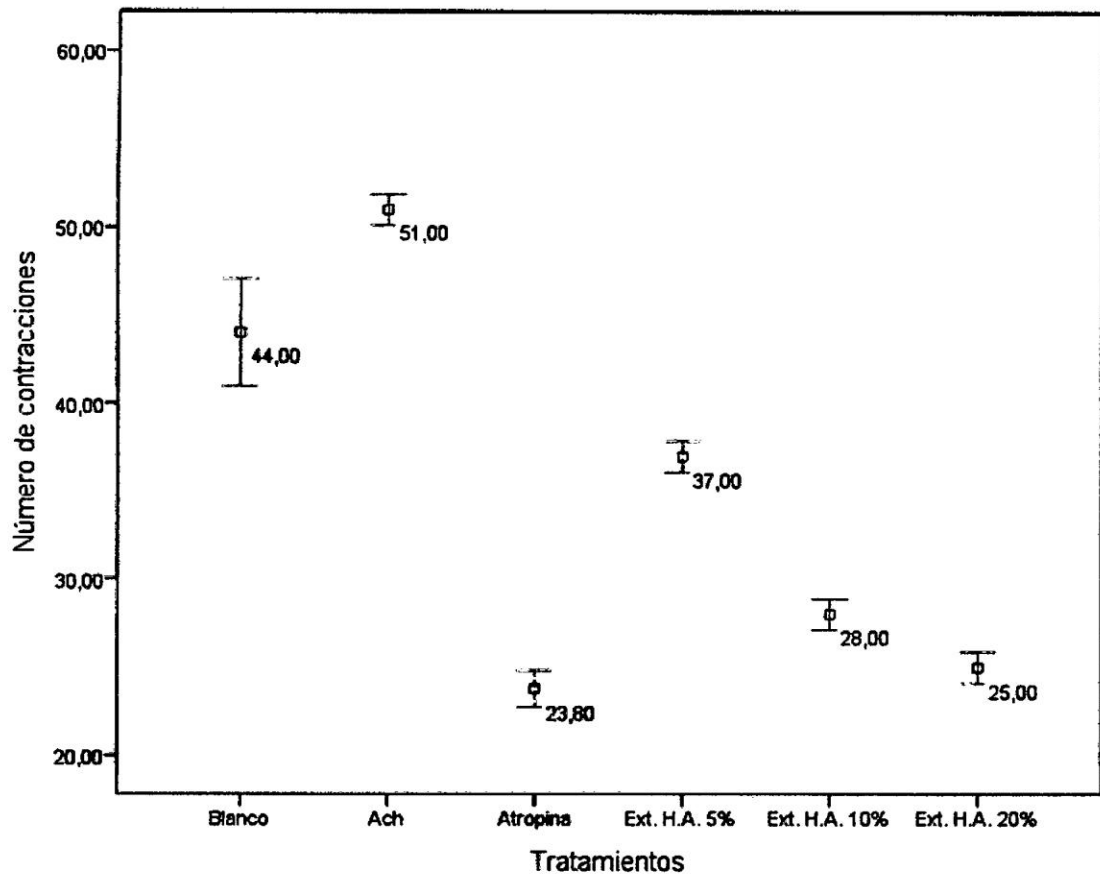


Figura 7. Número de contracciones del íleon por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" con un nivel de confianza de ($p < 0,05$).

Leyenda:

- ACh : acetilcolina (2×10^{-3} M)
- Ext. H.A. 5% : extracto hidroalcohólico al 5%
- Ext. H.A. 10% : extracto hidroalcohólico al 10%
- Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%

V. DISCUSIÓN

La familia *Chenopodiaceae* es una planta muy empleada en la medicina tradicional, pertenece a una gran familia de plantas que comprende alrededor de 102 géneros y 1400 especies. El género *Chenopodium* incluye variedades de hierbas y malas hierbas (más de 200 especies) nativas de Europa, Asia, América del Norte y del Sur. Está adaptada a climas cálidos y semicálidos, habita entre los 1300 y 2550 m.s.n.m. Se le atribuyen diversas propiedades medicinales y uno de ellos como antiespasmódico, lo que condujo a estudiar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" (Anexo 9). Muchas de estas especies poseen propiedades terapéuticas y comestibles.¹³

La extracción se hizo con etanol al 70% (Anexo 3), teniendo en cuenta que los compuestos con esta actividad son generalmente terpenos y flavonoides², que son más solubles en solventes de menor polaridad como el alcohol, éter, cloroformo, etc.⁴⁵

En la Tabla 2, se muestra los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico", donde se determinó que contienen en abundante proporción: Alcaloides, triterpenoides y/o esteroides, aminoácidos y flavonoides; y en menor proporción: lactonas y cumarinas, saponinas, aminas, taninos, antocianidinas y saponinas. Los mismos que concuerdan con los resultados reportados en investigaciones previas por Gutiérrez,⁴⁷ quien reporta que *Chenopodium ambrosioides* "paico" posee taninos, flavonoides, esteroides y alcaloides.

Por otro lado, también coincide con los resultados obtenidos en el *screening* fitoquímico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" en un estudio donde se empleó el extracto acuoso de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L.⁴⁸

Hallal⁴⁹, reportó la presencia importante de taninos gálicos, terpenos, esteroides, y también flavonoides y alcaloides.

Resaltando los ensayos fitoquímicos de Shinoda, Liebermann–Burchard, Dragendorf, Mayer, Wager 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.^{2,50}

Bringmann⁵¹, en estudios de plantas medicinales con actividad antiespasmódica tales como: *Argemone mexicana*, *Matricaria recutita*, *Lippia graveolens*, *Marrubium vulgare* y *Thymus vulgaris*, realizó la extracción de los principios activos con metanol a temperatura ambiente por su capacidad de extraer un mayor número de componentes en un solo evento, tanto los polares como los no polares. Además, el metanol es un solvente ampliamente utilizado en la obtención de extractos para la valoración de la actividad antiespasmódica de las plantas.

Aun no se ha establecido una base científica para comprobar la actividad antiespasmódica de la mayoría de plantas utilizadas en medicina tradicional para el tratamiento de los síntomas gastrointestinales como la dispepsia, cólicos intestinales, úlcera péptica, constipación y diarrea.⁵² La diversidad de modelos experimentales es grande, los empleados en los 242 estudios revisados indican que se encontraron con mayor frecuencia de experimentación *in vitro* (58%) con respecto a la realizada *in vivo* (42%). Todos los modelos son sencillos y los resultados reproducibles, dentro de los modelos *in vitro*, destaca la frecuencia en el uso del íleon aislado de cobayo (45.4 %), en segundo término se encontró la experimentación realizada en yeyuno aislado de conejo (17.7%). Es claro que un factor que repercute en el mayor porcentaje de frecuencia de uso para el modelo de IAC (Íleon aislado de Cobayo) sobre el de YAC (Yeyuno aislado de Conejo), aparte de las razones farmacológicas, es el económico.⁵²

La investigación de este trabajo se centró en el estudio de la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico". Se escogió el modelo farmacológico *in vitro* con íleon de cobayo. Por naturaleza intrínseca, el íleon de cobayo mantiene una baja contracción espontánea la cual es posible aumentar con diversos espasmógenos, entre otros acetilcolina a dosis conveniente. En el diseño de este trabajo experimental se

eligió como espasmógeno la acetilcolina por considerarla como el principal mensajero químico estimulante de la contracción del intestino, además la acetilcolina es capaz de modular la actividad de sus propias terminales colinérgicas y su respuesta puede tener valor para la posible aplicación terapéutica en la regulación de la motilidad del intestino.⁵³

El Íleon aislado de cobayo y yeyuno aislado de conejo, son herramientas útiles para revelar las propiedades agonistas o antagonistas de fármacos. IAC (Íleon aislado de Cobayo) es una preparación que se considera de mayor utilidad para detectar actividades colinérgicas o espasmogénicas. En tanto, YAC (Yeyuno aislado de Conejo) muestra contracciones rítmicas espontáneas y permite seguir el desarrollo de las pruebas para actividad espasmolítica directamente, incluso sin el uso de un agonista.⁵¹ Está bien establecido que los movimientos espontáneos del intestino son regulados por despolarización y repolarización periódicas. En la despolarización el potencial de acción se presenta con un rápido influjo de calcio, vía canales de calcio operados por voltaje, el cual cuenta para restablecer el tono y las respuestas contráctiles. La musculatura lisa es relajada por inhibidores de la entrada de calcio, tal relajación ha sido mostrada por músculos bronquiales, gastrointestinales y uterinos.⁵³

La técnica *in vitro* empleada, permite sustentar la hipótesis de que el uso tradicional de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" es de utilidad para tratar el cólico intestinal. Efectivamente, el efecto mostrado de igual manera con la administración de atropina (estándar), que tienen una acción espasmolítica o antimotílica establecida, da sustento al resultado encontrado con el extracto de interés. Trabajos similares, por citar algunos, donde practicaron la técnica *in vitro* dan fe de la eficacia de la técnica, con la evaluación de la actividad espasmolítica de *Piper auritum* H.B.K. en yeyuno aislado de conejo e íleon aislado de curiel.⁴ Del mismo modo, en el estudio de la actividad espasmolítica de una tintura de *Melissa officinalis* L. en íleon aislado de cobayo.⁵⁴ En ambos estudios también se empleó solución nutritiva de Tyrode y, dado que los receptores muscarínicos son elementos esenciales de la transmisión colinérgica de muchos procesos fisiológicos como el control motor, se emplea la acetilcolina como sustancia espasmógena con buena actividad *in vitro*.

En la Figura 5, detalla la variación de la altura de contracciones por efecto del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" a diferentes concentraciones (5, 10 y 20 %). Cada barra representa el valor medio de la

variación en la altura (mm), provocada por las contracciones (mm) inducidas por acetilcolina, donde se observó que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" de 20 % presentó mayor respuesta de relajación (3,47 mm) en comparación a la altura de las contracciones generadas por la acetilcolina (8,42 mm) y esta a su vez presentó una respuesta de relajación similar al de la atropina (3.36mm), en tanto las concentraciones al 5% y 10% redujeron la altura de las contracciones con menor respuestas de relajación comparado al 20% a 5,84 mm y 4,69 mm respectivamente. Se puede apreciar con claridad que, luego de la inducción de espasmo intestinal *in vitro*, la altura de las contracciones disminuye conforme la concentración del extracto se va incrementando. Del mismo modo, se refleja el antagonismo de la atropina sobre la respuesta contráctil cuando se incubaba la preparación. No sabemos su mecanismo de acción, pero al menos determinamos que los extractos contienen principios activos inhibidores de la contracción inducida con acetilcolina. Esto sugiere que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" poseen un mecanismo de acción alternativo al de la atropina, sin poder descartarse que actúen mediante el receptor muscarínico; y que dicho mecanismo está relacionado con la contracción mediada por canales dependientes del voltaje, ya sea actuando sobre canales iónicos que modifiquen la polaridad de la membrana o alterando la función de los componentes intracelulares implicados en la contracción del músculo liso intestinal.

La prueba de Tukey (Anexo 12) corrobora lo mencionado, donde el extracto de las hojas *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% y la atropina tienen respuestas estadísticamente semejantes, lo que reafirma su actividad espasmolítica *in vitro* ya demostrado también en otras especies de este género como *Chenopodium chilense*.⁴⁶

En la Figura 6, se grafica el mismo comportamiento, donde se observa la variación de la variable tensión (g). Las concentraciones ensayadas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" (5, 10 y 20 %) inhiben la respuesta contráctil inducida por el espasmógeno acetilcolina, lo cual aumenta proporcionalmente con el incremento constante de las concentraciones, observándose que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% redujo a 2,62 g la tensión generada por la acetilcolina (6,77 g) mostrando un efecto similar a la atropina (2,53 g) , en tanto las concentraciones de 5% y 10% también redujeron el grado de

tensión a 4,55 g y 3,86 g respectivamente. Se aprecia notoriamente la respuesta espástica del tejido preparado cuando, en primera instancia, fue estimulado con una concentración submáxima de acetilcolina (2×10^{-1} M). Este resultado fue similar al encontrado en estudios previos de diferentes investigadores. En efecto, según la literatura, se sabe que la acetilcolina, cuyos receptores se dividen en nicotínicos y muscarínicos, estimula el tono y el peristaltismo a todos los niveles del tracto gastrointestinal: tercio inferior del esófago, estómago, intestino delgado y grueso.³⁶ La acetilcolina es un neurotransmisor postganglionar en las neuronas del parasimpático que inerva el intestino. La respuesta a acetilcolina es regulada por activación de dos tipos de receptores muscarínicos (M_2 y M_3) que están asociados a diversos tipos de proteínas G. La activación de estos receptores origina un incremento en Ca^{++} intracelular, un efecto regulado por IP_3 que actúa sobre los almacenes de calcio internos.⁵⁵ La prueba de Tukey (Anexo 14) corrobora lo mencionado, donde el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% y la atropina tienen respuestas estadísticamente semejantes.

De otro lado, el estándar atropina disminuyó considerablemente la motilidad intestinal en términos de altura, fuerza tensión y número de contracciones, puesto que los fármacos antagonistas muscarínicos son sustancias que inhiben de forma preferente y competitiva los receptores colinérgicos muscarínicos, tanto en células que habitualmente reciben inervación colinérgica como en las que no la reciben, pero poseen dicho tipo de receptores. La atropina y la escopolamina son los fármacos antimuscarínicos mejor conocidos. Ambos son alcaloides naturales, ésteres del ácido trópico y de una base nitrogenada terciaria: la tropina o dl-hiosciamina (se encuentra en las plantas *Atropa belladonna* y *Datura stramonium*), y la escopina en el caso de la escopolamina o l-hioscina (se encuentra en *Hyoscyamus niger*). Las acciones farmacológicas de la atropina y escopolamina en los intestinos delgado y grueso se traduce en la reducción del tono, la amplitud y la frecuencia de las contracciones, aunque se requieren dosis elevadas para producir este efecto, ya que la actividad motora intestinal no sólo depende de fibras pre y posganglionares colinérgicas, sino que intervienen también otros muchos mediadores químicos.⁷

Podríamos proponer que uno o varios componentes del extracto al 20% de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico", al igual que la atropina, muestra similar afinidad por todos los subtipos de receptores muscarínicos estimulando

principalmente proteínas G que desencadenan la activación de la fosfolipasa C, con la consiguiente producción de IP₃ e IP₄ (movilización de Ca²⁺) y de diacilglicerol (activación de fosfoquinasa C), cuya consecuencia fundamental es la contracción muscular.

Uno de los compuestos importantes identificados en el extracto fueron los flavonoides. Los flavonoides han exhibido actividad antiespasmódica importante, hecho que se encuentra ampliamente documentado en la literatura. Este grupo ha merecido atención especial en los últimos tiempos. Existen flavonoides que han sido propuestos para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales como úlceras y diarrea aguda. La actividad espasmolítica de algunos flavonoides se ha indicado hace tiempo. En el sistema gastrointestinal, los flavonoides antiespasmódicos prolongan el tiempo de tránsito en el intestino delgado, inhiben la amplitud de la contracción fásica y disminuyen el tono de íleon aislado de cobayo, y antagonizan las contracciones inducidas en preparaciones de órgano aislado intestinal por varios agentes, entre ellos prostaglandinas E₂, acetilcolina, BaCl₂.⁶ Por ejemplo, dentro de los trabajos revisados se encuentran los relativos al aislamiento de los flavonoides quercetina entre los metabolitos activos presentes en *Psidium guajava*⁸ y *Matricaria chamomilla*, quercitrina (*Euphorbia hirta*), genisteína (*Genista tridentata*), sakuranetina (*Dodonaea viscosa*), rutina (*Conyza filaginoides*), bisabolol (*Matricaria chamomilla*), entre otros⁶, con los que se han obtenido efectos dosis dependiente similares al nuestro los que contribuyen a respaldar nuestros resultados.

En la Figura 7, se observa el número de contracciones generadas por los tratamientos, en las que se evidencia que la atropina disminuye el número de contracciones inducidas por la acetilcolina de 51 a 23, seguida del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% a 25, nótese que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% y la atropina redujeron el número de las contracciones muy similares numéricamente, en tanto los extractos hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 5% y 10% disminuyeron el número de contracciones a 37 y 28 respectivamente. Las concentraciones de 5% y 10% disminuyeron con menor efectividad. La prueba de Tukey (Anexo 16) muestra que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% y la atropina tienen respuesta estadísticamente semejantes.

Al realizar el análisis de varianza del grado de la altura, tensión, el número de las contracciones (Anexo 11, 13 y 15) se encontró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las respuestas inhibitorias de las diferentes concentraciones de extractos ensayados y el estándar, mostrando que las tres concentraciones trabajadas tienen efecto antiespasmódico, siendo el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% el que presenta mejor efecto antiespasmódico muy cercano a la atropina.

Estableciéndose así una relación dosis-respuesta, puesto que a mayor dosis se obtuvo una mayor disminución de la altura, tensión y número de contracciones en íleon aislado de cobayo.

El extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% provocó mayor disminución, de manera significativa ($p < 0,05$), de la contracción inducida por acetilcolina en relación con los extractos al 5 y 10 %. Se estableció a su vez diferencias significativas entre estos últimos. Cabe destacar que el estudio Ruíz y col.⁵⁶ con la tintura de *Melissa officinalis* al 20% mostró una acción antiespasmódica; señalando además que muy notable resultó el hecho de que la actividad de la *Melissa* se manifestó con dosis-dependiente en incremento constante, comparable en actividad con la papaverina *in vitro*.

Espinoza⁸ determinó el efecto de la *Melissa officinalis* L. y reportó que el extracto acuoso presenta mejor efecto antiespasmódico que el metanólico generando una disminución de la contracción en 64.66% y 49.85% respectivamente, mejor que la atropina que solo tuvo 42,58% de efecto. En el presente trabajo el mejor efecto lo presentó la atropina como se observa en las (Figuras 5, 6 y 7); al igual que en los estudios realizados por Yuncacallo¹⁰ con la *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. Esto nos permite corroborar lo ya mencionado, que los metabolitos secundarios responsables de este efecto se encuentran en mayor cantidad en solventes de menor polaridad, el extracto clorofórmico contiene terpenos y flavonoides de acuerdo a las pruebas realizadas. También determinaron la presencia de estos compuestos en el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii*, atribuyéndole el efecto antiespasmódico principalmente a los triterpenos.¹⁰

También podemos mencionar al Tomillo⁵⁷, fármaco constituido por las sumidades aéreas desecadas de *Thymus vulgaris* L. y *Thymus zygis* L. cuyo

efecto antiespasmódico se debe al timol y al carvacrol del aceite esencial, que se cree tienen la capacidad de inhibir la disponibilidad del calcio, con lo que podrían bloquear la conducción nerviosa. La actividad de los terpenos podría deberse a la liposolubilidad que presenta el intestino, haciendo que estos atraviesen con facilidad las membranas y puedan ejercer su acción.

Pero no debemos olvidar que los flavonoides presentes también cumplen un papel importante como antiespasmódicos ya que estos compuestos tienen comprobada actividad como relajante del músculo liso, inhibiendo el influjo de Ca^{+2} , disminuyen el tono del íleon aislado de cobayo, además antagonizan las contracciones inducidas en preparaciones de órgano aislado intestinal por varios agentes, entre ellos prostaglandinas E_2 , $BaCl_2$ y acetilcolina.²

Vega⁵⁸ en un trabajo similar, se demostró que *Ocimum gratissimum* bloqueaba el espasmo provocado por el agonista colinérgico de forma similar en magnitud que la inhibición evidenciada por la atropina (62,25 y 94,31 % de inhibición, respectivamente). Dicho efecto se estudió en fracciones aisladas, a partir de las hojas de *Ocimum gratissimum* por extracción lipídica y cromatografía de capa delgada, lo cual dio como resultado la existencia de algunos componentes, que disminuyen el efecto agonista de la acetilcolina sobre el íleon de cobayo y el cólon de rata. De ello surgió la hipótesis que, al ser extraíbles con solventes lipídicos, pudieran considerarse como lípidos o sustancias muy relacionadas con éstos.

Otros estudios con varios tipos de compuestos (ácidos grasos modificados, cerebrósidos y lisofosfolípidos) han indicado que la actividad espasmogénica depende de una insaturación y de la presencia de grupos hidroxílicos esenciales organizados específicamente.⁹ Esto podría constituirse como un punto de observación para determinar qué tipo de compuestos presentes en *Chenopodium ambrosioides* son los responsables del efecto estudiado. Del mismo modo, la acción antimuscarínica del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* podría ocurrir por la acción de un compuesto tipo éster intacto y un grupo hidroxilo libre presente en la molécula, como sucede con la atropina.⁶

Diez¹⁵ en estudios previos se demostró una ligera actividad antiespasmódica de la infusión de *S. brevicalex* Epl., frente al N-butilbromuro de hioscina; este resultado podría deberse al medio usado para la extracción de principios activos

responsables de esta actividad, así como se observó en otras especies donde los extractos metanólicos y hexánicos tuvieron mejores respuestas antiespasmódicas frente al extracto acuoso. Además de que en estudios posteriores los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* Epl. mostraron tener un efecto antiespasmódico similar al del estándar¹³, al igual que en el presente trabajo, donde las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" manifestaron tener efecto antiespasmódico en diferente grado, siendo la concentración al 20%.

La presencia de un nitrógeno cuaternario o terciario permite a la acetilcolina fijarse al grupo aniónico de su receptor, además que la fijación al grupo esterofílico se realiza por uniones dipolo del enlace éster. La atropina en su estructura química también presenta nitrógeno y un puente éster por ello se comporta como antagonista competitivo de la acetilcolina y otros estimulantes muscarínicos.⁴⁰

El antagonismo como es de tipo competitivo, puede verse superado por un incremento en la concentración de acetilcolina en los sitios receptores.²⁸

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.³⁸ Ahora bien, de este mecanismo mencionado, se puede explicar el posible mecanismo de acción extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico"; 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.

Finalmente podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" tiene efecto antiespasmódico, siendo la concentración al 20% la que presenta un efecto similar al de la atropina.

A pesar de los resultados positivos que se ha obtenido en el presente trabajo de investigación, no podemos aventurarnos y recomendarlos a la población en su uso para las afecciones como antiespasmódicos, ya que la investigación realizada sirve para sentar bases y reconocer el gran valor de esta planta *Chenopodium ambrosoides* L "paico" dentro de la medicina herbológica, previo ensayos clínicos y preclínicos, toxicológicos. Y así lograr incluir en la terapia alternativa a dicha planta.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" tiene efecto antiespasmódico, por disminuir la tensión, número y altura de las contracciones generadas tras la administración de acetilcolina.
2. Se logró identificar la presencia de metabolitos secundarios presente en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" como: alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, compuestos triterpénicos y/o esteroides, cumarinas, aminoácidos.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" al 5 y 10% tienen menor actividad antiespasmódica en comparación a la atropina.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" al 20% presenta mayor actividad antiespasmódica en relación a las concentraciones ensayadas.

VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar y elucidar las estructuras de los metabolitos secundarios responsables de la actividad antiespasmódica que podrían ser los flavonoides o los alcaloides, quienes se encuentran presentes en las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico".
2. Realizar estudios comparativos al extraer con otros tipos de solventes las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico".
3. Complementar el estudio toxicológico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico".
4. Evaluar el posible mecanismo de acción.
5. Desarrollar una forma farmacéutica con el principio activo aislado.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alba RC, Camacho R, Polanco M, Gómez S. Efecto relajante de las hojas de *Ocimum basilicum* y *Foeniculum vulgare* colombianas en ileon 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>
2. Astudillo VA, Mata R, Navarrete A. El reino vegetal, fuentes de agentes antiespasmódicos gastrointestinales y antidiarreicos. Rev. Latinoamer. Quim. [revista en internet] abril 2009. [acceso en junio 2012]; 37(1). Disponible en: <http://www.relaquim.com/archive/2009/p2009371-7.pdf>
3. Cotillo, P. 1998. Farmacología, mecanismos de acción y glosario. Editorial. UNSCH. Ayacucho, Perú.
4. García M, Martínez T, Morón R. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. REV CUBANA PLANT MED [revista en internet] enero - abril 2001. [acceso en julio de 2012]; 6(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962001000100005&script=sci_arttext
5. Vera B. 2008. Tesis. Estudio fitoquímico de una planta de la flora del ecuador: *ambrosia arborescens*. Escuela politécnica del ejército. Departamento de ciencias de la vida. Ingeniería en biotecnología.
6. Arias R, Toma Z, Aguilar F, Ramírez R, Shimabuku A, Suárez C. Neuroprotección del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" en un modelo animal de hiperoxia e hipoxia isquemia. An. Fac. Med. [revista en internet] julio - setiembre 2012. [acceso en noviembre de 2012]; 73(3). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102555832012000300008&script=sci_arttext
7. Sosa, K. 2004. Tesis. Efecto antiespasmódico de la infusión de *Rosmarinus officinalis* L. "romero" en ileon aislado de cobayo. Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
8. Espinoza P. 2004. Tesis. Efecto antiespasmódico del extractos de *Melissa officinalis* L. "toronjil". Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
9. Espinoza, A. 2005. Tesis. Evaluación del antiespasmódico del extracto fluido de las hojas de *Marrubium vulgare* L. "ojejore" en ileon aislado del "cuy". Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
10. Yuncacallo L. 2005. Tesis. Efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pampa salvia" en ileon aislado de "cuy". Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
11. Gracia A., Martínez, M. y Morón, F. 2000. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. Rev. Cubana PlantMed 2001, vol. 3. N° 1 p. 19-22.
12. Gonzales AG. Actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2011.

13. Kokanova-Nedialkova Z., Nedialkov PT, Nikolov SD. The genus chenopodium: Phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology. *Pharmacognosy Reviews*. 2009; 3(6):280. <http://www.conservationandsociety.org/article.asp?issn=0973-7847;year=2009;volume=3;issue=6;spage=280;epage=306;aulast=Kokanova-Nedialkova>
14. 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>.
15. 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.
16. Guauque, M. Castaño, J., y Gómez, M. 2010. Detección de metabolitos secundarios en *Ambrosia peruviana* Willd y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica. *Infect. vol.14 no.3* Bogotá.
17. Laura Aucasime M. Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal de Huamanga; 2013.
18. Macdonald D., Vancrey, K., Harrison, P., Rangachari, P.K., Rosenfeld., J., Warren, C., Sorger, G. 2004. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocide(s) that is (are) not toxic to mammalian smooth muscle. *J. Ethnopharmacol.*, 92(2-3):215-221.
19. Díaz J. (2003). Informe Técnico. Caracterización del mercado colombiano de plantas medicinales y aromáticas. Instituto Alexander Von Humboldt- El Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogotá D.C., Colombia.
20. Cisneros F. (Ayacucho 2002) En "Efectividad del zumo de paico (*Chenopodium ambrosoides*), semilla de zapallo (*Cucurbita máxima*) y un levamisol en el tratamiento de la gastroenteritis verminosa en alpacas en la unidad de producción Allpachaka - 4000 msnm. 2002."
21. Caicedo G. 2004. Manual de Investigación y Evaluación Fotoquímica de diferentes plantas medicinales S.N., Colombia, pp. 23-24.
22. Duke J., Handbook A. Of Medicinal Herbs. CRC Press, Inc., Boca Ratón, USA, pp. 797-808; 1985.
23. Taylor L. The healing power of Rainforest herbs. Square One Publishers, Inc., Garden City Park, USA, pp. 535; 2005.
24. Domínguez, Juan A.: (1928), Contribuciones a la Materia Médica Argentina - Bs. A.s, Ed. Peuser, 10, 37, 40,87, 302/5, 308/14 - 413 pp.
25. Gutiérrez J. y Huarcaya, H. (1992). Paico, Wallwa y semilla de Palta como tratamiento antiparasitario en el pueblo joven de Villa San Cristóbal. Ayacucho. Tesis EFP Enfermería. UNSCH.
26. Cáceres A. (1996). Plantas de uso medicinal en Guatemala. Edit. Universitaria. Universidad San Carlos de Guatemala.
27. Romero M. Evaluación de las plantas medicinales con propiedades Antioxidantes en los distritos de Carmen Alto y Quinoa del departamento de Ayacucho [Tesis]. Ayacucho Informe de investigación del Instituto de Investigación en Ciencias Biológicas. UNSCH; 2006.
28. Cruz G. Relación Flavonoides Totales - Actividad Antidiabética (*in vitro* por difusión de glucosa) en extractos de *Colubrina elliptica*. [Tesis de pregrado]. México: Universidad Tecnológica de la Mixteca; 2012.

29. López L. Flavonoides. OFFARM. Vol 21 núm. 4 abril: 108-114. México; 2002.
30. Di Carlo, Mascolo, Izzo AA, Capasso F. Flavonoids: old and new aspects of a class therapeutic drugs. Life Science (1999); 65:337-353.
31. Lamb JF, Ingram CG, Joh IA, Pitman RM. Fundamentos de Fisiología. 2ª ed. Zaragoza: AcribiaS.A.; 1987.
32. Berne R, Levy M. Fisiología. Madrid. Mosby/Doyma; 1995.
33. Guyton AC. Tratado de Fisiología Médica de Guyton. 11ª ed. Madrid: Elsevier Science; 2006.
34. 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
35. Córdova A., Ferrer, R. Muñoz, M.E. Villaverde, C. Compendio de Fisiología para ciencias de la salud: Funciones generales del aparato digestivo. Madrid: Mac Graw Hill Interamericana, 1994. p. 499
36. Mazzone A, Farrugia G. Evolving Concepts in the Cellular Control of Gastrointestinal Motility Neurogastroenterology and Enteric Sciences. Gastroenterol Clin N Am 2007; 36:499–513. 2. Burns A, Roberts R, Bornstein JC. Development of the enteric
37. Flores J. Farmacología humana 3ª ed. Barcelona: Editorial Masson S.A.; 1997.
38. Flores SM, Segura TJ. Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. Rev. Mex. Neuroci. [revista en internet] 2005. [acceso mayo 2013]; 6(4). Disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmexneu/rmn-2005/rmn054f.pdf>
39. Barret K. Intestinal Motility. En: Barret, K. Gastrointestinal Physiology, Lange. California: McGrawHill; 2007. p. 153-67.
40. Velasco Martín A, Lorenzo Fernández P, Serrano Molina J, Andrés-Trelles F. Velázquez Farmacología. 16ª ed. España: McGraw-Hill – Interamericana de España; 1993.
41. Velasco MA, Fernández PL, Serrano MJ, Trelles FA. Velázquez Farmacología. 16ª ed. España: McGraw-Hill – Interamericana de España; 1993.
42. Calvo RC. Aspectos actuales en nutrición infantil. La prevención y el tratamiento del cólico del lactante. BOL. PEDIATR. [revista en internet] 2010 [acceso mayo 2013]; 50(213). Disponible en: http://www.sccalp.org/documents/0000/1634/BolPediatr2010_50_197-202.pdf
43. Hardman JG, Limbird LE, Molinof PB, Ruddon RW, Goodman GA. Goodman&Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 2003.
44. Formulario modelo de la OMS 2004, Fármacos en patología gastrointestinal. Antiespasmódicos. [sede Web]. who.int/es/; 2013- [actualizada el 3 de mayo de 2013; acceso 5 de junio de 2013]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/21.5.html#Js5422s.21.5>
45. Miranda MM, Cuellar CA. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Habana: Instituto de farmacia y alimentos; 2000.
46. Serrano, L. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de íleon de cobayo [Tesis doctoral]. España: Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2005.

47. Gutiérrez J, y Huarcaya, H. (1992). Paico, Wallwa y semilla de Palta como tratamiento antiparasitario en el pueblo joven de Villa San Cristóbal. Ayacucho. Tesis EFP Enfermería. UNSCH.
48. Monzote, L., Montalvo, A.M., Almanonni, A.S., Scull, R., Miranda, M., Abreu, J. 2006. Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*. *Chemotherapy*, 52(3):130-136.
49. Hallal A, Benali S, Markouk M, Bekkouche K, Larhsini M, Chait A, et. al. Evaluation of the analgesic and antipyretic activities of *Chenopodium ambrosioides* L. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*. 2010; 1(1):189-192. <http://www.ajebs.com/vol1/30.pdf>
50. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega; 2003.
51. Bringmarm G., K. Messer, et ai. (2002). "Dioiicophylliae E from *Dioiicophyllum tholionii*, the first 7,3'-coupled dioncophyilaceous naphthylisoquinoline alkaloid" *Phytochemistry*. 60(4): 38
52. Williamson EM, Okoako DT, Evans FJ (1996). *Pharmacological Methods in Pnyiotherpy Research*. Wiley and Sons.
53. Gilani A.H., Ghayur, M.N., Khalid, A., Haq Z., Choudhary, M.I., Rahman A. (2005b) Presence of antispasmodic, antidiarrheal, antisecretory, calcium antagonist and acetylcholinesterase inhibitory steroidal alkaloids in *Sarcococca saligna*. *Planta Medica* 71: 120-125.
54. Marcoli M, Scarrone, S., Maura, G., Bonanno, G., Raiteri, M. (2000). "A subtype of the γ -ammobutyric acid receptor regulates cholinergic twitch response in the guinea pigileum." *1 Pharmacol F.xp Ther.* 293: 42-47.
55. Dar A., Channa, S. (1999) Calcium antagonistic activity of *Bacopa monniera* on vascular and intestinal smooth muscles of rabbit and guinea-pig. *Journal of Ethnopharmacology* 66: 167-174.
56. Ruiz SA, De la Paz NJ, García MA, Sebazco PC, Carrazana LA, Pereira RE. Actividad espasmolítica de una tintura de *Melissa officinalis* L. en modelos experimentales. *Rev Cubana Plant Med.* [revista en internet] 2004. [acceso noviembre de 2012]; 9(3). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9_3_04/pla03304.htm
57. López LT. Tomillo. Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. *Revista de fitoterapia* [revista en internet] enero 2006. [acceso noviembre de 2012]; 25(1). Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13083626&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v25n01a13083626pdf001.pdf&ty=74&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es.
58. Vega MR, Carrillo DC. Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 1997; 2(2):14-18. Berardi, A. Etnofarmacología gastrointestinal de plantas medicinales argentinas del género *Aloysia*, familia *Verbenaceae*: mecanismos de acción y relación con los principios activos [Tesis para optar la maestría]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2012.

ANEXOS

Anexo 1.

Certificado de la identificación botánica de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" Ayacucho - 2013.



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, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Liliam Jenniffer, FLORES CHÁVEZ, 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	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	CHENOPODIACEAE
GENERO	:	<i>Chenopodium</i>
ESPECIE	:	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.
N V.	:	"paico"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 24 de Setiembre del 2013

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

Dña. Laura Perdomo Sánchez
JEFE

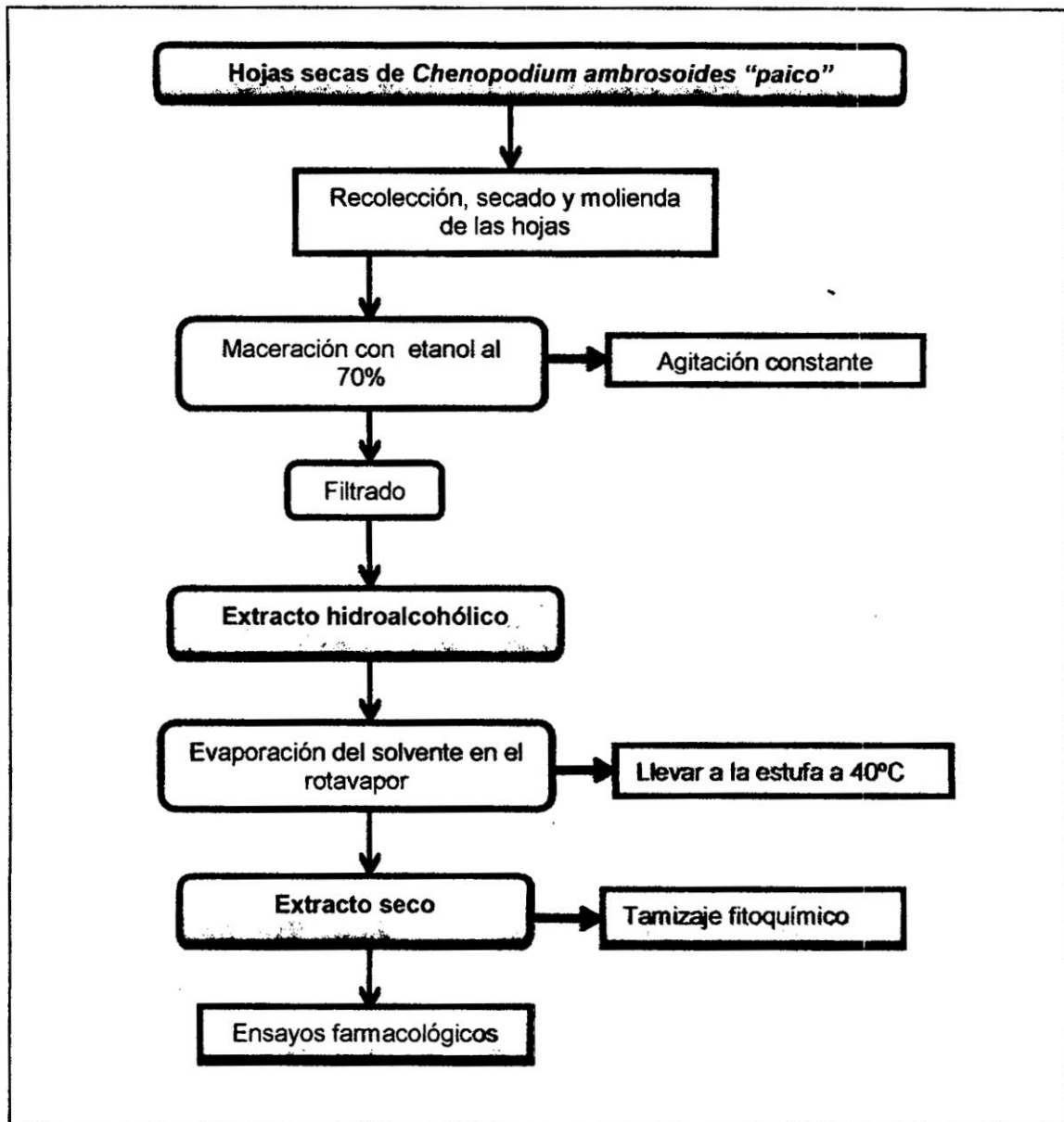
Anexo 2.

Recolección de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región de Ayacucho - 2013.



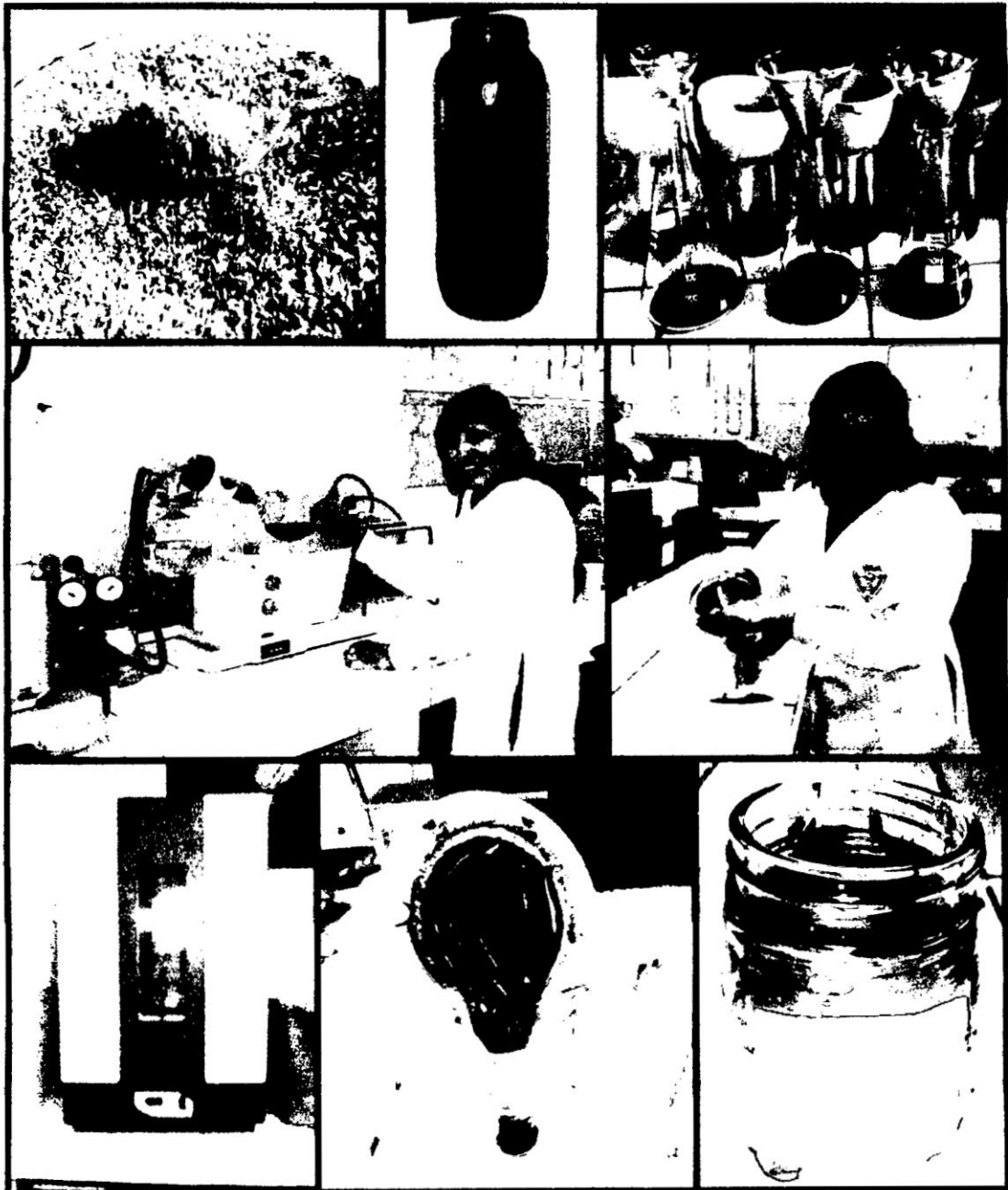
Anexo 3.

Flujograma de la obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región de Ayacucho - 2013.



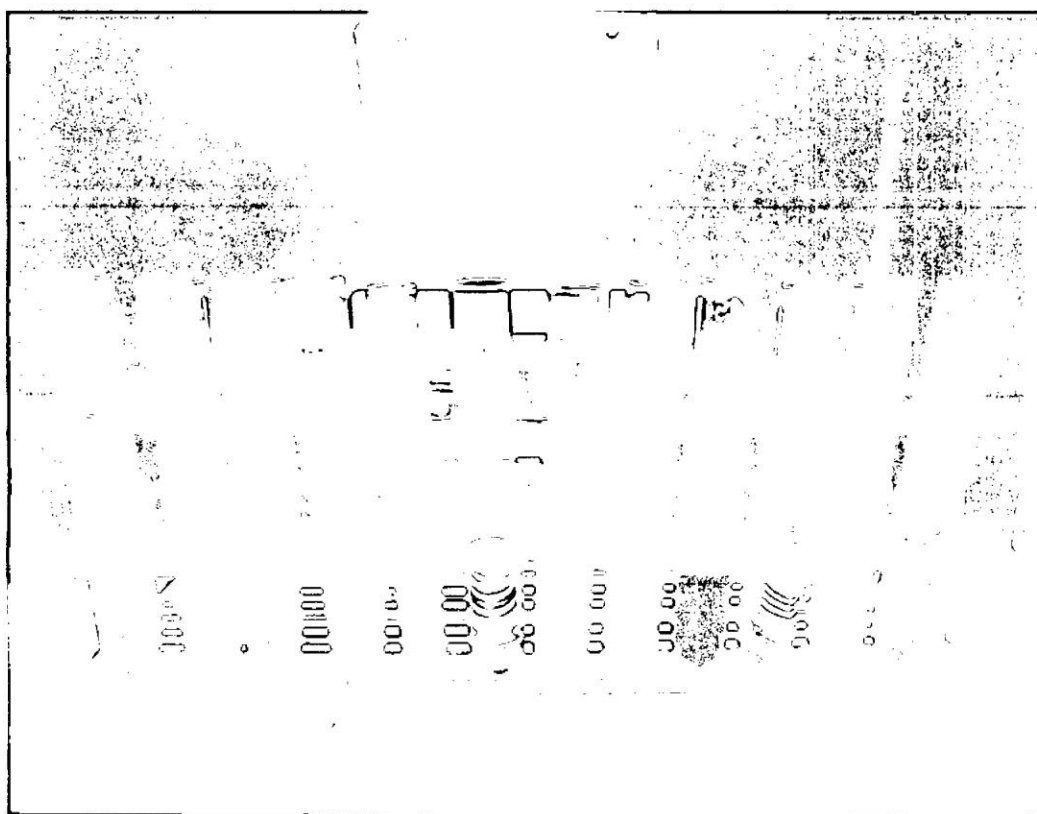
Anexo 4.

Hojas secas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico", maceración, filtrado, tintura madre, concentración y obtención del extracto blando.



Anexo 5.

Tubos de ensayo del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" realizado en el laboratorio de Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - 2013.



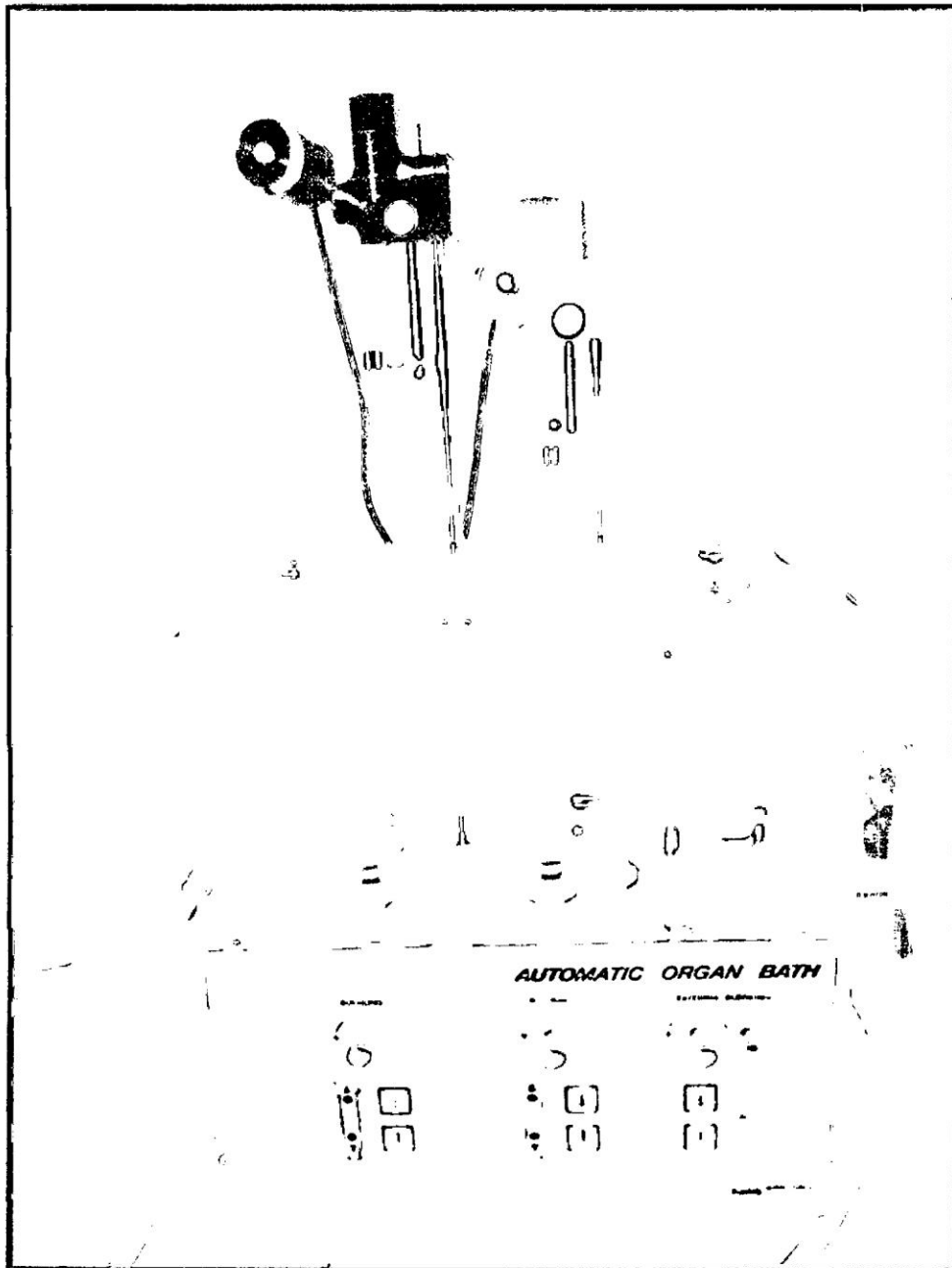
Anexo 6.

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	csp. Para 1 000 ml

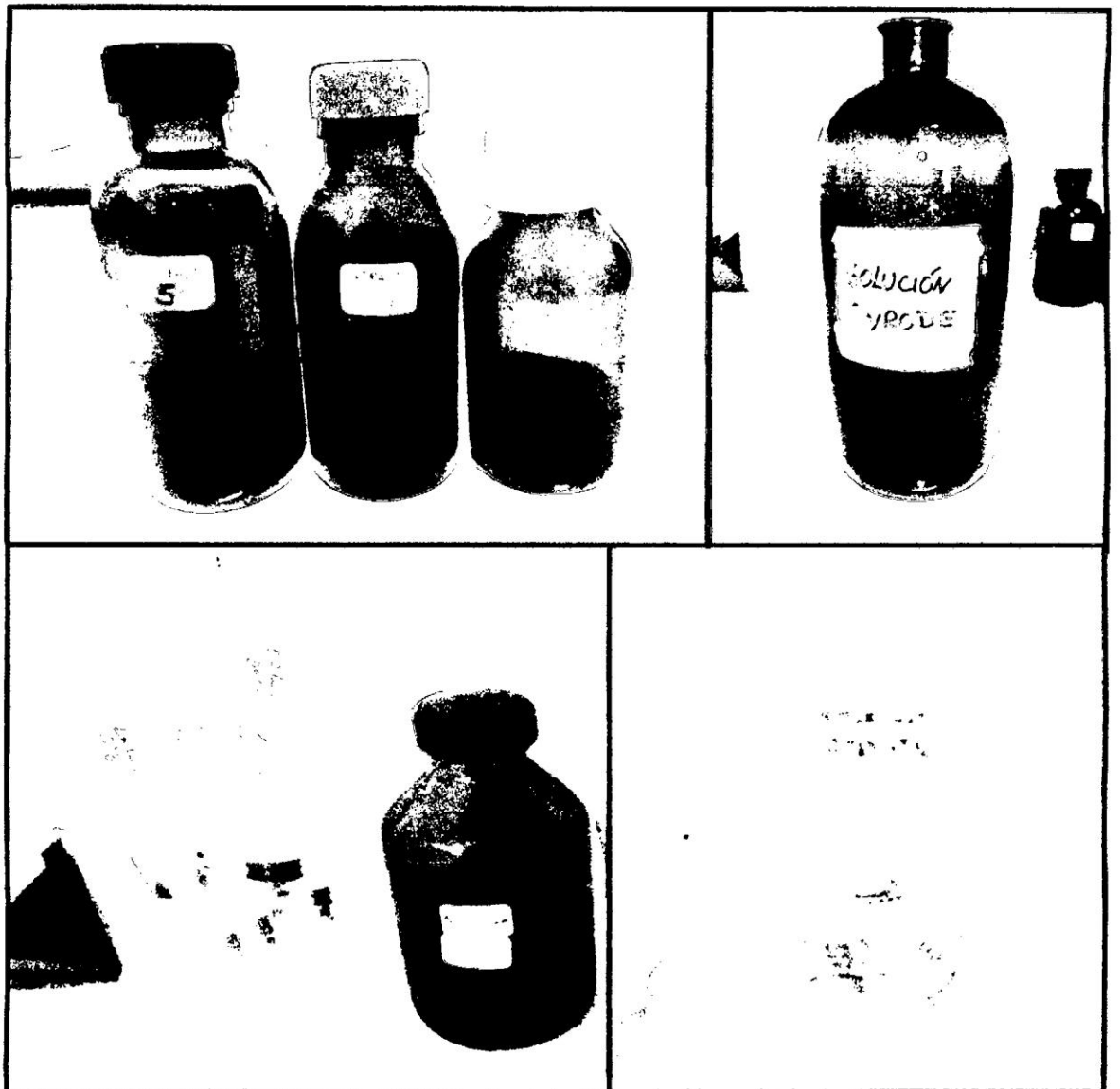
Anexo 7.

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



Anexo 8.

Preparación del extrato hidroalcohólico al 5%,10% y 20%; solución Tyrode, acetilcolina y jeringas rotuladas para la administración para cada uno de los tratamientos.

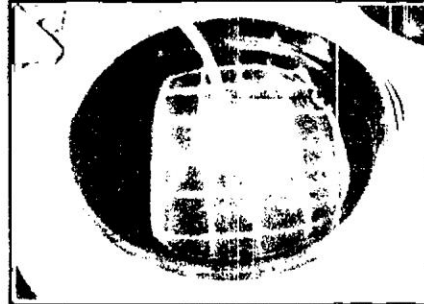


Anexo 9.

Flujograma del efecto antiespasmódico del extrato hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo".



Obtención del íleon de cobayo



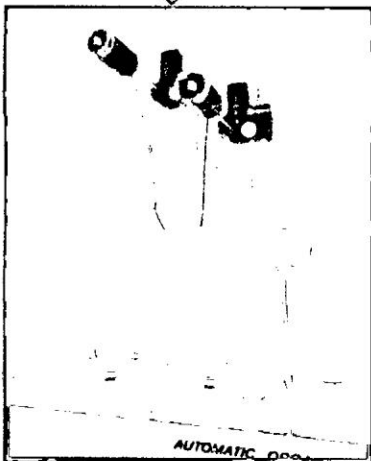
Lavado del íleon con solución tyrode



Fijar el íleon a los ganchos del transductor



Amarrar el íleon por ambos lados



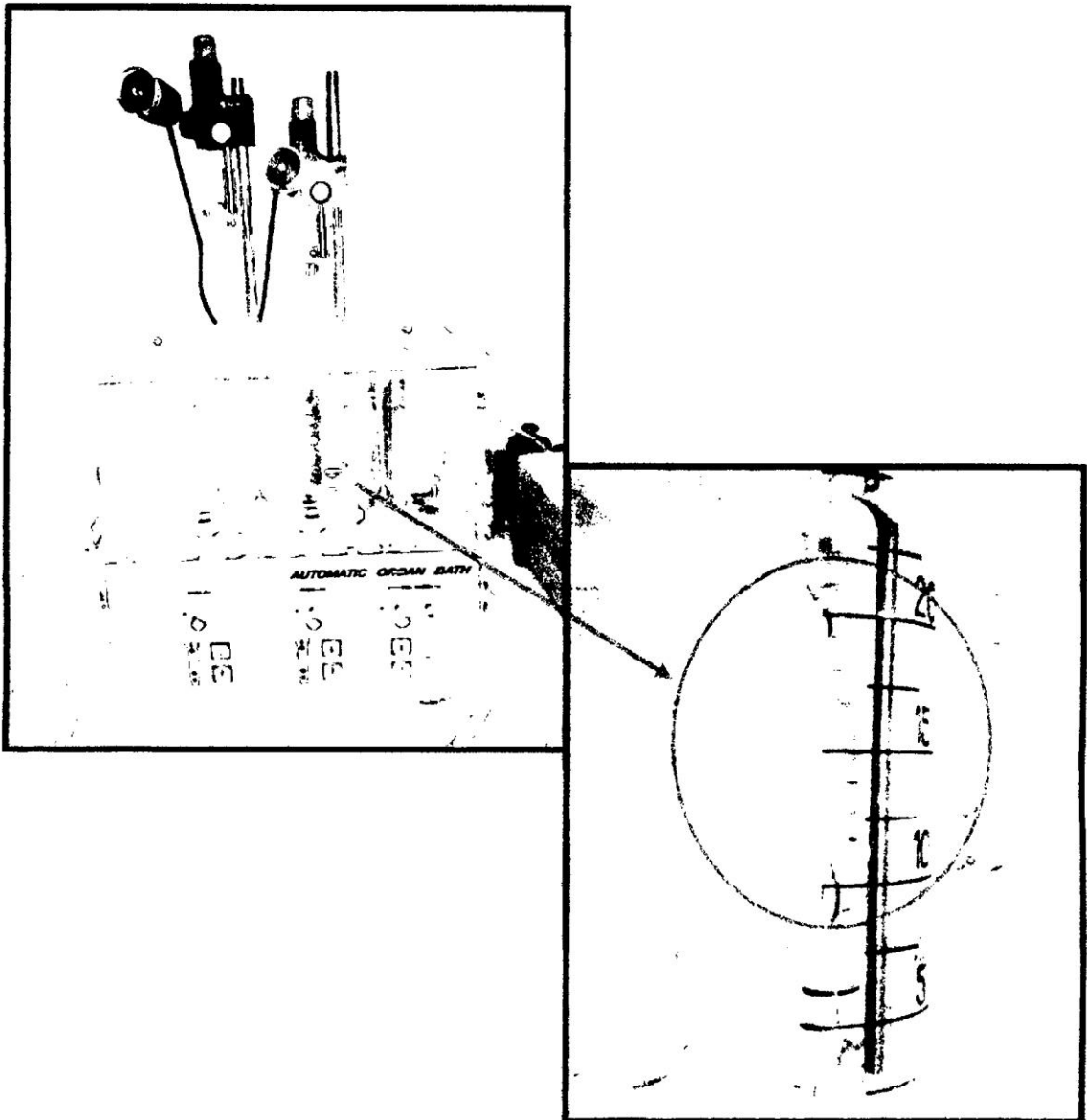
Administrar los tratamientos



Leer los datos registrados en la computadora

Anexo 10.

Íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo" acondicionado en el baño de órganos.



Anexo 11.

Análisis de varianza de la altura de las contracciones generadas por la contracción del íleon aislado por efecto de los tratamientos.

ANOVA

Altura (mm)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	91,905	5	18,381	1076,938	,000
Dentro de grupos	,410	24	,017		
Total	92,315	29			

Anexo 12.

Prueba de Tukey de la altura de las contracciones generadas por la contracción del íleon aislado por efecto de los tratamientos.

HSD Tukey^a

	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Atropina	5	3,3600				
Ext. H.A. 20%	5	3,4712				
Ext. H.A. 10%	5		4,6924			
Ext. H.A. 5%	5			5,8364		
Blanco	5				6,2434	
ACh	5					8,4200
Sig.		,757	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5.000.

Anexo 13.

Análisis de varianza de la tensión generada por la contracción del ileon aislado por efecto de los tratamientos.

ANOVA

Tensión (g)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	62,840	5	12,568	884,350	,000
Dentro de grupos	,341	24	,014		
Total	63,181	29			

Anexo 14.

Prueba de Tukey de la tensión generada por la contracción del íleon aislado por efecto de los tratamientos.

HSD Tukey^a

VAR00001	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Atropina	5	2,5266				
Ext. H.A. 20%	5	2,6192				
Ext. H.A. 10%	5		3,8618			
Ext. H.A. 5%	5			4,5540		
Blanco	5				4,8346	
ACh	5					6,7742
Sig.		,819	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5.000.

Anexo 15.

Análisis de varianza del número de contracciones generadas por la contracción del ileon aislado por efecto de los tratamientos.

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3076,000	5	615,200	424,276	,000
Dentro de grupos	34,800	24	1,450		
Total	3110,800	29			

Anexo 16.

Prueba de Tukey del número de contracciones generadas por la contracción del íleon aislado por efecto de los tratamientos.

HSD Tukey^a

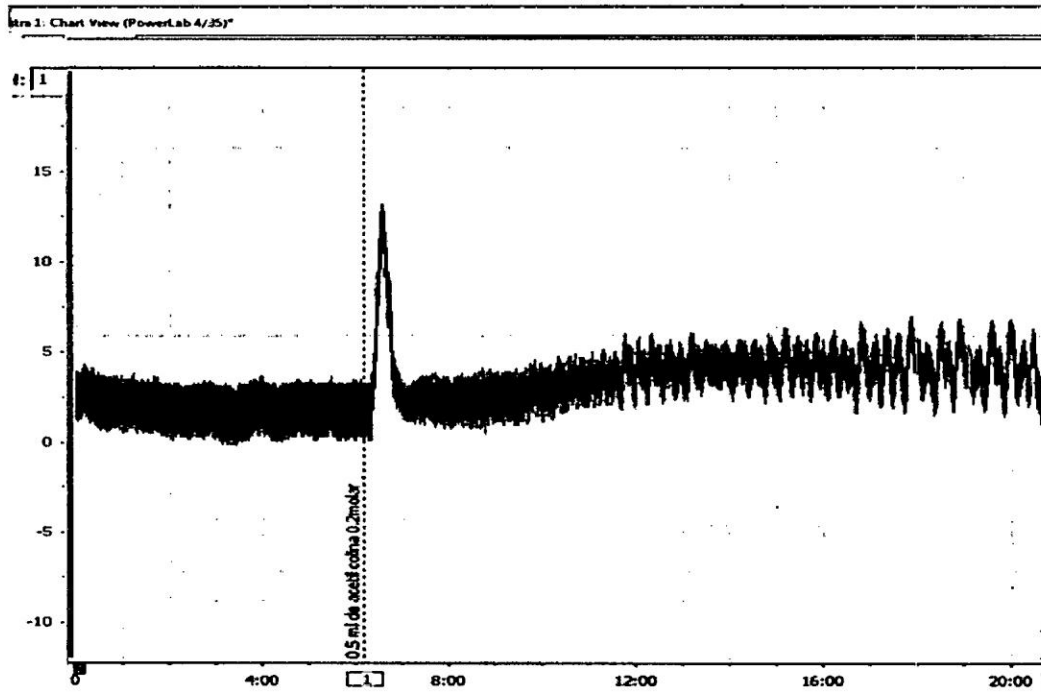
VAR00001	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Atropina	5	23,8000				
Ext. H.A. 20%	5	25,0000				
Ext. H.A. 10%	5		28,0000			
Ext. H.A. 5%	5			37,0000		
Blanco	5				44,0000	
Ach	5					51,0000
Sig.		,621	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5.000.

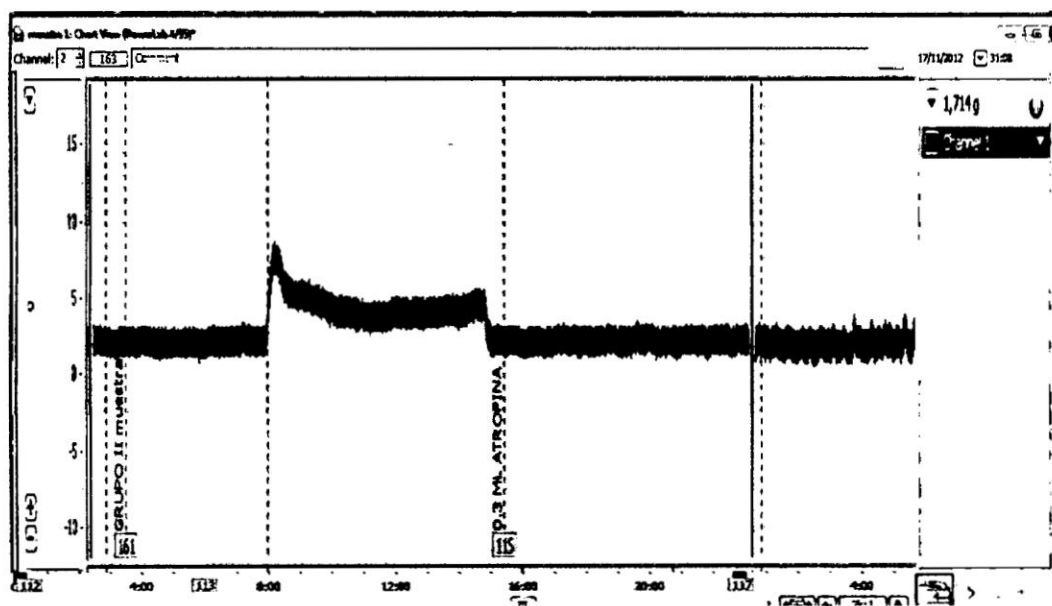
Anexo 17.

Respuesta gráfica de íleon tras la administración de acetilcolina (2×10^{-1} M).



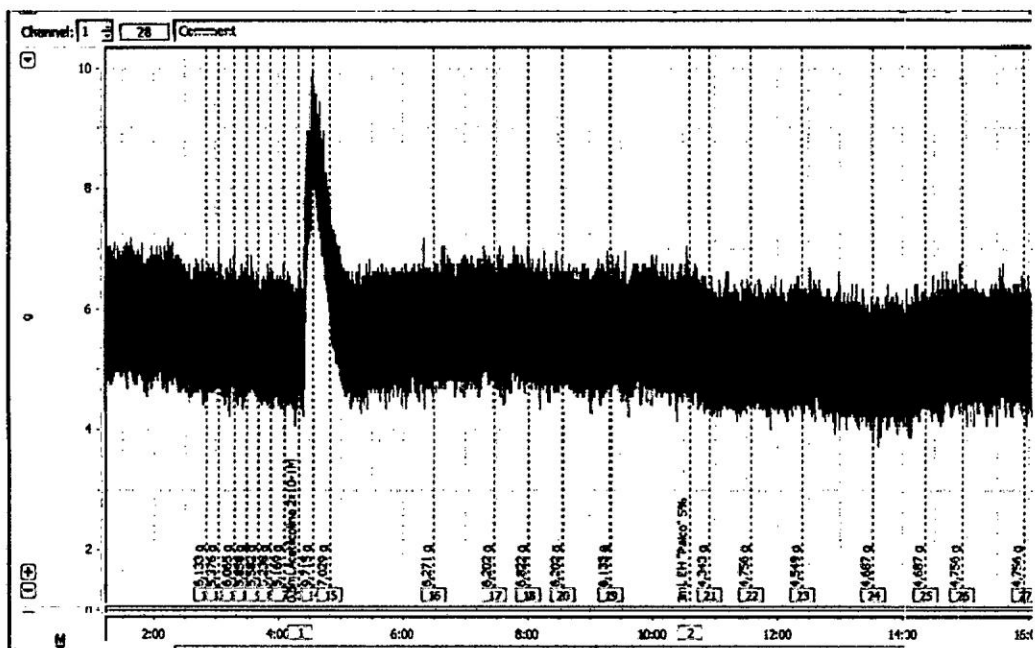
Anexo 18.

Respuesta gráfica de íleon tras la administración de acetilcolina (2×10^{-1} M) y atropina.



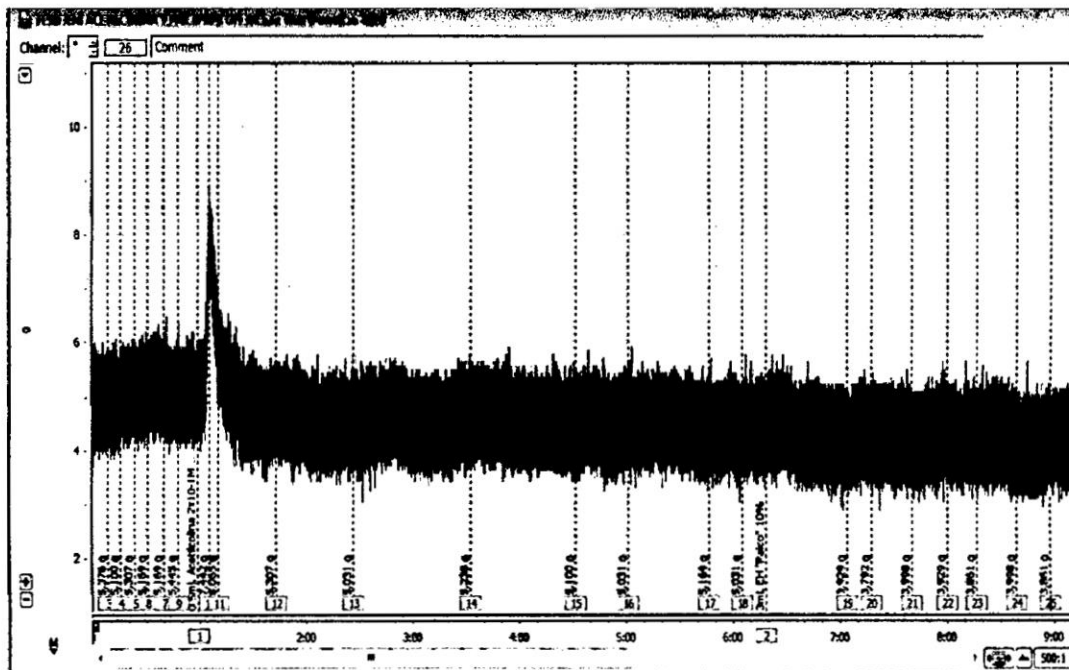
Anexo 19.

Respuesta gráfica de íleon tras la administración de acetilcolina (2×10^{-1} M) y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" al 5%.



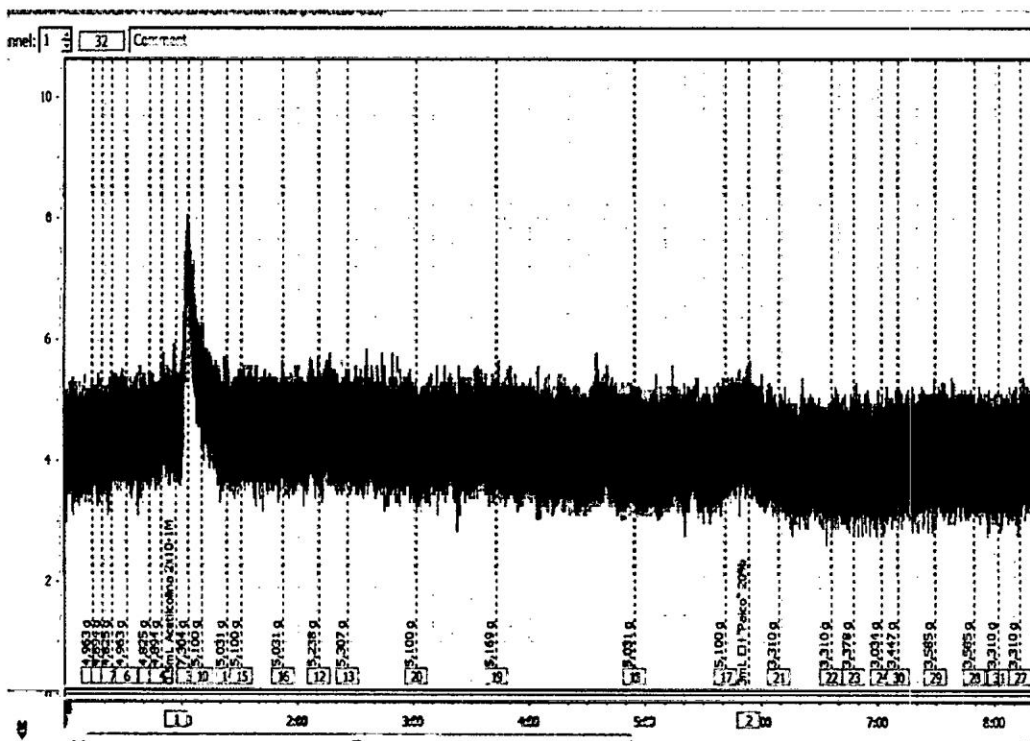
Anexo 20.

Respuesta gráfica de ileon tras la administración de acetilcolina (2×10^{-1} M) y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" al 10%.



Anexo 21.

Respuesta gráfica de ileon tras la administración de acetilcolina (2×10^{-1} M) y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" al 20%.



Anexo 22.

Matriz de consistencia.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
<p>Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" en ileon aislado de <i>Cavia porcellus</i> "cobayo". Ayacucho - 2013.</p>	<p>¿Tendrá efecto antiespasmódico el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" en ileon aislado de <i>Cavia porcellus</i> "cobayo"?</p>	<p>Objetivo general. -Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" en ileon aislado de <i>Cavia porcellus</i> "cobayo".</p> <p>Objetivo específico -Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico". -Determinar que concentración del extracto de las hojas del <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" presenta mayor efecto antiespasmódico. -Comparar el efecto antiespasmódico de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" con la atropina en ileon aislado de <i>Cavia porcellus</i> "cobayo"</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" presenta efecto antiespasmódico en ileon aislado de <i>Cavia porcellus</i> "cobayo"</p>	<p>Variable independiente Extracto hidroalcohólico diferentes concentraciones de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico".</p> <p>Indicador: Concentraciones de 5%, 10% y 15% del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico".</p> <p>Variable dependiente Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico"</p> <p>Indicador: Número de las contracciones del ileon según tratamientos. Altura de las contracciones del ileon según tratamientos.</p>	<p>El cólico puede ser definido como la aparición de un dolor agudo, intenso y agotador cuyo origen se encuentra en el aparato gastrointestinal (Genoud, 2002).</p> <p>Los antiespasmódicos son un grupo de agentes, que incluyen algunos compuestos de origen natural como los alcaloides de la especie vegetal <i>Atropa belladonna</i> o sus derivados sintéticos (Bowman y Rand, 1984). 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.</p> <p>El <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico", es una planta medicinal y aromática usada desde tiempos prehispanicos por los indígenas americanos. Se usa comúnmente en las siguientes afecciones: Digestivas (alivian los cólicos estomacales, espasmos, diarrea, disentería, estreñimiento, inapetencia, indigestión, flatulencias y gastritis); hepáticas, respiratorias (antitusígeno, asma, pulmonías, catarro); nerviosas, dolor de muela, desordenes menstruales, inflamaciones de las vías urinarias, trastornos cardiacos, hipertensión, malaria y reumatismo. La decocción de las hojas y semillas en cataplasma para quemaduras, infecciones de la piel, llagas, picadura de insectos, tumores y ciertos cánceres; los supositorios en polvo de las hojas se aplica en apendicitis⁴⁷.</p>	<p>Tipo de estudio: Básico – experimental.</p> <p>Población: Hojas de <i>Chenopodium ambrosoides</i> L. "paico" que crecen en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho, ubicado a 3300 m.s.n.m.</p> <p>Muestra: 1 Kg de hojas.</p> <p>Unidad Experimental: Ileon aislado de cobayos con pesos comprendidos entre 450 – 650g, que serán adquiridos en el INIA – Ayacucho</p> <p>Método: El efecto antiespasmódico será determinado según el método propuesto por Magnus (1968), que consiste en la inducción de espasmos en fracciones de ileon aislado de cobayo.</p> <p>Análisis de datos: Se evaluará la existencia de diferencias estadísticamente significativas de los diferentes tratamientos usando el análisis de varianza y la prueba de Tukey, con un nivel de confianza del 95%.</p>

Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en ileon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo". Ayacucho - 2013.

Flores Chávez Liliam Jenniffer¹, Tinco Jayo Johnny Aldo¹
Farmacia y Bioquímica: UNSCH

RESUMEN

Entre las opciones terapéuticas para tratar el cólico intestinal, los antiespasmódicos suelen considerarse los fármacos de primera línea de tratamiento. Las especies de *Ambrosia* se caracterizan por ser plantas aromáticas, con propiedades medicinales muy difundidas entre los pobladores de nuestra región por su conocida acción antiespasmódica y carminativa, es usada para aliviar las molestias digestivas. El presente trabajo de investigación experimental se realizó con el objetivo de determinar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en ileon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo", desarrollado en los laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga entre los meses de julio a diciembre del 2013. Las hojas fueron colectadas en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región de Ayacucho, una vez colectadas las hojas se dejaron secar bajo sombra durante 15 días, posteriormente se hizo la molienda de las hojas hasta la obtención de un polvo fino. La extracción se realizó con etanol al 70%, se evaporó a sequedad hasta la obtención de un extracto blando, al cual se le realizó el tamizaje fitoquímico; donde se evidenció la presencia de sustancias de naturaleza terpenica y flavonoides. La evaluación del efecto antiespasmódico se realizó mediante el método de Magnus modificado en ileon aislado de cobayos, haciendo uso de un Quimógrafo automatizado Modelo Panlab Harvard; las contracciones fueron inducidas con acetilcolina a una concentración de 2×10^{-1} M registrándose el aumento de la tensión, número y altura de las contracciones. Se usó como control atropina y se evaluó el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" a las concentraciones de 5, 10 y 20%. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" al 20% redujo la tensión a 2,62 g semejante al de la atropina (2,53 g), a comparación al 10% y 5% que redujeron a 3,86 g y 4,55 g respectivamente. El número y altura de las contracciones fueron de 23,80 y 3,36 mm con atropina; 37 y 5,84 g al 5%; 28 y 4,69 mm al 10% y finalmente 25 y 3,47 mm al 20% respectivamente. El análisis estadístico mostro diferencias significativas en los diferentes tratamientos ($p < 0,05$). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" tiene efecto antiespasmódico, mostrando mayor efecto al 20%.

Palabras clave: *Chenopodium ambrosoides* L. "paico", efecto antiespasmódico.

ABSTRACT

Among the therapeutic options to treat intestinal colic, antispasmodic drugs are generally considered first-line treatment. *Ambrosia* species are characterized by aromatic plants with medicinal properties are widespread among the people of our region known for its antispasmodic and carminative action, it is used to relieve digestive discomfort. This experimental research was conducted to determine the antispasmodic effect of alcoholic extract from the leaves of *Chenopodium ambrosoides* L. "Paico" in ileum isolated from *Cavys* "guinea pig", developed in the laboratories of Pharmacy and Biochemistry School of Biological Sciences, National University of San Cristobal de Huamanga in the months from July to December 2013. The leaves were collected in the district of Huamanguilla province of Huanta, Ayacucho region, once collected the leaves are allowed to dry under shadow for 15 days, subsequently became grinding the leaves to obtain a fine powder. Extraction was performed with 70% ethanol, it evaporated to dryness to obtain a soft extract, which was performed phytochemical screening; where the presence of terpene substances evidenced nature and flavonoids. Antispasmodic effect assessment was performed by the method of Magnus modified guinea pig isolated ileum, using a Harvard kymograph Panlab automated model; contractions were induced with acetylcholine concentration of 2×10^{-1} M registering the increased tension, number and height of contractions. "paico" to concentrations of 5, 10 and 20% atropine was used as control and the hydroalcoholic extract of leaves of *Chenopodium ambrosoides* L. was evaluated. The alcoholic extract from the leaves of *Chenopodium* L. *ambrosoides* "Paico" 20% reduced to 2.62 g tension similar to that of atropine (2.53 g), compared to 10% and 5% which reduced to 3.86 g and 4.55 g respectively. The number and height of contractions were 23.80 and 3.36 mm with atropine; 37 and 5.84 g 5%; And 4.69 mm 28 to 10% and finally 25 3.47 mm and 20% respectively. Statistical analysis showed significant differences in the different treatments ($p < 0.05$). It is concluded that the alcoholic extract from the leaves of *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" has antispasmodic effect, showing greater effect than 20%.

Keywords: *Chenopodium ambrosoides* L. "Paico" antispasmodic effect.

INTRODUCCION

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%.¹ Las posibilidades terapéuticas incluyen una amplia gama de alternativas, entre las que se encuentran los antiespasmódicos y la terapia herbal, que se convierte en una de las más utilizadas hoy en día.¹ Sobre todo en países económicamente dependientes, donde los padecimientos gastrointestinales afectan a grandes grupos de la población.² Un espasmo es la contracción involuntaria, persistente de un músculo o grupo muscular, algunos reservan dicho nombre para la contracción tónica persistente de los músculos de fibra lisa.³

Existen diversos estudios con plantas medicinales para evaluar el efecto antiespasmódico, siendo los más usados los modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*, y los más recomendados el de íleon aislado de cobayo (*in vitro*) y actividad sobre el tránsito intestinal en ratones y diarrea en rata (ambos *in vivo*), para lograr mejores resultados.⁴

Las especies de *Ambrosia* se caracterizan por ser plantas aromáticas, con propiedades medicinales muy difundidas entre los pobladores de nuestra región por su conocida acción antiespasmódica y carminativa, es usada para aliviar las molestias digestivas, cólicos de gases y para la expulsión de los gusanos intestinales.⁵

Dentro de los metabolitos secundarios con actividad antiespasmódica principalmente son reportados flavonoides, terpenos y alcaloides.² Lo que convierte a esta planta en un remedio casero ideal para el tratamiento natural y alivio de cólicos y dolores asociados a espasmos y contracturas musculares involuntarias; además de poseer otras actividades también importantes como antibacterianas, antioxidante y antiinflamatorias.⁶

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

Objetivo general

Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" en íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo".

Objetivos específicos.

Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico".

Determinar que concentración del extracto de las hojas del *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" presenta mayor efecto antiespasmódico.

Comparar el efecto antiespasmódico de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" con la atropina en el íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo".

MATERIALES Y METODOS

UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación, se desarrolló en los Laboratorios de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, región Ayacucho, durante los meses de julio a diciembre del 2013.

MATERIALES

Población:

Hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" recolectados en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región Ayacucho, ubicado a 3 276 m.s.n.m.

Muestra

1 Kg de hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" no cultivadas, recolectados en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región Ayacucho, el sistema de muestreo fue por conveniencia.

Animales de experimentación

Se extrajo el íleon de 20 cobayos (*Cavia porcellus*) de la misma edad, sexo (macho) entre 400 a 500 g aproximadamente, adquiridos del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) – Ayacucho, los mismos que fueron acondicionados con alimentación balanceada y agua *Ad libitum* en el bioterio del Laboratorio de Farmacología del área de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Preparación del extracto hidroalcohólico.

Se utilizó 500 g de hojas secas, las cuales fueron molidas, posteriormente llevadas a maceración en un frasco de color ámbar limpio y seco durante 15 días con 3 L de etanol al 70%, este cubrió a la muestra por 1 cm de diferencia. Durante el proceso se agitó el frasco a diario para que el solvente se distribuya homogéneamente en la muestra. Posteriormente se realizó el filtrado del macerado a través del filtro al vacío utilizando papel Whatman N° 40, finalmente se procedió a la evaporación a sequedad en un rotavapor rotatorio BUCHI 3000, y en una estufa 40°C, obteniéndose el extracto blando.

DISEÑO METODOLÓGICO

Tamizaje fitoquímico

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo los procedimientos propuestos por Miranda y Cuellar.⁴⁵

Evaluación de la actividad antiespasmódica: Método de Magnus⁴⁶

Fundamento:

Consiste en la inducción de espasmos en fracciones de íleon aislado conservados en el medio nutricional de Tyrode (Anexo 6) con acetilcolina y evaluación del efecto antiespasmódico con la sustancia problema, utilizando como patrón de referencia atropina.

Materiales

Acetilcolina, se preparó en agua destilada a una concentración de 2×10^{-1} M.

Veinte ampollas de atropina de 1 mg/ml (Laboratorio Medifarma S.A.).

Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" a diferentes concentraciones: 5, 10 y 20%, que se prepararon con medio nutricional de Tyrode.

Procedimiento:

Se suspendió la alimentación de los animales con 24 horas de anticipación siendo mantenidas con agua *Ad libitum*. Para iniciar el trabajo se encendió y calibró el quimógrafo automatizado Panlab Harvard, luego se sacrificó a los cobayos por dislocación cervical, se abrió la cavidad abdominal y se extrajo el íleon que fue sumergido de inmediato en la solución nutritiva Tyrode a 37°C, se lavó cuidadosamente (Anexo 9) y luego se cortó transversalmente en segmentos de dos centímetros aproximadamente, luego se transfirió al baño de órganos y fueron fijados con seda quirúrgica, por un extremo a un transductor y por el otro a la cámara para órgano aislado, con 25 ml de solución Tyrode, burbujeo constante y a 37°C (Anexo 10).

Se encendió el software (LabChart) y a los cuatro minutos aproximadamente se adicionó 0,5 ml de acetilcolina 2×10^{-1} M y se dejó en observación por 25 min (Grupo I) (Anexo 9). Para el caso de los Grupos II, III, IV y V, se hizo un registro control durante cuatro 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 1 ml de atropina, y 3 ml de extracto al 5%, 10% y 20% respectivamente para cada grupo y se dejó en observación durante 25 min más. Todos los cambios y movimientos fueron captados por un transductor y registrados en la computadora (Anexo 17 al 21). Para cada uno de los grupos se utilizaron tejidos recién obtenidos y se

acondicionaron aproximadamente por 10 min. Se realizaron cinco repeticiones por grupo, la dosis óptima de acetilcolina y de atropina se determinaron en experiencias previas.

ANÁLISIS DE DATOS

Se determinó el promedio de las diferencias de tensión generada entre las normales y las generadas con acetilcolina (2×10^{-1} M), atropina y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosoides* L. "paico" (5, 10 y 20%). También se calculó el promedio y los valores de dispersión de la tensión (g), altura (mm) y número de las contracciones para cada uno de los tratamientos. Los resultados se presentaron comparativamente en cuadros y gráficos estadísticos y fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) que permitió determinar las diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias intergrupos se analizaron por la prueba de Tukey, para el estudio se utilizó un nivel de confianza ($p < 0,05$); el software empleado para el análisis estadístico fue el SPSS versión 21.

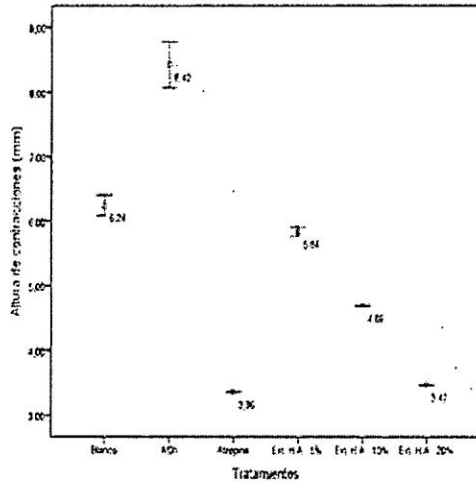
RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas *Chenopodium ambrosoides* L. "paico", recolectada en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región de Ayacucho 2013 a 3 276 m.s.n.m.

Metabolitos secundarios	Ensayo	Resultado	Observación
Alcaloides	Dragendorff	(+++)	Precipitado
	Mayer	(++)	Precipitado
	Wagner	(+++)	Precipitado rojo
Lactonas y Cumarinas	Baljet	(++)	Precipitado
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman - burchard	(+++)	Coloración ligeramente verde
Aminoácidos	Ninhidrina	(+++)	Azul violáceo
Flavonoides	Shinoda	(+++)	Coloración rojo carmelita
Antocianidinas	Antocianidas	(++)	Coloración marrón
Taninos y fenoles	Cloruro férrico	(++)	Coloración azul
Saponinas	Espuma	(++)	Formación de espuma

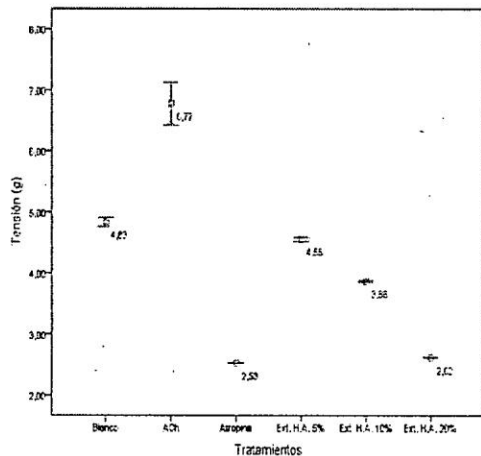
LEYENDA:
 (+++) Abundante
 (++) Moderado
 (+) Leve

Figura 5. Altura (mm) de las contracciones del íleon por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" con un nivel de confianza de ($p < 0,05$).



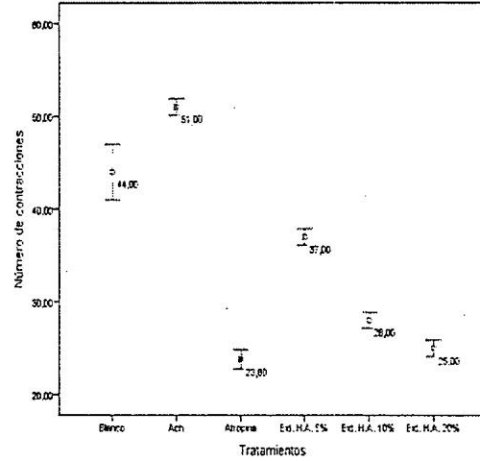
Leyenda:
 ACh : acetilcolina (2×10^{-1} M)
 Ext. H.A. 5% : extracto hidroalcohólico al 5%
 Ext. H.A. 10% : extracto hidroalcohólico al 10%
 Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%

Figura 6. Tensión (g) de la contracción del íleon por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" con un nivel de confianza de ($p < 0,05$).



Leyenda:
 ACh : acetilcolina (2×10^{-1} M)
 Ext. H.A. 5% : extracto hidroalcohólico al 5%
 Ext. H.A. 10% : extracto hidroalcohólico al 10%
 Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%

Figura 7. Número de contracciones del íleon por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" con un nivel de confianza de ($p < 0,05$).



Leyenda:
 ACh : acetilcolina (2×10^{-1} M)
 Ext. H.A. 5% : extracto hidroalcohólico al 5%
 Ext. H.A. 10% : extracto hidroalcohólico al 10%
 Ext. H.A. 20% : extracto hidroalcohólico al 20%

DISCUSIÓN

En la Tabla 2, se muestra los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico", donde se determinó que contienen en abundante proporción: Alcaloides, triterpenoides y/o esteroides, aminoácidos y flavonoides; y en menor proporción: lactonas y cumarínicos, saponinas, aminas, taninos, antocianidinas y saponinas. Los mismos que concuerdan con los resultados reportados en investigaciones previas por Gutiérrez,⁴⁷ quien reporta que *Chenopodium ambrosioides* "paico" posee taninos, flavonoides, esteroides y alcaloides. Por otro lado, también coincide con los resultados obtenidos en el screening fitoquímico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" en un estudio donde se empleó el extracto acuoso de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico".

La técnica in vitro empleada, permite sustentar la hipótesis de que el uso tradicional de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" es de utilidad para tratar el cólico intestinal.

Efectivamente, el efecto mostrado de igual manera con la administración de atropina (estándar), que tienen una acción espasmolítica o antimitilica establecida, da sustento al resultado encontrado con el extracto de interés. Trabajos similares, por citar algunos, donde practicaron la técnica in vitro dan fe de la eficacia de la técnica, con la evaluación de la actividad espasmolítica de Piper auritum H.B.K. en yeyuno aislado de conejo e íleon aislado de curiel.⁴ Del mismo modo, en el estudio de la actividad espasmolítica de una tintura de Melissa officinalis L. en íleon aislado de cobayo.⁵⁴ En ambos estudios también se empleó solución nutritiva de Tyrode y, dado que los receptores muscarínicos son elementos esenciales de la transmisión colinérgica de muchos procesos fisiológicos como el control motor, se emplea la acetilcolina como sustancia espasmógena con buena actividad in vitro.

En la Figura 5, detalla la variación de la altura de contracciones por efecto del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" a diferentes concentraciones (5, 10 y 20 %). Cada barra representa el valor medio de la variación en la altura (mm), provocada por las contracciones (mm) inducidas por acetilcolina, donde se observó que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" de 20 % presentó mayor respuesta de relajación (3,47 mm) en comparación a la altura de las contracciones generadas por la acetilcolina (8,42 mm) y esta a su vez presentó una respuesta de relajación similar al de la atropina (3,36mm), en tanto las concentraciones al 5% y 10% redujeron la altura de las contracciones con menor respuestas de relajación comparado al 20% a 5,84 mm y 4,69 mm respectivamente. Se puede apreciar con claridad que, luego de la inducción de espasmo intestinal in vitro, la altura de las contracciones disminuye conforme la concentración del extracto se va incrementando. Del mismo modo, se refleja el antagonismo de la atropina sobre la respuesta contráctil cuando se incubó la preparación. No sabemos su mecanismo de acción, pero al menos determinamos que los extractos contienen principios activos inhibidores de la contracción inducida con acetilcolina. Esto sugiere que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" poseen un mecanismo de acción alterno al de la atropina, sin poder descartarse que actúen mediante el receptor muscarínico; y que dicho mecanismo está relacionado con la contracción mediada por canales dependientes del voltaje, ya sea actuando sobre canales iónicos que modifiquen la

polaridad de la membrana o alterando la función de los componentes intracelulares implicados en la contracción del músculo liso intestinal.

En la Figura 6, se grafica el mismo comportamiento, donde se observa la variación de la variable tensión (g). Las concentraciones ensayadas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" (5, 10 y 20 %) inhiben la respuesta contráctil inducida por el espasmógeno acetilcolina, lo cual aumenta proporcionalmente con el incremento constante de las concentraciones, observándose que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% redujo a 2,62 g la tensión generada por la acetilcolina (6,77 g) mostrando un efecto similar a la atropina (2,53 g) , en tanto las concentraciones de 5% y 10% también redujeron el grado de tensión a 4,55 g y 3,86 g respectivamente. Se aprecia notoriamente la respuesta espástica del tejido preparado cuando, en primera instancia, fue estimulado con una concentración submáxima de acetilcolina (2×10^{-1} M). Este resultado fue similar al encontrado en estudios previos de diferentes investigadores. En efecto, según la literatura, se sabe que la acetilcolina, cuyos receptores se dividen en nicotínicos y muscarínicos, estimula el tono y el peristaltismo a todos los niveles del tracto gastrointestinal: tercio inferior del esófago, estómago, intestino delgado y grueso.³⁶ La acetilcolina es un neurotransmisor postganglionar en las neuronas del parasimpático que inerva el intestino. La respuesta a acetilcolina es regulada por activación de dos tipos de receptores muscarínicos (M_2 y M_3) que están asociados a diversos tipos de proteínas G. La activación de estos receptores origina un incremento en Ca^{++} intracelular, un efecto regulado por IP_3 que actúa sobre los almacenes de calcio internos.⁵⁵ La prueba de Tukey (Anexo 14) corrobora lo mencionado, donde el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% y la atropina tienen respuestas estadísticamente semejantes.

Podríamos proponer que uno o varios componentes del extracto al 20% de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico", al igual que la atropina, muestra similar afinidad por todos los subtipos de receptores muscarínicos estimulando principalmente proteínas G que desencadenan la activación de la fosfolipasa C, con la consiguiente producción de IP_3 e IP_4 (movilización de Ca^{2+}) y de diacilglicerol (activación de fosfoquinasa C), cuya

consecuencia fundamental es la contracción muscular.

En la Figura 7, se observa el número de contracciones generadas por los tratamientos, en las que se evidencia que la atropina disminuye el número de contracciones inducidas por la acetilcolina de 51 a 23, seguida del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% a 25, nótese que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% y la atropina redujeron el número de las contracciones muy similares numéricamente, en tanto los extractos hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 5% y 10% disminuyeron el número de contracciones a 37 y 28 respectivamente. Las concentraciones de 5% y 10% disminuyeron con menor efectividad. La prueba de Tukey (Anexo 16) muestra que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% y la atropina tienen respuesta estadísticamente semejantes.

Al realizar el análisis de varianza del grado de la altura, tensión, el número de las contracciones (Anexo 11, 13 y 15) se encontró que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las respuestas inhibitorias de las diferentes concentraciones de extractos ensayados y el estándar, mostrando que las tres concentraciones trabajadas tienen efecto antiespasmódico, siendo el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" al 20% el que presenta mejor efecto antiespasmódico muy cercano a la atropina.

Vega⁵⁸ en un trabajo similar, se demostró que *Ocimum gratissimum* bloqueaba el espasmo provocado por el agonista colinérgico de forma similar en magnitud que la inhibición evidenciada por la atropina (62,25 y 94,31 % de inhibición, respectivamente). Dicho efecto se estudió en fracciones aisladas, a partir de las hojas de *Ocimum gratissimum* por extracción lipídica y cromatografía de capa delgada, lo cual dio como resultado la existencia de algunos componentes, que disminuyen el efecto agonista de la acetilcolina sobre el íleon de cobayo y el cólon de rata. De ello surgió la hipótesis que, al ser extraíbles con solventes lipídicos, pudieran considerarse como lípidos o sustancias muy relacionadas con éstos.

Otros estudios con varios tipos de compuestos (ácidos grasos modificados, cerebrosidos y lisofosfolípidos) han indicado que la actividad espasmogénica depende de una insaturación y de la presencia de grupos hidroxílicos esenciales organizados específicamente.⁹ Esto podría constituirse como un punto de observación para determinar qué tipo de

compuestos presentes en *Chenopodium ambrosioides* son los responsables del efecto estudiado. Del mismo modo, la acción antimuscarínica del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* podría ocurrir por la acción de un compuesto tipo éster intacto y un grupo hidroxilo libre presente en la molécula, como sucede con la atropina.⁶

Diez¹⁵ en estudios previos se demostró una ligera actividad antiespasmódica de la infusión de *S. brevicallix* Epl., frente al N-butilbromuro de hioscina; este resultado podría deberse al medio usado para la extracción de principios activos responsables de esta actividad, así como se observó en otras especies donde los extractos metanólicos y hexánicos tuvieron mejores respuestas antiespasmódicas frente al extracto acuoso. Además de que en estudios posteriores los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicallix* Epl. mostraron tener un efecto antiespasmódico similar al del estándar¹³, al igual que en el presente trabajo, donde las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" manifestaron tener efecto antiespasmódico en diferente grado, siendo la concentración al 20%.

Finalmente podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" tiene efecto antiespasmódico, siendo la concentración al 20% la que presenta un efecto similar al de la atropina.

A pesar de los resultados positivos que se ha obtenido en el presente trabajo de investigación, no podemos aventurarnos y recomendarlos a la población en su uso para las afecciones como antiespasmódicos, ya que la investigación realizada sirve para sentar bases y reconocer el gran valor de esta planta *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" dentro de la medicina herbológica, previo ensayos clínicos y preclínicos, toxicológicos. Y así lograr incluir en la terapia alternativa a dicha planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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>
2. Astudillo VA, Mata R, Navarrete A. El reino vegetal, fuentes de agentes antiespasmódicos gastrointestinales y antidiarreicos. Rev. Latinoam. Quim. [revista en internet] abril 2009. [acceso en

- junio 2012]; 37(1). Disponible en: <http://www.relaquim.com/archive/2009/p2009371-7.pdf>
3. Cotillo, P. 1998. Farmacología, mecanismos de acción y glosario. Editorial. UNSCH. Ayacucho, Perú.
 4. García M, Martínez T, Morón R. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. REV CUBANA PLANT MED [revista en internet] enero - abril 2001. [acceso en julio de 2012]; 6(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962001000100005&script=sci_arttext
 5. Vera B. 2008. Tesis. Estudio fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador: *ambrosia arborescens*. Escuela politécnica del ejército. Departamento de ciencias de la vida. Ingeniería en biotecnología.
 6. Arias R, Toma Z, Aguilar F, Ramírez R, Shimabuku A, Suárez C. Neuroprotección del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" en un modelo animal de hiperoxia e hipoxia isquemia. *An. Fac. Med.* [revista en internet] julio - setiembre 2012. [acceso en noviembre de 2012]; 73(3). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102555832012000300008&script=sci_arttext
 7. Sosa, K. 2004. Tesis. Efecto antiespasmódico de la infusión de *Rosmarinus officinalis* L. "romero" en ileon aislado de cobayo. Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
 8. Espinoza P. 2004. Tesis. Efecto antiespasmódico del extracto de *Melissa officinalis* L. "toronjil". Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
 9. Espinoza, A. 2005. Tesis. Evaluación del antiespasmódico del extracto fluido de las hojas de *Marrubium vulgare* L. "ojejore" en ileon aislado del "cuy". Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
 10. Yuncacallo L. 2005. Tesis. Efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pampa salvia" en ileon aislado de "cuy". Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
 11. Gracia A., Martínez, M. y Morón, F. 2000. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. *Rev. Cubana PlantMed* 2001, vol. 3. N° 1 p. 19-22.
 12. Gonzales AG. Actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2011.
 13. Kokanova-Nedialkova Z., Nedialkov PT, Nikolov SD. The genus *Chenopodium*: Phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology. *Pharmacognosy Reviews.* 2009; 3(6):280. <http://www.conservationandsociety.org/article.asp?issn=0973-7847;year=2009;volume=3;issue=6;page=280;epage=306;aurlast=Kokanova-Nedialkova>
 14. Vargas SR, Pérez GR y Figueroa TG. Efecto de la actividad antiespasmódica del extracto metanólico, del alga *Oedogonium capillare* (Linn) Kuetz sobre ileon 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>.
 15. Díez MJ. Efecto antiespasmódico de la *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" sobre ileon aislado de rata [Instituto de Investigación]. Ayacucho: Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH; 2002.
 16. Guauque, M. Castaño, J., y Gómez, M. 2010. Detección de metabolitos secundarios en *Ambrosia peruviana* Willd y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica. *Infect.* vol.14 no.3 Bogotá.
 17. Laura Aucasime M. Herbarium Huamangensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal de Huamanga; 2013.
 18. Macdonald D., Vancrey, K., Harrison, P., Rangachari, P.K., Rosenfeld, J., Warren, C., Sorger, G. 2004. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocide(s) that is (are) not toxic to mammalian smooth muscle. *J. Ethnopharmacol.*, 92(2-3):215-221.
 19. Díaz J. (2003). Informe Técnico. Caracterización del mercado colombiano de plantas medicinales y aromáticas. Instituto Alexander Von Humboldt- El Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogotá D.C., Colombia.
 20. Cisneros F. (Ayacucho 2002) En "Efectividad del zumo de paico (*Chenopodium ambrosioides*), semilla de

- zapallo (*Cucurbita máxima*) y un levamisol en el tratamiento de la gastroenteritis verminosa en alpacas en la unidad de producción Allpachaka - 4000 msnm. 2002."
21. Caicedo G. 2004. Manual de Investigación y Evaluación Fotoquímica de diferentes plantas medicinales S.N., Colombia, pp. 23-24.
 22. Duke J., Handbook A. Of Medicinal Herbs. CRC Press, Inc., Boca Ratón, USA, pp. 797-808; 1985.
 23. Taylor L. The healing power of Rainforest herbs. Square One Publishers, Inc., Garden City Park, USA, pp. 535; 2005.
 24. Domínguez, Juan A. (1928), Contribuciones a la Materia Médica Argentina - Bs. A.s, Ed. Peuser, 10, 37, 40,87, 302/5, 308/14 - 413 pp.
 25. Gutiérrez J. y Huarcaya, H. (1992). Paico, Wallwa y semilla de Palta como tratamiento antiparasitario en el pueblo joven de Villa San Cristóbal. Ayacucho. Tesis EFP Enfermería. UNSCH.
 26. Cáceres A. (1996). Plantas de uso medicinal en Guatemala. Edit. Universitaria. Universidad San Carlos de Guatemala.
 27. Romero M. Evaluación de las plantas medicinales con propiedades Antioxidantes en los distritos de Carmen Alto y Quinua del departamento de Ayacucho [Tesis]. Ayacucho Informe de investigación del Instituto de Investigación en Ciencias Biológicas. UNSCH; 2006.
 28. Cruz G. Relación Flavonoides Totales - Actividad Antidiabética (*in vitro* por difusión de glucosa) en extractos de *Colubrina elliptica*. [Tesis de pregrado]. México: Universidad Tecnológica de la Mixteca; 2012
 29. López L. Flavonoides. OFFARM. Vol 21 núm. 4 abril: 108-114. México; 2002.
 30. Di Carlo, Mascolo, Izzo AA, Capasso F. Flavonoids: old and new aspects of a class therapeutic drugs. Life Science (1999); 65:337-353.
 31. Lamb JF, Ingram CG, Joh IA, Pitman RM. Fundamentos de Fisiología. 2ª ed. Zaragoza: AcribiaS.A.; 1987.
 32. Berne R, Levy M. Fisiología. Madrid. Mosby/Doyma; 1995.
 33. Guyton AC. Tratado de Fisiología Médica de Guyton. 11ª ed. Madrid: Elsevier Science; 2006.
 34. 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
 35. Córdova A., Ferrer, R. Muñoz, M.E. Villaverde, C. Compendio de Fisiología para ciencias de la salud: Funciones generales del aparato digestivo. Madrid: Mac Graw Hill Interamericana, 1994. p. 499
 36. Mazzone A, Farrugia G. Evolving Concepts in the Cellular Control of Gastrointestinal Motility Neurogastroenterology and Enteric Sciences. Gastroenterol Clin N Am 2007; 36:499–513. 2. Burns A, Roberts R, Bornstein JC. Development of the enteric
 37. Flores J. Farmacología humana 3ª ed. Barcelona: Editorial Masson S.A.; 1997.
 38. Flores SM, Segura TJ. Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. Rev. Mex. Neuroci. [revista en internet] 2005. [acceso mayo 2013]; 6(4). Disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmexneu/rmn-2005/rmn054f.pdf>
 39. Barret K. Intestinal Motility. En: Barret, K. Gastrointestinal Physiology, Lange. California: McGrawHill; 2007. p. 153-67.
 40. Velasco Martín A, Lorenzo Fernández P, Serrano Molina J, Andrés-Trelles F. Velázquez Farmacología. 16ª ed. España: McGraw-Hill – Interamericana de España; 1993.
 41. Velasco MA, Fernández PL, Serrano MJ, Trelles FA. Velázquez Farmacología. 16ª ed. España: McGraw-Hill – Interamericana de España; 1993.
 42. Calvo RC. Aspectos actuales en nutrición infantil. La prevención y el tratamiento del cólico del lactante. BOL. PEDIATR. [revista en internet] 2010 [acceso mayo 2013]; 50(213). Disponible en: http://www.sccalp.org/documents/0000/1634/BolPediatr2010_50_197-202.pdf
 43. 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.
 44. Formulario modelo de la OMS 2004, Fármacos en patología gastrointestinal. Antiespasmódicos. [sede Web]. who.int/es; 2013- [actualizada el 3 de mayo de 2013; acceso 5 de junio de 2013]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/21.5.html#Js5422s.21.5>
 45. Miranda MM, Cuellar CA. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Habana: Instituto de farmacia y alimentos; 2000.

46. 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.
47. Gutiérrez J, y Huarcaya, H. (1992). Paico, Wallwa y semilla de Palta como tratamiento antiparasitario en el pueblo joven de Villa San Cristóbal. Ayacucho. Tesis EFP Enfermería. UNSCH.
48. Monzote, L., Montalvo, A.M., Almanonni, A.S., Scull, R., Miranda, M., Abreu, J. 2006. Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*. *Chemotherapy*, 52(3):130-136.
49. Hallal A, Benali S, Markouk M, Bekkouche K, Larhsini M, Chait A, et. al. Evaluation of the analgesic and antipyretic activities of *Chenopodium ambrosioides* L. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*. 2010; 1(1):189-192. <http://www.ajebs.com/vol1/30.pdf>
50. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega; 2003.
51. Bringmarm G., K. Messer, et ai. (2002). "Dioicophylliae E from *Dioicophyllum tholionii*, the first 7,3'-coupled dioncophyllaceous naphthylisoquinoline alkaloid" *Phytochemistry*. 60(4): 38
52. Williamson EM, Okoako DT, Evans FJ (1996). *Pharmacological Methods in Phyiothergpy Research*. Wiley and Sons.
53. Gilani A.H., Ghayur, M.N., Khalid, A., Haq Z., Choudhary, M.I., Rahman A. (2005b) Presence of antispasmodic, antidiarrheal, antisecretory, calcium antagonist and acetylcholinesterase inhibitory steroidal alkaloids in *Sarcococca saligna*. *Planta Medica* 71: 120-125.
54. Marcoli M, Scarrone, S., Maura, G., Bonanno, G., Raiteri, M. (2000). "A subtype of the γ -aminobutyric acid receptor regulates cholinergic twitch response in the guinea pig ileum." *1 Pharmacol F.xp Ther*. 293: 42-47.
55. Dar A., Channa, S. (1999) Calcium antagonistic activity of *Bacopa monniera* on vascular and intestinal smooth muscles of rabbit and guinea-pig. *Journal of Ethnopharmacology* 66: 167-174.
56. Ruiz SA, De la Paz NJ, García MA, Sebazco PC, Carrazana LA, Pereira RE. Actividad espasmolítica de una tintura de *Melissa officinalis* L. en modelos experimentales. *Rev Cubana Plant Med*. [revista en internet] 2004. [acceso noviembre de 2012]; 9(3). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9_3_04/pla03304.htm
57. López LT. Tomillo. Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. *Revista de fitoterapia [revista en internet]* enero 2006. [acceso noviembre de 2012]; 25(1). Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13083626&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v25n01a13083626pdf001.pdf&ty=74&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es.
58. Vega MR, Carrillo DC. Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 1997; 2(2):14-18. Berardi, A. *Etnofarmacología gastrointestinal de plantas medicinales argentinas del género Aloysia, familia Verbenaceae: mecanismos de acción y relación con los principios activos* [Tesis para optar la maestría]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2012.