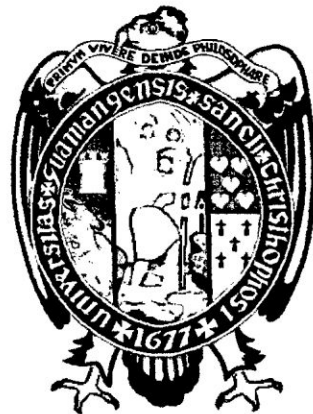


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto
hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata*
R. & P. "pisca pisca". Ayacucho - 2015**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**Presentado por el:
Bach. CARBAJAL HUAMÁN, Odbar**

AYACUCHO – PERÚ

2015

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA**
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N° 308 – FC de la Salud – UNSCH – 2015

Bach. Odbar Carbajal Huamán

En la ciudad de Ayacucho, siendo las diez de la mañana del día martes veinte y nueve del mes de diciembre, en el auditorium de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, se reunieron los jurados designados por la resolución decanal N° 308 – FC de la S – UNSCH – 2015, para recepcionar la tesis del bachiller en Farmacia y Bioquímica **Odbar Carbajal Huamán**, el jurado está integrado por el Mg. José Manuel Diez Macavilca (presidente), la Mg. Maricela López Sierralta (miembro) y el Mg. Edgar Cárdenas Landeo (miembro), quien también actúa como secretario docente encargado, quienes evaluaron la sustentación de tesis titulada: **Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. “pisca pisca”. Ayacucho – 2015.**

El presidente invita al sustentante exponer su trabajo en el tiempo reglamentario. Concluida la etapa de exposición, el presidente del jurado evaluador invita a los miembros del jurado a formular las preguntas pertinentes al trabajo sustentado, igualmente señalar las observaciones y recomendaciones que crean conveniente.

Terminada esta etapa, el presidente del jurado evaluador invita al sustentante y al público en general a que abandonen momentáneamente el auditorium para la deliberación y calificación en los siguientes rubros.

Jurados	texto	exposición	Respuesta a preguntas	Promedio
Mg. Q.F. José Manuel Diez Macavilca	18	18	18	18
Mg. Q.F. Maricela López Sierralta	17	16	15	16
Mg. Q.F. Edgar Cárdenas Landeo	17	16	15	16
			Promedio final	17

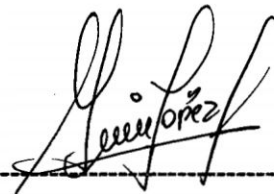
Concluyendo en aprobar por unanimidad al bachiller en Farmacia y Bioquímica Odbar Carbajal Huamán con la nota de diecisiete (17), asimismo se sugiere levantar las observaciones que se plasman en los formatos de sustentación de tesis y formato de resumen de la hoja de calificación.

Para dar fe de lo actuado, el jurado evaluador firman al pie del presente documento siendo las doce del medio día con diez minutos.



Mg. José Manuel Diez Macavilca

Miembro – Presidente



Mg. Maricela López Sierralta

Miembro



Mg. Edgar Cárdenas Landeo

Miembro – Secretario docente (e)

A Dios y a mis padres, por haberme dado
la fuerza para cumplir con mis metas,
gracias a ellos por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

Mi especial agradecimiento a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias de la Salud y especialmente a mi querida escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que me brindó todos los conocimientos, y a los profesores y a mi asesor que me apoyo incondicionalmente en la elaboración de tesis Dr. Q.F. Johnny Aldo Tinco Jayo y a los jurados que me apoyaron en la aprobación de la sustentación de tesis para obtener el título de químico farmacéutico.

INDICE GENERAL

	página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
INDICE DE TABLAS	ix
INDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I.- INTRODUCCIÓN	1
II.- MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca"	5
2.3. Metabolitos secundarios implicados en el efecto sobre la motilidad intestinal	6
2.4. Estructura y Fisiología del intestino delgado	8
2.5. Diferenciación entre segmentos	8
2.6. Farmacología de las células del músculo liso intestinal	8
2.7. Anticolinérgicos	11
2.8. Atropina	12
2.9. Loperamida, química y mecanismo de acción	15
2.10. Peristaltismo intestinal	16
2.11. Motilidad del intestino delgado	17
2.12. Trastornos de la motilidad gastrointestinal	18
2.13. Diarrea	20
III.- MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1. Ubicación	25
3.2. Población y muestra	25
3.3. Metodología y recolección de datos	26
3.4. Análisis de datos	29
IV.- RESULTADOS	31
V.- DISCUSIÓN	37
VI.- CONCLUSIONES	45
VII. RECOMENDACIONES	47
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
IX.- ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Diseño experimental de los grupos y tratamientos. Ayacucho 2015.	28
Tabla 2. Metabolitos secundarios del extracto hidoalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	32

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides	7
Figura 2. Estructura básica y numeración de los iridoides	8
Figura 3. Los anticolinérgicos	11
Figura 4. Estructura química de la atropina	13
Figura 5. Estructura química de loperamida	16
Figura 6. Variación de Porcentaje del tránsito intestinal, por efecto de la administración de blanco, atropina, loperamida y extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	33
Figura 7. Variación Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal por efecto de la administración de atropina, loperamida y el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	34
Figura 8. Variación de peso de los ratones en el ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. Ayacucho, 2015.	35

ÍNDICE DE ANEXO

		página
Anexo 1	Certificado de identificación botánica de <i>Columellia obovata</i> R. & P.	54
Anexo 2	Pruebas fitoquímicas con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca".	55
Anexo 3	Flujograma de estudio del efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca", Ayacucho 2015.	56
Anexo 4	Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	57
Anexo 5	Comparación de medias mediante la prueba Duncan del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. Ayacucho, 2015.	58
Anexo 6	Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de atropina y de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho 2015.	59
Anexo 7	Comparación de medias mediante la prueba de Dunnett del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de atropina y de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	60
Anexo 8	Análisis de varianza (Anova) del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de loperamida y de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	61

Anexo 9	Comparación de medias mediante la prueba de Dunnett del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de loperamida y de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	62
Anexo 10	Secado de las hojas <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	63
Anexo 11	Hojas secas molidas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	64
Anexo 12	Fermentación de las hojas secas molidas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca", en la solución hidroalcohólica, por siete días.	65
Anexo 13	Concentrado del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Realizado en el laboratorio de farmacognosia del área de farmacia y Bioquímica, Ayacucho, 2015.	66
Anexo 14	Resultados del screening fitoquímico del extracto hidoalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Realizado en el laboratorio de Farmacognosia del Área de Farmacia y Bioquímica, Ayacucho, 2015.	67
Anexo 15	Pesaje del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca", al 3 por ciento, para preparar en 100 mL de agua destilada.	68
Anexo 16	Preparación de las soluciones para la administración a los animales de experimentación (cobayos), extracto hidroalcohólico al tres por ciento, loperamida 3 mg/kg y carbón activado al 10%.	69
Anexo 17	Medida de tránsito intestinal del carbón activado de los tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.	70
Anexo 18	Matriz de consistencia	71

RESUMEN

Los desórdenes gastrointestinales son uno de los principales problemas de salud en el mundo, siendo este problema más prevalente en las áreas rurales y urbanas marginales de nuestro país. El objetivo principal de la investigación desarrollada fue determinar el efecto sobre la motilidad intestinal de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" en cobayos, se desarrolló el trabajo de investigación de tipo experimental en los laboratorios de farmacognosia y farmacología de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en la ciudad de Ayacucho. La muestra fue recolectada del Distrito de Quinua, Provincia de Huamanga, Región Ayacucho. Para evaluar el efecto sobre la motilidad intestinal se ha empleado el modelo *in vivo* de tránsito intestinal en cobayos, utilizando como indicador de la motilidad intestinal el carbón activado. Los animales fueron distribuidos en seis grupos de cinco, donde se les administró como: control (suero fisiológico 0,1 mL/10g), fármacos de referencia (atropina 1 mg/kg y loperamida 3 mg/kg) y los extractos a una dosis de 100, 200 y 400 mg/kg. Se ha determinado la presencia de los metabolitos secundarios como: alcaloides, flavonoides, iridoides, catequinas, saponinas, taninos, fenoles, aminoácidos, glicósidos cardiotónicos, destacando la mayor presencia de alcaloides y flavonoides. Los porcentajes de tránsito intestinal para atropina y loperamida fueron 28,20 y 45,50%. En cambio para los extractos hidroalcohólicos de 100, 200 y 400 mg/kg, fue 84,00%, 69,50% y 48,50% respectivamente. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" presentó mejor resultado en el efecto sobre la motilidad intestinal a dosis de 400 mg/kg, y se compara el efecto de esta dosis con el fármaco de referencia la loperamida. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" tiene efecto sobre la motilidad intestinal y no presentó ningún signo de toxicidad aguda hasta un nivel 2,000 mg/kg.

Palabras claves: *Columellia obovata* R. & P., motilidad intestinal, atropina, loperamida, carbón activado.

I.- INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas son la principal causa de la morbilidad y mortalidad de menores de 5 años en los países en desarrollo, y un factor importante de desnutrición. En el 2003 murieron aproximadamente 1,870 000 niños menores de 5 años como consecuencia de la diarrea. Ocho de cada 10 defunciones se producen en los dos primeros años de vida. Los niños menores de 3 años de los países en desarrollo presentan una media de tres episodios diarreicos por año. En muchos países, la diarrea especialmente la de origen cólico, es también una importante causa de morbilidad entre los niños mayores y los adultos. En los tres últimos decenios se han descubierto muchas nuevas causas de diarrea infecciosa. Los laboratorios de investigación pueden identificar actualmente los microorganismos que causan diarrea en más de tres cuartas partes de los niños que acuden a los centros de salud.¹

Muchas de las defunciones por diarrea son debidas a la deshidratación. Un gran avance ha sido el descubrimiento de que puede tratarse de forma segura y eficaz la deshidratación producida por la diarrea aguda por diversas causas y a cualquier edad, excepto cuando es grave. En efecto, más de 90% de los casos responden a la rehidratación oral usando un solo líquido. Se disuelve glucosa y varias sales de una mezcla conocida como sales de rehidratación oral (SRO) en agua para formar la solución de sales de rehidratación oral. Las sales de rehidratación oral se absorben en el intestino delgado aun en casos de diarrea copiosa, reemplazando así el agua y los electrolitos perdidos en las heces. La diarrea sanguinolenta (disentería) y la diarrea persistente acompañada de desnutrición también son causas importantes de muerte. Los episodios repetidos de diarrea contribuyen a causar desnutrición y las enfermedades diarreicas tienen mayor probabilidad de causar la muerte en niños que están desnutridos. La investigación ha revelado, sin embargo, que los efectos adversos de la diarrea sobre el estado de nutrición de un niño pueden disminuirse o prevenirse

si se le sigue alimentando durante toda la enfermedad. La morbilidad de origen diarreico es mayor en los niños infectados por el VIH. Sin embargo, el tratamiento de la diarrea en estos niños es en general el mismo que el administrado a los no infectados, aunque la intolerancia a la lactosa y a los monosacáridos es más frecuente en los niños seropositivos. Los elementos esenciales en el tratamiento de cualquier niño con diarrea son la administración del tratamiento de rehidratación oral y la alimentación constante; el uso de antimicrobianos se reserva a aquellos con diarrea sanguinolenta, casos de cólera o infecciones extraintestinales graves. Para orientar la capacitación de otro personal sanitario, como los agentes sanitarios de la comunidad, hay otras publicaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Esta cuarta revisión del manual refleja la experiencia clínica y los resultados de las investigaciones recientes en el tratamiento de los casos de diarrea. Comparada con las versiones anteriores, incluye las directrices revisadas para el tratamiento de la diarrea aguda infantil con la nueva fórmula de SRO de osmolaridad reducida y los suplementos de zinc, que se ha comprobado que limitan la duración y gravedad de los episodios diarreicos, así como las directrices revisadas para el tratamiento de la diarrea sanguinolenta. Las directrices del presente manual se basan en la versión revisada del esquema de tratamiento de la OMS que se incluye al final de este documento.¹

Objetivo general

Evaluar el efecto sobre la motilidad intestinal a diferente concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca"

Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca".
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" con mejor efecto sobre la motilidad intestinal.
- Determinar el porcentaje de tránsito intestinal y porcentaje de inhibición frente a estándares.
- Determinar la toxicidad aguda oral a dosis límite del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Desde tiempos remotos el hombre ha utilizado las plantas para protegerse, alimentarse y en el tratamiento de sus enfermedades. Las plantas medicinales en la actualidad forman parte del cuidado de la salud de millones de personas en todo el mundo, tanto en las comunidades indígenas y rurales de los países desarrollados. Las plantas son fundamentales en el desarrollo de la medicina moderna. Su acción preventiva o curativa se debe a sustancias químicas que provocan un efecto fisiológico en el organismo. Estas sustancias se conocen como principios activos y son producto del metabolismo secundario de la planta.^{2,3}

Berardi A. en su tesis, determinó el contenido de flavonoides totales, expresados como hesperidina, en las partes aéreas de *Aloysia polystachya* y *Aloysia gratissima*. Esta tesis avala el uso como antiespasmódicos intestinales de *Aloysia polystachya* y *Aloysia gratissima* ya que reducen los efectos espasmogénicos de acetilcolina (ACh).⁴

En su trabajo de investigación, Ramírez F. tuvo como objetivos evaluar el efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de la especie vegetal *Schkuhria pinnata* "canchalagua". El estudio fitoquímico del extracto etanólico al 96% de toda la planta determinó que posee una mayor proporción de alcaloides, flavonoides, compuestos Fenólicos y taninos. Alguno de los alcaloides presentes en el extracto es probable que presenten el núcleo químico del tropano por lo que se evidencia cierto grado de acción sobre la motilidad gastrointestinal. En nuestro trabajo al igual que su uso popular, no se

podría precisar si estos principios activos están en mayor porcentaje en alguna parte específica de la planta dado que se utiliza toda la especie.⁵

En un estudio Toso y Col., emplearon un modelo experimental utilizado para determinar la acción espasmolítico del extracto acuoso obtenido a partir de capítulos secos de *Centaurea solstitialis*. En el mismo ensayo se evaluaron los extractos metanólico y clorofórmico obtenidos a partir del extracto acuoso con el fin de determinar en cuál de estas fracciones se encontraba el o los principio(s) activo(s) de la planta. Se colocó un animal perteneciente a cada grupo para facilitar las comparaciones con el grupo control al que sólo se le administró excipientes y se muestran solamente las radiografías tomadas a los 0, 60, 120 y 300 minutos. Puede observarse que el vaciado gástrico se ha completado casi totalmente en el estómago del ratón perteneciente al grupo control a los 60 minutos de administrada la solución radiopaca. Los estómagos del resto de los animales, tratados con los distintos extractos, permanecen plétóricos y el avance del contenido intestinal. En la radiografía que corresponde a los 120 minutos pos administración de la sustancia radiopaca, se observa un importante desplazamiento de la misma en el tracto intestinal del grupo control, haciéndose notoria la evacuación a los 300 minutos, mientras que en los animales pertenecientes a los grupos restantes se observa un moderado progreso del contenido intestinal sin evacuación.⁶

Rivera y Col., demostraron en un estudio respecto al efecto que los extractos de hoja de guayabo tienen sobre la motilidad intestinal, encontrándose su uso medicinal como recurso antidiarreico, en el extracto metanólico inhibía la secreción gastrointestinal de acetilcolina (ACh) en el intestino aislado del cobayo, mecanismo que propuso para explicar el efecto antidiarreico, menciona que la quercetina, principal flavonoide del extracto, podría ser la responsable del efecto, concluyendo que la quercetina y algunos otros flavonoides inhibían la contracción muscular del íleon del cobayo *in vitro*.⁷

En un estudio Berardi A., en su tesis demostró, para determinar las propiedades antiespasmódicas el duodeno y el íleon de rata constituyen un modelo adecuado para estudiar los efectos gastrointestinales espasmógenos y antiespasmódicos de drogas y extractos. El intestino tiene receptores muscarínicos (M1 y M3) y permite estudiar los efectos y mecanismos antiespasmódicos directos en el músculo o la estimulación colinérgica. Otros neurotransmisores liberados en el plexo de Auerbach y Meissner que tienen receptores en el intestino delgado de

rata son: dopamina actuando en D1 y D2 para generar un efecto relajante, serotonina actuando en los poco abundantes receptores 5-HT2 dando un leve efecto constrictor, encefalinas y endorfinas actuando en receptores presinápticos para inhibir *in vivo* la liberación de otros neurotransmisores.⁴

2.2. *Columellia obovata* R. & P.

2.2.1. Clasificación taxonómica de *Columellia obovata* R. & P.

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
CLASE : MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE : ROSIDAE
ORDEN : ROSALES
FAMILIA : COLUMELLIACEAE
GÉNERO : *Columellia*
ESPECIE : *Columellia obovata* R. & P.
N.V. : "pisca pisca", "ujichkacc"

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias de Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1)

Esta familia Columelliaceae, pertenece a las especies de flora silvestre casi amenazados, conocidos como ullus, ullux, ulus, usllus, vara.⁹ Según en inventario de recursos curativos. Centros de expendio formal e informal de las ciudades de Concepción, Huancayo, Jauja y Tarma. La *Columellia obovata* es conocido como shepita, jaya-chipita.^{8,9}

2.2.2. Descripción botánica del *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca"

Es una planta arbustiva, de aproximadamente 2 – 4 metros de alto, tallos densamente ramosas, y bastante pubescentes; hojas simples, pequeñas y algo coriáceas, cortamente pecioladas, de disposición opuesta, de limbo elíptico, penninervias, de bordes ligeramente dentados, de un color cenizo debido a la presencia de pelos blanquecinos y finos que presenta al igual que los tallos. Flores pequeñas solitarias, dispuestas en el ápice de las ramas superiores; las cuales son bisexuales, heteroclamídeas, pentámeras, cortamente pediceladas; cáliz formado por 5 sépalos libres de color cenizo, corola de 5

pétalos ligeramente soldados en la base y libres en la parte superior, de color amarillo; androceo formado por 2 estambres de filamentos cortos y gruesos que nacen de la carta interna de la corola; gineceo de ovario ínfero bicarpelar. Fruto cápsula conteniendo numerosas semillas

2.2.3. Propiedades y usos medicinales

La *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca", es una planta de sabor amarguísimo, se utilizan las hojas para fiebres intermitentes prolongadas, y del estómago. Los pobladores de zonas altas del Perú, emplean en infusiones las hojas y cortezas de *Columellia obovata* R. & P. en el tratamiento dolores estomacales; según los reportes por los lugareños se utilizan en infusión como hipoglicemiantes y hipocolesterolemia. Se usa en medicina casera como febrífugo, y antiséptica tomando las hojas en infusión. Además los lugareños utilizan los tallos tiernos para fabricar canastas y cestos.¹⁰

Según la verificación de la identificación de los recursos a cargo de los especialistas del Recursos y usos declarados por los vendedores, la infusión de las hojas de la *columellia obovata* R. & P. se utiliza como antipirético, cólicos estomacales y en las heridas.⁹

2.2.4. Distribución y hábitat

Crece en forma silvestre formando generalmente los matorrales de los bosques de neblina sobre los 3 500 m.s.n.m. La *Columellia obovata* R & P son especies arbóreas de porte mediano identificadas en los Valles y Quebradas, conocido como pisca, con una altura aproximadamente 5 metros, en la Provincia de Quinua.¹¹

Familias y número de especies de plantas de fibra registradas para la región andina de Ecuador, Perú y Bolivia, respectivamente. De la familia Columelliaceae en Perú solamente existe una especie la *Columellia obovata* R. & P. Se han utilizado las siguientes abreviaturas para los países, B: Bolivia, E: Ecuador, P: Perú. Para los nombres vernáculos: a) Aymara, e) español, q) Quichua o Quechua. Columelliaceae, *Columellia obovata* Ruiz & Pav. P: p'ispita, wamanpito (q). Los tallos se emplean para hacer cestos.¹⁰

2.3. Metabolitos secundarios implicados en el efecto sobre la motilidad intestinal

2.3.1. Flavonoides

La mayoría de los flavonoides se comportan *in vitro* como inhibidores enzimáticos, lo que explica el mecanismo de acción de varios de sus efectos farmacológicos, aunque en algunos casos pueden actuar como estimulantes enzimáticos. Otras propiedades atribuidas a los flavonoides: antialérgico, antimicrobiano, antiagregante plaquetario, diurética, espasmolítico, antihipercolesterolemia.¹²

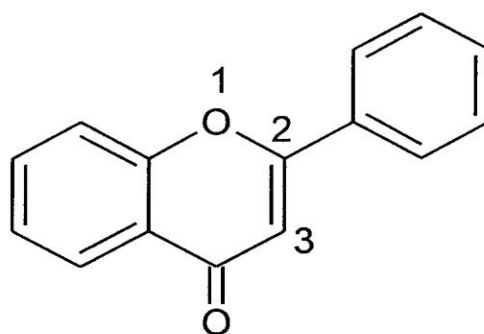


Figura 1. 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides.¹²

2.3.2. Alcaloides

Los alcaloides, como se indica en su concepto, constituyen los principios activos de multitud de drogas a las que les confieren importantes aplicaciones farmacológicas. Se debe resaltar que la relevancia de los alcaloides en farmacología reside no solo en su utilización directa o de las drogas que los poseen, sino también en que estos compuestos constituyen, en muchas ocasiones, la materia prima para poder ser posteriormente transformados químicamente por la industria farmacéutica, mejorando algunas de sus propiedades y constituyendo muchos de los fármacos actualmente utilizados. Así por ejemplo, a partir de los alcaloides tropánicos se obtienen el bromuro de ipratropio (bromuro N-isopropil atropina) utilizado como antiasmático, o el bromuro de N-butilescolamina ampliamente empleado como espasmolítico.¹²

2.3.3. Iridoides

Los iridoides *stricto sensu* son monoterpenos que se caracterizan por un esqueleto ciclopenta [c]piránico, a veces denominado con el término de iridano (cis-2-oxabicyclo-[4,3,0]-nonano), *Lato sensu*, se admite incluir en este grupo a los secoiridoides, procedentes de los anteriores por ruptura del enlace 7,8 del núcleo ciclopentánico. Recientemente, estudios más extensos revelaron que los iridoides exhiben una amplia gama de bioactividad, tales como neuroprotector,

inmunomodulador y antiinflamatorio, efecto hepatoprotector y cardioprotector. También se registraron actividades contra el cáncer, antioxidante, antimicrobiana, hipoglucemiante, hipolipemiante, propiedad colerético, antiespasmódica y purgante.¹³ Los iridoides pueden encontrarse como estructuras abiertas (secoiridoides), o cerradas (iridoides propiamente dichos), y generalmente aparecen en forma de heterósidos, mayoritariamente como glucósidos. Estos compuestos presentan propiedades beneficiosas sobre la función hepática y biliar. También han mostrado actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, antitumoral y antiviral, y se han utilizado como antídoto en el envenenamiento producido tras el consumo de hongos venenosos del género *Amanita*. Distintas plantas como el olivo, el harpagofito, la valeriana, la genciana y el fresno contienen principios activos de naturaleza iridoidica.¹⁴

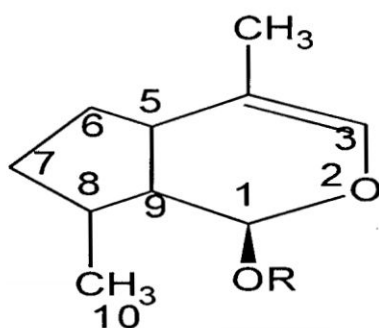


Figura 2. Estructura básica y numeración de los iridoides.¹³

La genciana (*Gentiana lutea* L., familia Gentianaceae) es un arbusto que forma parte de numerosos preparados de hierbas estimulantes gástricas. La raíz de esta planta posee compuestos amargos que estimulan las papilas gustativas. Estos compuestos producen por ello una liberación refleja de saliva y jugos gastrointestinales que incrementan el apetito. El sabor amargo de la raíz, y de la planta en general, se debe a la presencia de glucósidos secoiridoides (swertiamarina, gentiopicrosina, amarogentina y swerósido) que le confieren propiedades beneficiosas sobre el sistema digestivo, facilitando las digestiones (eupeptico), estimulando el apetito, aumentando la secreción hepática de bilis y facilitando la expulsión de la bilis retenida en la vesícula biliar (efecto colerético y colagogo). Existen otros componentes en esta planta, tales como el ácido longanico, un iridoide con actividad antiinflamatoria.¹⁴

Los sesquiterpenoides, derivadas biogenéticamente de los sesquiterpenos, constituyen un grupo de terpenoides (C₁₅) con un anillo lactónico, que

representan los componentes activos de muchas plantas de la familia Asteraceae. Son sustancias amargas que se encuentran en todas las partes de la planta.¹⁵

2.4. Estructura y Fisiología del intestino delgado

El íleon es la porción distal del intestino delgado. Está constituido por la serosa; dos capas de músculo liso, una capa longitudinal externa y una circular interna; dos plexos nerviosos; la submucosa; la mucosa muscularis; y, la mucosa, que contiene las vellosidades. Las contracciones del músculo liso circular (contracciones segmentales) mezclan el contenido del lumen; y las contracciones del músculo longitudinal producen las contracciones peristálticas que se superponen a las de segmentación e impulsan el quimo a lo largo del intestino. Un plexo nervioso es una red de nervios que se encuentra entre los tejidos. En el intestino existen dos plexos nerviosos: el de Auerbach y el de Meissner. La estimulación eléctrica del íleon activa las fibras nerviosas de ambos plexos.¹⁶

2.5. Diferenciación entre segmentos

A pesar de que, como ya hemos mencionado, presentan características comunes que harían que hablemos del intestino delgado en su conjunto la mayor parte de las veces, el duodeno, yeyuno e íleon presentan diferencias histológicas que es preciso conocer:

El duodeno se extiende desde el píloro propio del estómago hasta el yeyuno. Como elemento a destacar, contiene glándulas de Brunner en la submucosa, productoras de una secreción alcalina (pH 8,8-9,3) utilizada para neutralizar la acidez del quimo. Sus vellosidades son cortas y anchas, y gracias al esfínter de Oddi recoge la bilis y las secreciones del páncreas. Pueden existir células de Paneth en la base de las criptas de Lieberkühn.

El yeyuno, por el contrario, posee las características vellosidades largas a modo de digitaciones, con el vaso quilífero completamente desarrollado en el interior de las mismas. No contiene glándulas de Brunner, puesto que la función de alcalinizar el quimo se hace en el segmento anterior, pero pueden encontrarse ya alguna placa de Peyer. Se encuentran células de Paneth en las criptas de Lieberkühn. El rasgo más destacado del íleon son las placas de Peyer, folículos linfoides ubicados en la mucosa y submucosa. No existen glándulas de Brunner y las vellosidades se hacen más cortas en comparación con las del segmento anterior.¹⁷

2.6. Farmacología de las células del músculo liso intestinal

La noradrenalina (NA) o norepinefrina es el principal neurotransmisor inhibitorio y al ser liberada de las fibras simpáticas postganglionares, actúa sobre los adrenoreceptores inhibitorios en la membrana del músculo liso produciendo relajación. La acetilcolina (ACh) es el principal neurotransmisor excitatorio de la sinapsis ganglionar y es liberada de las fibras parasimpáticas postganglionares. Actúa sobre los receptores colinérgicos nicotínicos de las neuronas entéricas y los muscarínicos del músculo liso produciendo contracción. Cuando se agrega a la preparación del íleon acetilcolina (ACh) o cualquier otro agonista que interactúe directamente con los receptores localizados en la membrana del músculo liso se produce una contracción inmediata inducida por el aumento transitorio de la concentración de calcio intracelular; mientras que, como ya se mencionó, la adición de noradrenalina a la preparación produce relajación. La acetilcolina (ACh) estimula predominantemente a los receptores colinérgicos muscarínicos del músculo liso, ya que los receptores colinérgicos nicotínicos en las fibras nerviosas postganglionares son mucho menos sensibles. Los receptores para 5-HT e histamina también están presentes en la membrana del músculo liso. Las evidencias indican que las fibras nerviosas que utilizan histamina no terminan en el intestino delgado; mientras que las interneuronas que utilizan 5-HT si están presentes en el plexo mientérico del tracto gastrointestinal.¹⁶

La estimulación transmural de baja frecuencia del íleon de cobayo libera ACh por activación de las terminales nerviosas parasimpáticas. La acetilcolina (ACh) produce contracción del músculo liso del íleon al actuar sobre sus receptores muscarínicos. Si se liberarían opioides, la naloxona bloquearía cualquier efecto sobre la preparación, y esto no sucede. De manera similar parecería que esta estimulación no produce la liberación de noradrenalina de las terminales nerviosas simpáticas. El bloqueo parcial observado por morfina y clonidina sugiere que la activación de los receptores opioides y los adrenoreceptores por ligandos exógenos bloquea parcialmente el tamaño de la contracción producida por la estimulación transmural de baja frecuencia.¹⁶

2.7. Anticolinérgicos

2.7.1. Clasificación de anticolinérgicos

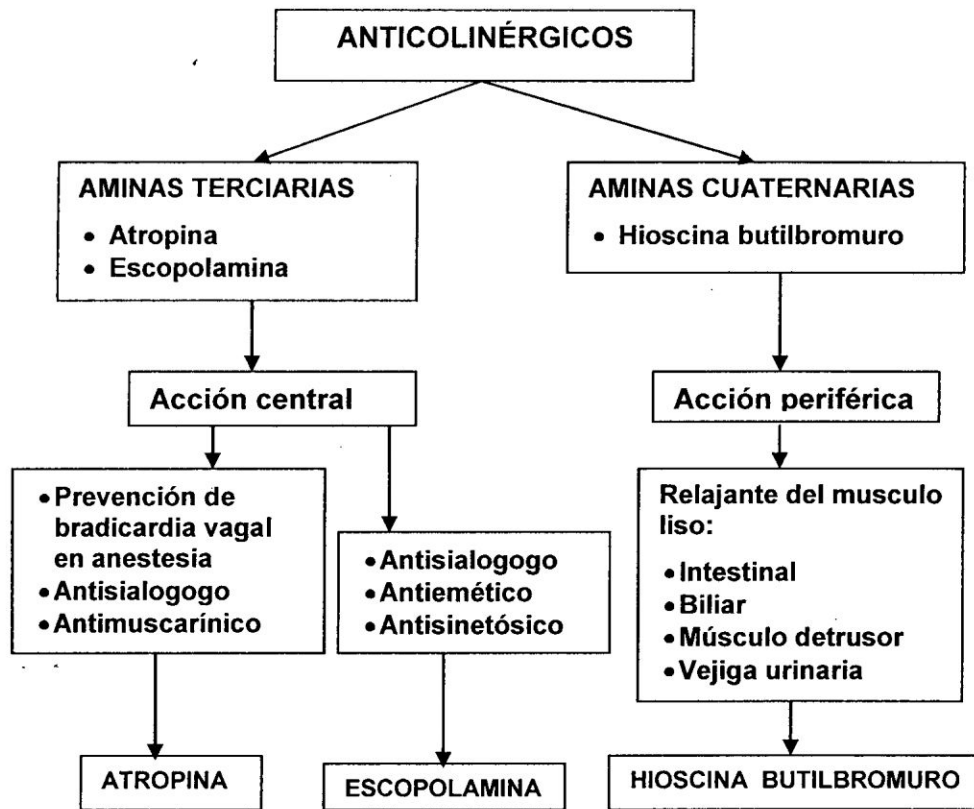


Figura 3. Los anticolinérgicos.¹⁸

2.7.2. Alcaloides naturales: los principales anticolinérgicos son alcaloides obtenidos de algunas solanáceas.

La atropina (*d-l*-hiosciamina). Se encuentra en la *Atropa belladonna* y en el *Datura stramonium* "chamico". Es un éster orgánico formado por la combinación de un ácido aromático, el ácido trópico y una base orgánica, tropina.

La atropina natural es un mezcla racémica formada por partes iguales de *l* y *d*-hiosciamina, siendo el derivado *l*-hiosciamina el compuesto activo, cuya potencia individual es del doble que la atropina.¹⁹

2.7.3. Escopolamina (hioscina). Se encuentra en el *Hyscyamus niger* "beleño" y *scopolia carniolico*, y el compuesto que se usa es la *l*-hioscina, éster formado por las combinación del ácido trópico y una base orgánica, la escopina; ésta difiere de la tropina sólo en que tiene un puente de oxígeno entre los carbonos 6 y 7, dando un epóxido que, en general, le otorga una acción depresora sobre el SNC.¹⁹

2.8. Atropina

La atropina (*d,l*-hiosciamina). Se encuentra en la *Atropa belladonna* y en el *Datura stramonium* "chamico". Es un éster orgánico formado por la combinación de un ácido aromático, el ácido trópico y una base orgánica, tropina. La atropina natural es una mezcla racémica formada por partes iguales de *l* y *d*-hiosciamina, siendo el derivado *l*-hiosciamina el compuesto activo, cuya potencia individual es del doble que la atropina.¹⁹

Por lo general, los antagonistas muscarínicos son llamados fármacos parasimpáticos debido a que bloquean los efectos de la descarga autonómica parasimpática. Sin embargo, no efectúan "lisis" de los nervios parasimpáticos y tienen algunos efectos no predecibles con base en el bloqueo del sistema nervioso parasimpático. Por estas causas es preferible denominarlos "antimuscarínicos".

Los compuestos con efectos antimuscarínicos que existen en la naturaleza se conocieron y emplearon durante milenios como medicamentos, venenos y cosméticos. El prototipo de estos compuestos es la atropina. Se conocen muchos alcaloides vegetales similares y se han desarrollado cientos de compuestos antimuscarínicos sintéticos.²⁰

2.8.1. Origen y estructura

La atropina y sus derivados naturales son ésteres alcaloides de la amina terciaria del ácido trópico. La atropina (hioscinamina) se encuentra en la planta *Atropa belladonna* y en *Datura stramonium* (toloache o estramonio). La escopolamina (hioscina) se encuentra en *Hyoscyamus niger* o beleño, como el estereoisómero *l* (-) de la planta. La atropina natural es *l* (-) hioscinamina, pero el compuesto se racemiza fácilmente, de manera que el producto comercial es *d,l*-hioscinamina racémica. Los isómeros *l* (-) de ambos alcaloides son por lo menos 100 veces más potentes que los isómeros *d* (+). Diversas moléculas totalmente sintéticas y semisintéticas tienen efectos antimuscarínicos. Los miembros terciarios de estas clases, a menudo se emplean por su efecto en los ojos o en el SNC muchos antihistamínicos, antipsicóticos y antidepresivos tienen estructuras similares y, como puede predecirse, sus efectos antimuscarínicos son significativos. Se han desarrollado sustancias antimuscarínicas de amina cuaternaria para producir más efectos periféricos y menos en el sistema nervioso central (SNC).²⁰

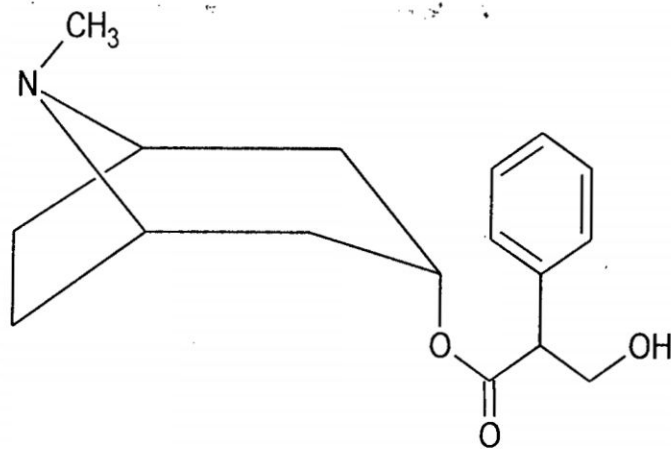


Figura 4. Estructura química de la atropina.²¹

2.8.2. Absorción

Los alcaloides naturales y la mayor parte de los antimuscarínicos terciarios se absorben bien en el intestino y a través de la conjuntiva. Cuando se aplican en un vehículo adecuado, algunos de ellos, como la escopolamina, se absorben inclusive a través de la piel (vía transdérmica). En contraste, solo 10 a 30% de las dosis de los antimuscarínicos cuaternarios se absorbe después de la administración oral, lo que refleja la reducida liposolubilidad de la molécula con carga.^{19, 20}

2.8.3. Distribución

La atropina y las otras sustancias terciarias se distribuyen ampliamente después de absorberse en el cuerpo. Alcanzan concentraciones significativas en el sistema nervioso central después de 30 a 60 min, y esto puede limitar la dosis tolerada cuando el fármaco se ingiere debido a sus efectos periféricos. La escopolamina se distribuye rápida y completamente en el interior del sistema nervioso central, donde tiene efectos mayores que gran parte de los demás antimuscarínicos. En contraste los derivados cuaternarios son mal captados por el encéfalo y, por tanto, están relativamente libres, en dosis bajas, de esos efectos sobre el sistema nervioso central (SNC).²⁰

2.8.4. Metabolismo y excreción

La atropina desaparece con rapidez de la sangre después de ser administrada, ya que tiene vida media de 2 h. cerca de 60% de la dosis se excreta sin cambios en la orina; casi todo el resto desaparece en la orina como producto de hidrólisis

y conjugación. El efecto del fármaco en el funcionamiento parasimpático disminuye con rapidez en todos los órganos, excepto en los ojos. Sus efectos en el músculo ciliar y el iris persisten 72 h o más.²⁰

2.8.5. Mecanismo de acción

Los anticolinérgicos bloquean las acciones muscarínicas de la ACh mediante antagonismo competitivo, que puede ser superado (revertido) administrando dosis elevadas de agonistas colinérgicos.¹⁹ La atropina provoca bloqueo reversible (superable) de las acciones de los colinérgicos en los receptores muscarínicos; es decir, el bloqueo producido por una dosis baja de atropina puede ser contrarrestado por una concentración más grande de acetilcolina o de un agonista muscarínico equivalente. Las mutaciones experimentales sugieren que se requiere un aminoácido específico en el receptor para formar la unión característica con el átomo de nitrógeno de la acetilcolina; este aminoácido también se necesita para que se realice la unión de los antimuscarínicos. Cuando la atropina se une al receptor muscarínico, impide las acciones descritas en el receptor, como la liberación de inositol trifosfato (IP₃) y la inhibición de la adenililciclase, producidas por agonistas muscarínicos. La eficacia de los fármacos antimuscarínicos varía según el tejido que se estudie y la fuente del agonista. Los tejidos más sensibles a la atropina son las glándulas salivales, bronquiales y sudoríparas. La secreción de ácido por las células parietales gástricas es menos sensible. En la mayor parte de los tejidos, los antimuscarínicos son mucho más eficaces para bloquear agonistas de receptores colinérgicos administrados de manera exógena que la acetilcolina, que se libera endógenamente. La atropina es altamente selectiva para los receptores muscarínicos. Su potencia en los receptores nicotínicos es mucho menor que en los muscarínicos; y su acción en los receptores no muscarínicos por lo general es clínicamente indetectable. La atropina no distingue entre los subgrupos M₁, M₂ y M₃ de los receptores muscarínicos.²⁰

La atropina y compuestos relacionados son antagonistas competitivos de las acciones de la acetilcolina (ACh) y otros agonistas competitivos de las acciones de la acetilcolina (ACh) y otros agonistas muscarínicos; compiten con dichos agonista por un sitio común de fijación sobre el receptor muscarínico. El sitio de fijación para los agonistas competitivos y la acetilcolina es una hendidura que se cree forman diversas espirales transmembrana del receptor. Se cree que una

molécula de ácido aspártico que se encuentra en la tercera espiral transmembrana de los cinco subtipos de receptor muscarínico forma un enlace iónico con el nitrógeno cuaternario catiónico en la acetilcolina, y se ha demostrado por mutagénesis que se requiere para la fijación de los antagonistas en el receptor. Como el antagonismo producido por la atropina es competitivo, se puede superar si se incrementa en cantidad suficiente la concentración de acetilcolina (ACh) a nivel de los sitios receptores del órgano efector. La atropina bloquea todos los receptores muscarínicos, tanto los de las glándulas exocrinas como los de músculo liso y cardíaco, ganglios y neuronas intramurales. Los antagonistas de los receptores muscarínicos inhiben las reacciones a la estimulación nerviosa colinérgica posganglionar con menor facilidad que las reacciones a los colinésterasas inyectados. La diferencia puede deberse a descarga de acetilcolina (ACh) desde las terminaciones nerviosas colinérgicas, tan cerca de los receptores que logran acceso a concentraciones muy grandes del transmisor hacia los receptores en la unión neuroefectora. También la difusión y otros factores limitan la concentración del antagonista que puede lograrse en estos sitios receptores.²¹

2.9. Loperamida, química y mecanismo de acción

La loperamida, al igual que el difenoxilato, es un derivado de la piperidina. Vuelve más lenta la motilidad gastrointestinal por efectos en los músculos circular y longitudinal del intestino, posiblemente como resultado de sus interacciones con los receptores de opioides en el intestino, cierta parte de su efecto antidiarreico puede deberse a reducción de la secreción gastrointestinal. Los agentes inhibidores de la motilidad intestinal de tipo opiáceo actúan sobre los receptores opioides μ que existen en el plexo mientérico y posiblemente también sobre los receptores 5H-T, provocando una hiperpolarización de las neuronas que inhibe la liberación de acetilcolina, su efecto global consiste en una disminución de la actividad y el tono segmentario intestinal.²²

La loperamida es tan eficaz como el difenoxilato para controlar la diarrea crónica. En estudios clínicos el efecto adverso más frecuente consiste en cólicos. Se desarrolla poca tolerancia a su efecto astringente. En voluntarios que tomaron grandes dosis, las concentraciones de loperamida en plasma fueron máximas cerca de cuatro horas después de una ingestión; este largo periodo de latencia se puede deber a inhibición de la motilidad gastrointestinal y a circulación

enterohepática del fármaco. La vida media manifiesta es de 7 a 14h. La loperamida no se absorbe bien después de la administración oral y, además, las dosis parecen no penetrar bien en el cerebro; estas propiedades contribuyen a la selectividad de su acción. Una gran proporción del fármaco se elimina por el excremento. Es poco probable que se abuse de este fármaco por vía parenteral, a causa de su baja solubilidad; las grandes dosis de loperamida administradas a voluntarios no producen los efectos placenteros típicos de los opioides. El régimen de dosificación ordinaria es de 4 a 8 mg/día; la dosis diaria no debe pasar de 16 mg.²¹

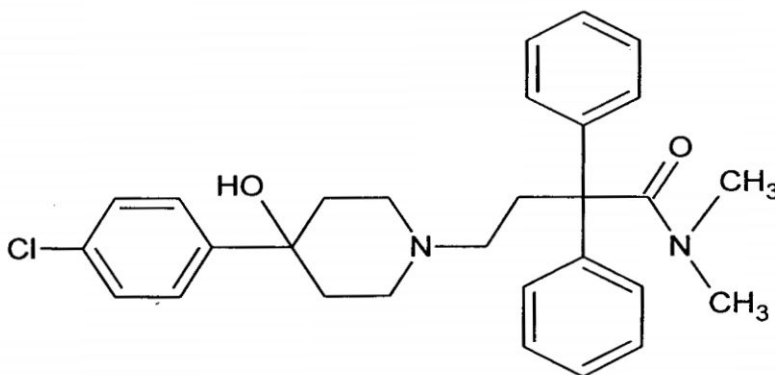


Figura 5. Estructura química de loperamida.²¹

2.10. Peristaltismo intestinal

El músculo intestinal muestra contracción fásica y relajación de las capas del músculo circular y longitudinal. Estas acciones son coordinadas por las neuronas intrínsecas del plexo mientérico con el propósito de producir la propulsión del fluido a través del lumen en la ausencia de cualquier gradiente de presión aplicada externamente. Las contracciones propulsivas pueden iniciarse por distensión luminal causada por un bolo líquido o semisólido, por estimulación química de las neuronas sensoriales de la mucosa; o por fármacos que incrementan la actividad de las neuronas mientéricas. El reflejo peristáltico es el equivalente intestinal del reflejo espinal y ocurre como consecuencia de la actividad muscular en respuesta a la estimulación de los receptores intramurales de estiramiento. La secuencia estereotipada de eventos se lleva a cabo de la siguiente manera:

- El músculo circular se relaja antes del bolo y se contrae detrás de él produciendo una fuerza y un bajo gradiente de presión por el cual el bolo es expulsado.

- El músculo longitudinal se contrae antes del bolo, facilitando la relajación del músculo circular.
- Después del bolo, el músculo longitudinal se relaja permitiendo la contracción óptima del músculo circular.¹⁷

2.11. Motilidad del intestino delgado

La motilidad del intestino delgado está controlada al menos por tres mecanismos:

2.11.1 Control miogénico

Actividad inherente al músculo liso, la actividad rítmica del músculo liso intestinal (el ritmo eléctrico basal –REB) se debe a la despolarización espontánea de las células del músculo liso lo que produce la propagación de ondas eléctricas llamadas ondas lentas. Estas despolarizaciones inducen descargas en espiga (potenciales de acción musculares) que disparan la actividad contráctil. La tensión que se genera está relacionada con el número de espigas asociadas con cada onda lenta. La repolarización de esta onda lenta produce la relajación del músculo.¹⁶

2.11.2. Control neuronal

Actividad nerviosa intrínseca y extrínseca, la actividad rítmica de las ondas lentas se modifica por efecto de las neuronas y las hormonas. Tanto la capa muscular longitudinal como la circular están inervadas por el sistema nervioso entérico (SNE), que consiste en numerosas neuronas intrínsecas organizadas en dos plexos de tejido nervioso. El más prominente se conoce como plexo mientérico o de Auerbach y se ubica entre las capas del músculo circular y longitudinal. El otro se conoce como plexo de Meissner ó submucoso y está ubicado entre la capa de músculo circular y la submucosa. Muchas neuronas intrínsecas son colinérgicas y su estimulación provoca la contracción del músculo. Los receptores intestinales, como aquellos que responden al estiramiento, envían señales a las neuronas intrínsecas iniciando reflejos locales. Además, las neuronas extrínsecas que provienen de las fibras del sistema nervioso autónomo, hacen sinapsis con neuronas intrínsecas del sistema nervioso entérico. Las fibras parasimpáticas preganglionares (vagales) provienen del núcleo vagal dorsal del tallo cerebral y hacen sinapsis con las neuronas intrínsecas en el tracto gastrointestinal, las cuales son fibras postganglionares del sistema nervioso parasimpático. Cada fibra preganglionar inerva varios miles de fibras postganglionares. Las fibras simpáticas provienen de los ganglios

mesentéricos celiaco y superior, y llegan al intestino por los nervios esplácnicos terminando en las neuronas intrínsecas o directamente en las células del músculo liso.¹⁶

2.11.3. Control hormonal

Acción de las sustancias circulantes o liberadas localmente Varias hormonas afectan la motilidad intestinal, por ejemplo, la gastrina y la colecistoquinina (CCK) estimulan la motilidad, mientras que el glucagón pancreático y el enteroglucagón la inhiben. Aparentemente no existen neuronas serotoninérgicas (que contienen 5-hidroxitriptamina o serotonina) ni histaminérgicas (que contienen histamina) en ninguno de los plexos del sistema nervioso entérico; aunque las células del músculo liso contienen receptores para ambos neurotransmisores. Si se adiciona histamina a la preparación de íleon aislado, éste se contrae.¹⁶

2.12. Trastornos de la motilidad gastrointestinal

La importancia que tiene en medicina la motilidad gastrointestinal y la percepción digestiva. Fisiológicamente, estas funciones clave garantizan que la alimentación y la digestión se realicen de forma normal y desapercibida, aspectos que son cruciales para la salud y el bienestar. Por el contrario, las alteraciones fisiopatológicas pueden traducirse en síntomas digestivos, muy frecuentes en la población general, que pueden ir desde lo simplemente molesto a lo totalmente incapacitante. De hecho, los trastornos más importantes pueden provocar malnutrición, desequilibrios metabólicos y deterioro general del organismo. Las alteraciones de la motilidad digestiva pueden deteriorar la homeostasia, inducir cambios en la flora intestinal y facilitar la translocación bacteriana desde el intestino hacia otras vísceras. El reconocimiento clínico de los trastornos de la motilidad y de la percepción gastrointestinal se basa en gran medida en la localización anatómica de su expresión sintomática. Así, por ejemplo, la disfagia, los síntomas de reflujo y el dolor torácico se asocian normalmente a los trastornos esofágicos o gastroesofágicos. El dolor o malestar abdominal alto, la saciedad precoz, las náuseas, los vómitos y otros síntomas de tipo dispéptico suelen atribuirse normalmente a disfunciones del estómago o de los primeros tramos del intestino delgado. La distensión abdominal es un síntoma un tanto misterioso que puede tener su origen en trastornos motores/sensitivos a lo largo de todo el tracto gastrointestinal. La diarrea y el estreñimiento suelen deberse a trastornos del intestino delgado y/o del colon. Tradicionalmente, las afecciones clínicas se han dividido en trastornos somáticos achalasia, gastroparesia,

pseudoobstrucción intestinal crónica, etc. y trastornos funcionales de la motilidad gastrointestinal dispepsia, síndrome del intestino irritable y un sin número de descripciones y síndromes clínicos. La aplicación de pruebas diagnósticas más sofisticadas y discriminatorias (manometría intestinal, barostato, etc.), así como los estudios histológicos, han mostrado cada vez más frecuentemente que muchos pacientes considerados hasta entonces como funcionales presentaban anomalías fisiológicas o morfológicas demostrables. Por esta razón, se recomienda ser cautos antes de clasificar precipitadamente a estos pacientes bien como orgánicos o como funcionales. Hoy contemplamos la hipótesis de que en la mayoría de los pacientes tanto el cerebro como el tubo digestivo son responsables de la producción de los síntomas. Esta evolución de nuestros conceptos acerca del origen de los trastornos de la motilidad y la percepción gastrointestinales surge en gran medida de datos procedentes de investigaciones que muestran que los mecanismos clave de la enfermedad (inflamación, hiperalgesia y dismotilidad) pueden inducirse a nivel cerebral o periférico, indistintamente. En otras palabras, tanto el cerebro como el tubo digestivo y posiblemente, otras estructuras intermedias también son capaces de desencadenar una inflamación local, de alterar la propulsión normal y de amplificar la percepción consciente de los estímulos mecánicos, todos ellos aspectos clave de estos trastornos digestivos. En resumen, los trastornos de la motilidad y de la percepción gastrointestinal, al igual que otras muchas afecciones médicas, derivan probablemente de una combinación de factores ambientales y genéticos que es la que determina la aparición de la enfermedad clínica a través de la alteración de múltiples mecanismos. Los factores dietéticos también son importantes. Concretamente, los lípidos tienen un efecto amplificador sobre la percepción visceral y este fenómeno podría explicar el aumento característico de los síntomas que presentan los pacientes con trastornos digestivos funcionales cuando consumen comidas ricas grasas. Al mismo tiempo, los lípidos lumbales también influyen sobre la motilidad digestiva a través de reflejos neuroendocrinos y podrían exagerar algunas de las alteraciones motoras que subyacen en la dispepsia, el síndrome del intestino irritable y otros trastornos funcionales frecuentes. Las principales herramientas diagnósticas que podrían utilizar los clínicos para diagnosticar los distintos trastornos de la motilidad y la percepción gastrointestinales. La capacidad clínica del médico, facilitada por su habilidad a la hora de hacer la historia clínica, sigue

siendo la mejor. Los pacientes con trastornos de la motilidad y, especialmente, los que tienen trastornos funcionales se diagnostican sobre todo mediante la perspicacia clínica. Una serie de consideraciones puramente clínicas, como la edad, la presencia o ausencia de síntomas de alarma, la motivación del paciente, la interacción con los familiares, etc., le permiten al clínico formular un diagnóstico tentativo y emprender ulteriores estudios.²³

2.13. Diarrea

La diarrea es un trastorno caracterizado por deposiciones inusualmente frecuentes y heces de poca consistencia o líquidas. No es una enfermedad en sí, sino más bien el síntoma de una enfermedad subyacente. La diarrea puede ser resultada de una intoxicación alimentaria o de otras enfermedades, como disentería o cólera, trastornos emocionales y otras muchas. La diarrea es un trastorno muy común que prácticamente todo el mundo ha padecido alguna vez. Normalmente, no es más que una molestia que apenas interfiere en el trabajo o en el tiempo libre, pero a veces un ataque intenso de diarrea puede provocar graves daños a una persona al causarle deshidratación. La duración de una diarrea es muy variable: puede ser aguda (que comienza y termina súbitamente) o crónica (de larga duración). La diarrea se produce en el interior del intestino delgado o grueso cuando se irritan e inflaman por una infección o por la acción de ciertas comidas: como consecuencia, el intestino inflamado no reabsorbe tanta agua del bolo alimenticio (contenido del intestino) como haría normalmente, y esta cantidad extra de agua hace que las deposiciones sean más líquidas.²²

La diarrea es la evacuación de heces excepcionalmente sueltas o líquidas, generalmente en un número mayor de tres en 24 horas. Sin embargo, la disminución de la consistencia es incluso más importante que la frecuencia. No se considera diarrea a la evacuación frecuente de heces firmes. Los niños alimentados sólo con leche materna a menudo presentan heces sueltas o "pastosas" y tampoco en este caso se considera diarrea. Las madres saben generalmente cuando sus hijos tienen diarrea y pueden proporcionar definiciones prácticas muy útiles en situaciones concretas.¹

2.13.1 Tipos clínicos de enfermedades diarreicas

Es sumamente práctico basar el tratamiento de la diarrea en el tipo clínico de enfermedad, que se determinará fácilmente la primera vez que se examina al niño, y sin necesidad de realizar pruebas de laboratorio. Se pueden reconocer

cuatro tipos clínicos de diarrea, que reflejan la enfermedad básica subyacente y la función alterada en cada uno de ellos:

- Diarrea acuosa aguda (como el cólera), que dura varias horas o días y el principal peligro es la deshidratación; también se produce pérdida de peso si no se prosigue la alimentación.
- Diarrea sanguinolenta aguda, también llamada disentería, cuyos principales peligros son el daño de la mucosa intestinal, la septicemia y la desnutrición; también pueden presentarse otras complicaciones, como la deshidratación.
- Diarrea persistente, que dura 14 días o más y cuyos principales peligros son la desnutrición y las infecciones extraintestinales graves; también puede producirse deshidratación.
- Diarrea con desnutrición grave, cuyos principales peligros son la infección diseminada grave, la deshidratación, la insuficiencia cardíaca y las carencias vitamínicas y minerales. El tratamiento de los distintos tipos de diarrea consiste en prevenir o tratar los peligros principales que presente cada uno.¹

2.13.2. Factores relacionados con la diarrea

Los ataques de diarrea, que varían de leves a severos, normalmente se deben a diferentes tipos de microorganismos infecciosos presentes en el agua o en la comida contaminadas. También puede que se padezca diarrea porque el organismo tenga dificultades para digerir productos lácteos u otros alimentos. Los casos leves están causados, entre otros motivos, por el consumo de comida picante o por la ansiedad que provoca un factor de estrés, como por ejemplo tener que hablar en público.²⁴

2.13.3. Terapia de las diarreas

En la mayoría de las ocasiones, la diarrea es leve y no requiere tratamiento. Si los ataques duran más de unos pocos días, son recurrentes o muestran indicios de sangre en las heces debe consultarse con un médico. En el caso de los bebés debería buscarse consejo médico si la diarrea dura más de 48 h. Las pruebas médicas a las que se recurre en el diagnóstico incluyen examen y cultivo de muestras de heces (en busca de bacterias, virus o parásitos), radiografías o la utilización del endoscopio, un instrumento para visualizar el interior del colon. El tratamiento de una diarrea leve consiste principalmente en ingerir líquidos para prevenir la deshidratación. En algunos casos, los médicos recetan medicaciones que suavizan los síntomas. El tratamiento de diarreas intensas depende principalmente de su origen: por ejemplo, en caso de

disentería o ciertos tipos de intoxicación alimentaria pueden recetarse antibióticos.²⁴

2.13.4. Uso de antimicrobianos y medicamentos “antidiarreicos”

Los antimicrobianos no deben usarse sistemáticamente porque, excepto en los casos que se indican más adelante, no es posible distinguir clínicamente episodios que podrían responder, como la diarrea causada por *Eshirichia coli* enterotóxica, de aquellos causados por agentes que no responden a los antimicrobianos, como los rotavirus o el género *Cryptosporidium*. Es más, aun para las infecciones potencialmente sensibles, la selección del antibiótico eficaz requiere conocer la posible sensibilidad del agente causal, y esta información no suele obtenerse fácilmente. Además, el uso de antibióticos aumenta el costo del tratamiento, el riesgo de reacciones adversas y la aparición de bacterias resistentes.

La utilidad de los antimicrobianos sólo es fiable en niños con diarrea sanguinolenta (shigelosis probable), sospecha de cólera con deshidratación intensa e infecciones extraintestinales graves como la neumonía. Los medicamentos antiprotozoarios rara vez están indicados. Los medicamentos “antidiarreicos” y antieméticos no tienen ningún beneficio práctico para los niños con diarrea aguda o persistente. No previenen la deshidratación ni mejoran el estado nutricional, que deben ser los objetivos principales del tratamiento. Algunos tienen efectos colaterales peligrosos e incluso pueden ser mortales. Estos medicamentos nunca deben administrarse a niños menores de 5 años.¹

Además, deben tratarse durante tres días con ciprofloxacino, o durante cinco días con otro antibiótico oral eficaz frente a la mayor parte de las cepas de *Shigella* de la región. Esta recomendación se debe a que la shigelosis es la causa de la mayoría de los episodios de diarrea sanguinolenta infantil, y es la causa de prácticamente todos los casos graves. Es muy importante realizar el antibiograma para las cepas de *Shigella* de la región, ya que la resistencia a los antibióticos es frecuente y el tipo de resistencia es impredecible. Los antibióticos ineficaces para el tratamiento de la shigelosis, independientemente de la sensibilidad de las cepas locales, estos antibióticos nunca deben administrarse para tratar una presunta shigelosis. Recientemente se ha recomendado que el ácido nalidíxico no se utilice en el tratamiento de la infección por *Shigella*. Entre los signos de mejoría se pueden citar la desaparición de la fiebre, menos sangre en las heces, disminución de las deposiciones, aumento del apetito y vuelta a la

actividad normal. Si no hay mejoría o muy poca después de dos días, los niños de las tres primeras categorías mencionadas deben enviarse al hospital porque tienen mayor riesgo de complicaciones graves o de muerte. El tratamiento del resto de los niños se cambiará a otro antibiótico recomendado para las cepas de *Shigella* de la región. Los niños cuyo estado no haya mejorado después de administrar durante dos días el segundo antibiótico también deberán enviarse al hospital. Si el niño está mejorando, se continuará con el antimicrobiano durante cinco días.¹

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de octubre a diciembre del 2015.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Esta especie *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca", crecen en el Distrito de Quinua, provincia de Huamanga, región Ayacucho.

3.2.2. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de exclusión: de la especie *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca", se excluyeron la raíz, tallos, flores, cortezas y hojas lesionadas.

Criterios de inclusión: hojas frescas *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" libres de cualquier tipo de lesión.

3.2.3. Muestra

Dos kilogramos de hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" recolectadas en el Distrito de Quinua, provincia Huamanga, región Ayacucho.

3.2.4. Sistema de muestreo

Se seleccionaron en forma aleatoria (muestreo aleatorio simple), para ello se necesita un cuidado y técnica para extraer las hojas de su sitio de origen. Luego fueron transportados cuidadosamente, en bolsas de color oscuro, luego se procedió al secado de las hojas y se conservó a una temperatura ambiente, hasta proceder la extracción hidroalcohólico.

Para su identificación botánica, se envió la muestra al *Herbarium Huamangensis* de la facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH. En los laboratorios de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica se procedió a la reducción de su tamaño de partículas.

3.2.5. Unidad de Análisis

Se utilizaron 30 cobayos machos de 500 +/- 50 g. de peso, que fueron adquiridos del Instituto Nacional de Investigación y Agricultura (INIA) de Ayacucho. Que luego fueron transportados a los laboratorios de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH, para su adaptación por una semana a temperatura ambiente, con dieta balanceada y agua. (24h antes del experimento se privó del alimento y agua).

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. “pisca pisca”

La muestra seca molida de 300 g se maceró en frascos de color ámbar durante una semana aproximadamente en alcohol de 80°; este cubrirá a la muestra en su totalidad, unos 10 centímetros por encima inclusive. Durante el proceso se agita el frasco periódicamente para que el solvente se distribuya homogéneamente en la muestra. Transcurrido dicho tiempo el extracto fluido obtenido después fue filtrado y se concentró a presión reducida hasta la eliminación del solvente en un rotavapor, obteniéndose un extracto de consistencia blanda, el mismo que terminó de concentrarse en una estufa a no más de 50 °C para obtener un extracto seco que luego se trasvasa en un frasco ámbar bajo refrigeración hasta su empleo.

3.3.2 Preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las *Columellia obovata* R. & P. “pisca pisca”

Se filtró el extracto hidroalcohólico macerado, luego se llevó al equipo de rotavapor para su concentración obteniendo el extracto de consistencia semilíquida y finalmente se llevó a estufa a una temperatura de 40 C° hasta obtener la sequedad del extracto. Se pesó 3 g de extracto de hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. “pisca pisca”, para preparar una solución madre al 3%, con 100 mL de agua destilada, y de esta se hizo diluciones sucesivas para concentraciones de 100, 200 y 400 mg/Kg.

3.3.3 Procedimiento para realizar el tamizaje fitoquímico

Se realizó reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico.²⁵

3.3.4. Determinación de la actividad sobre la motilidad intestinal

Fundamento: para evaluar el efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. “pisca pisca” se

empleó el modelo *in vivo* de tránsito intestinal en cobayos utilizando el carbón activado como contraste (patrón indicador) de la motilidad intestinal (peristaltismo).

3.3.5. Fármacos de referencia Atropina 1 mg/2mL en ampolla, se aplicó directamente por vía intramuscular a concentración 1 mg/kg de peso animal.

Loperamida 2 mg en tabletas, se disolvió y se administró por vía oral a concentración 3 mg/kg de peso del animal.

3.3.6. Método empleado

Se utilizó el método de Arbos y Col., a 24 h antes del inicio del experimento, se privó de alimentos a los roedores, y se continuó con agua *ad libitum*. Posteriormente, se administraron las sustancias en estudio. Transcurridos 30 minutos, se procedió a administrar por vía oral (VO) el marcador carbón activado al 10% a dosis de 0.1 ml/10g de peso. Luego de 30 min, se sacrificó a los animales por dislocación cervical, realizándose disección tipo laparotomía para extraer el intestino delgado, desde la porción pilórica hasta el colon, y se procedió a medir la distancia recorrida del carbón activado (que contuvo por lo menos 1 cm continuo de carbón) entre la porción pilórica y la unión ileocecal. La distancia se expresó como la media del porcentaje de la longitud total del intestino recorrida por el carbón \pm error estándar.^{26, 27}

3.3.7. Procedimientos

Modelo *in vivo* de tránsito intestinal: Tras la administración vía oral de una solución de carbón activado como contraste (patrón indicador), es posible medir su desplazamiento estimulado por la motilidad intestinal (peristaltismo).⁴

- Se empleó 30 cobayos machos con un peso corporal comprendido entre 500 +/- 50g. Se les acondicionó en un ambiente higiénico, a temperatura ambiente, con agua y alimento balanceado para cobayos. Los animales fueron privados de alimento y mantenidos sólo con agua durante las 24h previas al experimento.
- Los animales fueron distribuidos al azar en 6 grupos de 5 cobayos cada uno.
- Las dosis se administró por vía oral (v.o.) mediante sonda orogástrica excepto la dosis de Atropina, que se administró por vía intramuscular (i.m.) a razón de 1 mg/kg.
- Transcurrido 30 min, se administró carbón activado al 10% (0,1 ml/10 g de peso) vía oral (v.o.) a cada animal.

- Transcurridos 30 minutos después de los tratamientos, se sacrificó los cobayos por dislocación cervical e inmediatamente se les extrae el tubo digestivo desde el cardias hasta la válvula ileocecal.
- Se midió la distancia recorrida por el carbón activado desde el píloro hasta el lugar más distal donde llega esta sustancia. Se tomó como el 100% el largo total del intestino desde el píloro hasta la válvula ileocecal de cada cobayo para calcular porcentualmente el avance del carbón activado en cada animal. Con estos datos se calculó los porcentajes de tránsito e inhibición de la motilidad intestinal, haciendo uso de las siguientes fórmulas:

$$\% TI = \frac{Rc (cm)}{Li (cm)} \times 100$$

$$\% IM = \frac{RcBlanco (cm) - RcTratamiento (cm)}{RcBlanco (cm)} \times 100$$

Donde:

%TI: tránsito intestinal

%IM: inhibición de la motilidad

Rc: distancia recorrida por el carbón

Li: longitud total del intestino

3.3.8 Tipo y diseño de investigación

Tipo de investigación básica experimental y el diseño de la investigación será aleatorio simple, con seis tratamientos y cinco repeticiones para cada tratamiento del modo siguiente:

Los extractos se prepararon al 3% (3g en 100 mL de agua destilada), y la rehidratación a los animales se realiza con suero fisiológico administrando: 10 mL/kg.

Tabla 1. Diseño experimental de los grupos y tratamientos. Ayacucho, 2015.

Grupo	Repetición	tratamiento	Dosis	Vía
Grupo I	5	Suero fisiológico	0,1 ml/10g	v.o.
Grupo II	5	Atropina	1 mg/kg	i.m.
Grupo III	5	Loperamida	3 mg/kg	v.o.
Grupo IV	5	Extracto	100 mg/kg	v.o.
Grupo V	5	Extracto	200 mg/kg	v.o.
Grupo VI	5	Extracto	400 mg/kg	v.o.

3.3.9. Determinación de los parámetros a evaluar

Medida del transporte de carbón activado, en el intestino del cobayo y se comparó con los tratamientos a que concentraciones hay mejor efecto, para determinar el porcentaje de transporte intestino y el porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal en cobayos.

3.3.10. Ensayo de toxicidad aguda oral a dosis límite (DL₅₀)

Para la determinación de la toxicidad aguda del extracto, se ha empleado cinco ratones albinos de peso corporal que comprenden entre 20 +/- 5g; previamente puesto a la adaptación requerida.

- Los animales estuvieron en ayunas de aproximadamente 12 horas previo al experimento.
- La dosis del extracto de experimento ha sido administrada a una dosis única de 2,000 mg/kg de peso corporal a cada animal por vía oral, usando la cánula orogástrica.
- Se observó a los animales en prueba después de la administración de la dosis, con especial atención las primeras cuatro horas, periódicamente durante las primeras 24h y a continuación diariamente hasta un total de 14 días.

3.4. Análisis de datos

3.4.1. Actividad sobre la motilidad intestinal

Con los datos obtenidos se calculó en forma de medias y desviación estándar. Los resultados entre los grupos tratados se determinaron mediante el uso de Análisis de varianza, prueba de comparaciones múltiples de Dunnett

(comparación de las medias de todos los tratamientos contra un control) y Duncan (comparaciones entre los tratamientos), considerando un nivel de confianza del 95%.

3.4.2. Toxicidad aguda a DL_{50}

Con los datos obtenidos en la evaluación de la toxicidad aguda (DL_{50}), se realizó el cuadro y el gráfico; calculando la media +/- desviación estándar de la variación de peso corporal de los ratones y se presentó en histograma. Los resultados también fueron sometidos al análisis de varianza factor simple; para lo cual se usó el software SPSS, versión 21,0; para evaluar las diferencias estadísticas al 95% de confianza.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Observaciones	resultados
Flavonoides	Shinoda	Coloración amarilla	+++
Alcaloides	Dragendorf	Precipitado naranja	+++
Alcaloides	Mayer	Suspensión lechosa	+++
Alcaloides	Wagner	Precipitado verde	+++
Iridoides	Vainillina HCl	Rosado	+
Catequinas	Ensayo de catequinas	Color verde carmelita	++
Saponinas	Espuma	Mucha espuma	+++
Fenoles y taninos	Cloruro férrico Cl_3Fe	Coloración verde intensa	+++
Aminoácidos	Ensayo de ninhidrina	Coloración azul	+
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	Coloración violáceo	++

Leyenda: (+): Escaso (++) : Moderado (+++): Abundante

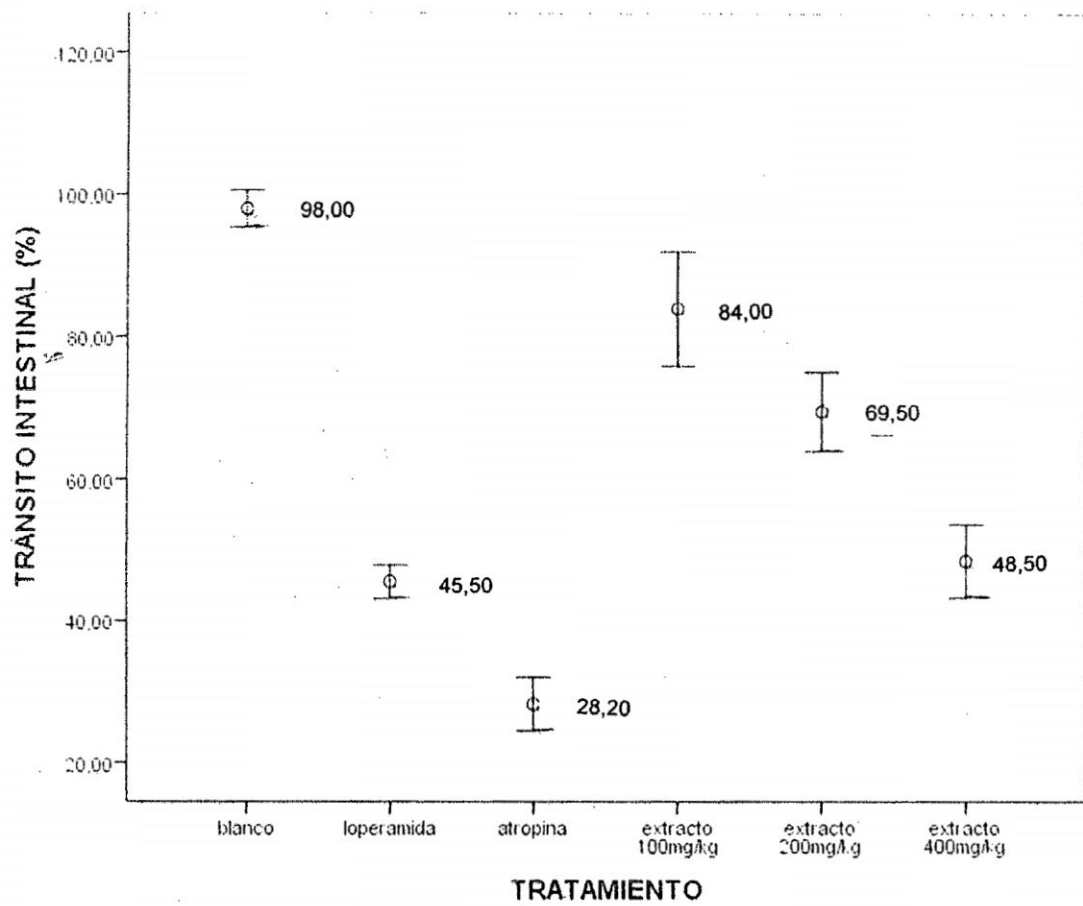


Figura 6. Variación de Porcentaje del tránsito intestinal, con la prueba de Dunnett, $p < 0,05$, por efecto de la administración de blanco, atropina, loperamida y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

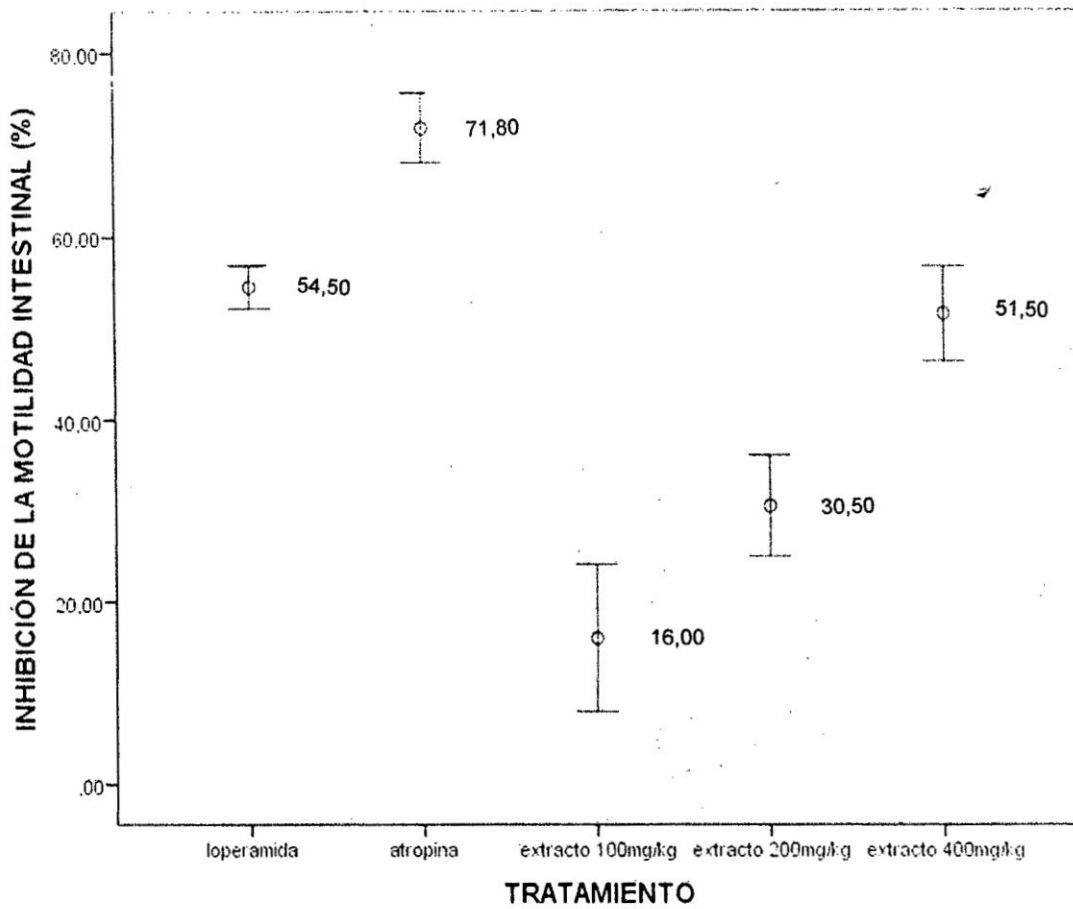


Figura 7. Variación Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal con la prueba de Dunnett, $p < 0,05$, por efecto de la administración de atropina, loperamida y el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

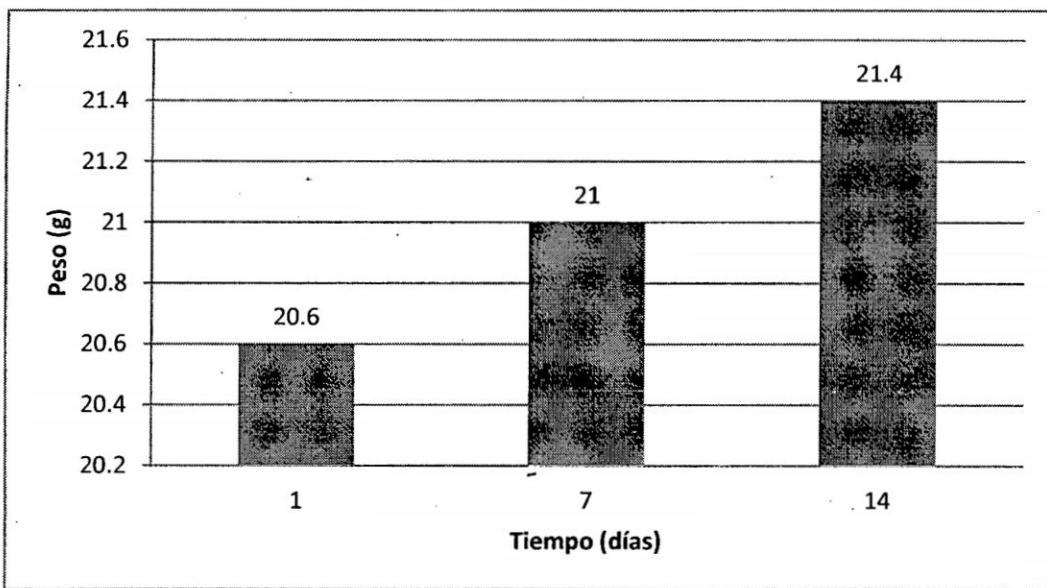


Figura 8. Variación de peso de los ratones en el ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. Ayacucho, 2015.

V. DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó el efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" usada comúnmente en la medicina tradicional para tratar síntomas gastrointestinales, para ello se procedió a realizar una extracción hidroalcohólico al 80%.

En un estudio Zabala y Col. demostraron el efecto procinética intestinal del extracto etanólico de alcaloides de la semilla de *Jatropha curcas* L. El efecto que posee pueden deberse, a la presencia de los alcaloides con efecto anticolinesterásico, otra probable vía para estimular la motilidad intestinal, es por acción de los flavonoides presentes en *Jatropha curcas* L., al producir aumento en la concentración de AMPc (adenosina mono fosfato cíclico) y de calcio intracelular respectivamente. En estudios de flavonoides y alcaloides que demostraron actividad inductora en este sistema. A lo mencionado anteriormente, se suma la posibilidad de que los flavonoides presentes en *J curcas* L. posean efectos moduladores sobre receptores inotrópicos GABA y receptores de adenosina, efectos demostrados en estudios previos.²⁶

En un estudio Arbos y Col., se emplearon un método, para evaluar la motilidad intestinal, donde se administró por vía oral carbón activado al 5 %, 0,1ml/10 g, como marcador intestinal. Se observó un porcentaje de recorrido del carbón de 56,8%, 34,54%, 31,85% y 24,57%, en los grupos de interacción 2, 7, 8, 9 y 10 respectivamente, frente a 56,3% (metoclopramida) y 27,66% (control).²⁷

En la tabla 2, muestra el resultado del análisis fitoquímico de las hojas de *Columellia obovata* R & P. "pisca pisca", demostrando la presencia de alcaloides, flavonoides, iridoides, catequinas, saponinas, taninos, fenoles, aminoácidos, glicósidos cardiotónicos. Por lo tanto, los metabolitos secundarios resaltantes en dicha extracción fueron los alcaloides con la presencia de precipitado naranja intenso, flavonoides con una coloración de amarillo e iridoides con una coloración rosada, estas reacciones de identificación (Anexo 2).

En el resultado del análisis realizado se ha determinado la mayor presencia de alcaloides, como se indica en su concepto, constituyen los principios activos de multitud de drogas a las que les confieren importantes aplicaciones farmacológicas. Mejorando algunas de sus propiedades y constituyendo muchos de los fármacos actualmente utilizados. Así por ejemplo, a partir de los alcaloides tropánicos se obtienen el bromuro de ipratropio (bromuro N-isopropil atropina) utilizado como antiasmático, o el bromuro de N-butilescopolamina ampliamente empleado como espasmolítico.¹²

En un estudio preclínico del extracto de alcaloides de la semilla de *Jatropha curcas* L., Carrasco y Col., revelaron efectos diarreicos, que le infieren actividad procinética intestinal, se demuestra que a dosis de 1 000 mg/kg está presente un efecto de disminución de la motilidad intestinal, efecto análogo a la actividad antidiarreica demostrada del extracto etanólico de la corteza de la misma planta.²⁸

En el resultado del análisis fitoquímico Astudillo y Col., han determinado la mayor presencia de flavonoides, estos compuestos están ampliamente distribuidos en la mayoría de plantas superiores, farmacológicamente tienen actividad antiespasmódica, la cual contribuye aliviar procesos diarreicos. En el sistema gastrointestinal, los flavonoides antiespasmódicas prolongan el tiempo de tránsito en el intestino delgado, inhiben la amplitud de la contracción fásica y disminuyen el tono de la musculatura intestinal.²⁹

En el resultado del screening fitoquímico se observa la mayor presencia de flavonoides que se comportan in vitro como inhibidores enzimáticos, lo que explica el mecanismo de acción de varios de sus efectos farmacológicos, aunque en algunos casos pueden actuar como estimulantes enzimáticos. Otras propiedades atribuidas a los flavonoides: antialérgico, antimicrobiano, antiagregante plaquetario, diurética, espasmolítico, antihipercolesterolemica.¹³

Berardi en su tesis, demostró en un examen fitoquímico la presencia de flavonoides en *Aloysia citrodora* "cedrón", tener un efecto espasmolítico en duodeno de rata aislado extracto inhibió no competitivamente la curva dosis-respuesta de acetilcolina (ACh) y la de calcio (Ca^{2+}) en alto potasio.⁴

López y Col., En un estudio de análisis fitoquímico, también demostraron la presencia de iridoides, que forma parte de numerosos preparados de hierbas estimulantes gástricas. La *Gentiana lutea* "genciana", presenta compuestos amargos que estimulan las papilas gustativas. El sabor amargo de la planta en

general, se debe a la presencia de glucósidos secoiridoides, que le confieren propiedades beneficiosas sobre el sistema digestivo, facilitando las digestiones (eupéptico), estimulando el apetito, aumentando la secreción hepática de bilis y facilitando la expulsión de la bilis retenida en la vesícula biliar (efecto colerético y colagogo).¹⁴

En la figura 6. Se observe el resultado de porcentaje de tránsito intestinal de la atropina (fármaco de referencia), loperamida (fármaco de referencia) y de los extractos de 100, 200 y 400 mg/Kg respectivamente, obteniendo los resultados para el blanco 98%; atropina 28,20%; loperamida 45,50% y para los extractos hidroalcohólicos 84,00%; 69,50% y 48,50% respectivamente. Se encontró que todos los tratamientos del extracto hidroalcohólico disminuyeron el tránsito intestinal significativamente y de manera dosis dependiente. Al evaluar las diferencias estadísticas del efecto producido por cada uno de los tratamientos se demuestra que la dosis de 400mg/kg y loperamida son similares y no se comparan estadísticamente a la atropina.

Al realizar la prueba de Duncan se determinó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos del extracto ($p < 0,05$), en donde nos muestra que la dosis de 400 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" posee el mejor efecto sobre la motilidad intestinal, expresando en la disminución del tránsito intestinal del carbón activado; en cambio las dosis de 100 y 200 mg/kg presentó menor actividad.

María F. en su tesis realizó la determinación del efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de toda la planta, se observó diferencia estadística significativa del extracto a la dosis de 100 mg/Kg, mayor que a 200 mg/Kg, expresada esta por la distancia recorrida del carbón en el intestino. A la dosis de 200 mg/Kg se observó un mayor recorrido del carbón, comprobándose un efecto modulador. Este resultado confirma el efecto inhibitorio sobre la motilidad gástrica que posee el extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* "canchalagua" a menor dosis. Los mismos hallazgos se han obtenido con plantas que poseen similares principios activos entre ellos, sesquiterpenos y lactonas. Comparando el porcentaje de tránsito intestinal del extracto de *Schkuhria pinnata* frente a una droga de referencia como es la Loperamida, se confirmó su efecto sobre la motilidad intestinal evidenciado por el avance del carbón activado mucho menor que del control con un $p < 0.05$. Similar resultado obtuvieron. Cuando compararon el efecto antidiarreico de la *Mangifera indica* utilizando loperamida como control

positivo en ratones, al evaluar la motilidad intestinal del extracto de *Punica granatum* trabajando con el extracto de las semillas de dicha planta. Otro resultado parecido lo obtuvieron que comprobaron el efecto antidiarreico del extracto acuoso del pericarpio de la granada en ratas.³⁰

Vega y Carrillo, demostraron en un estudio del efecto sobre la motilidad intestinal del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. se evaluó su efecto sobre íleon aislado de cobayo, que se estimuló con una concentración submáxima de acetilcolina ($5,45 \times 10^{-6}$ mg/mL) e incubó durante 10 min con las sustancias de prueba, en las concentraciones de 121, 242, 364 Fg/mL de sólidos totales. De acuerdo con los resultados encontrados las concentraciones de 242 y 364 Fg/mL bloquean el espasmo provocado por el agonista colinérgico, se encontró que el *Ocimum gratissimum* L. en las dosis ensayadas provoca una inhibición de 37,21; 62,25 y 94,31 % de la respuesta contráctil de acetilcolina. Los resultados mostraron que el extracto antagonizó la respuesta contráctil inducida por acetilcolina sobre el íleon aislado de cobayo.³¹

En la figura 7, se observa el resultado del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de la atropina (71,80%), loperamida (54,50%) y de los extractos de 100, 200 y 400 mg/kg; obteniendo al 16,00%; 30,50%; 51,50% respectivamente. Al realizar el análisis estadístico de varianza demuestra de que las diferencias en los tratamientos son estadísticamente significativos ($p < 0,05$) y con la prueba de comparaciones de Dunnett (Anexo 5) nos muestra de que los valores para loperamida (fármaco de referencia) y el extracto de 400 mg/kg poseen similares efectos en la relajación de la musculatura lisa intestinal. Los extractos hidroalcohólicos actuaron sobre el intestino de los cobayos, produciendo una inhibición de la contracción dependiente de la concentración (100, 200 y 400 mg/kg), el extracto de 400 mg/kg mostró una mayor actividad relajante (51,50%). Astudillo y Col., en un estudio sobre la relajación del musculo liso intestinal, que dan como resultado de remover los estímulos contráctiles o por la acción directa de la sustancia que estimule la inhibición del mecanismo contráctil. En cualquier forma el proceso de relajación requiere una disminución de la concentración de Ca^{2+} intracelular y un incremento en la actividad de la Cadena Ligera de Miosina (MLC) fosfatasa. El retículo sarcoplásmico y la membrana plasmática contienen Ca, Mg ATPasas que remueven el Ca^{2+} del citosol. Intercambiadores Na^+/Ca^{2+} están también localizados sobre la membrana plasmática y ayudan a la disminución de Ca^{2+} intracelular. Durante la relajación, los canales operados por

voltaje y receptores de calcio en la membrana plasmática, se cierran, lo que conduce a restricción en la entrada de Ca^{2+} a la célula.²⁹

Se realizó la determinación de toxicidad aguda (DL50) en ratones, administrando el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" (figura 8). El extracto a dosis 2,000 mg/kg fue bien tolerado por los animales, no hubo muertes registradas después de la administración oral y durante el periodo de observación, lo cual solo se manifestó mediante el aumento del peso corporal. Por lo tanto en el resultado de la toxicidad aguda de *Columellia obovata* R & P. "pisca pisca" no presentó ningún signo de toxicidad hasta un nivel 2,000 mg/kg.

Vega y Carrillo, demostraron en un estudio la toxicidad aguda oral, se realizó mediante la determinación de la DL_{50} , se utilizaron ratones albinos, con masa corporal comprendidos entre 18 y 22 g. Éstos fueron mantenidos en un cuarto con temperatura controlada de 20 +/- 2 °C y ciclo de luz/oscuridad de 12-12 h. La alimentación consistió en ratonina peletizada y agua a voluntad. La administración del extracto y el vehículo se realizaron por vía oral con previo ayuno de 4 h, en grupos de 10 animales cada uno, en volúmenes de 18, 22 y 26 mL/kg correspondientes a 1 748, 2 136 y 2 525 mg/kg de sólidos totales del extracto, respectivamente. La toxicidad encontrada, evidentemente influye el efecto del vehículo.⁹ La toxicidad efectiva del extracto fue de 97,7 % de la esperada, al compararla con éste, no se encontraron a su vez diferencias significativas entre ambos, en cuanto a la mortalidad obtenida. No obstante, el valor de DL_{50} obtenido para el extracto permite clasificarlo como no tóxico ($\text{DL}_{50} > 2\ 000$ mg/kg).³¹

Salinas y Col., en un estudio se propusieron a evaluar experimentalmente dicha acción y su toxicidad aguda. Para esto se conformaron aleatoriamente 11 grupos, de 6 ratones machos Balb-C 56 cada uno. El grupo uno sirvió de control (1 mL solución salina), los grupos experimentales 2, 3, 4, 5, 6 y 7 recibieron extracto metanólico de *Annona muricata* L. en dosis de 10, 25, 50, 75, 100 y 200 mg/kg de peso corporal, respectivamente; el grupo ocho recibió loperamida 1 mg/kg y el grupo nueve aceite de ricino 10 mL/kg. Se empleó carbón activado como marcador del tránsito intestinal según el modelo *in vivo* en ratones. La dosis letal 50 para la muestra biológica fue 229 mg/Kg, con intervalo de confianza de 95% (límite superior 244,3 e inferior 220,9). Con dosis de 25 mg/kg del extracto de *Annona muricata* L. se observó una reducción del tránsito

intestinal de 13,94 % ($p < 0,05$), similar al dado por loperamida (13,36 %). Se concluye que, en condiciones experimentales, el extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* L. inhibió el tránsito intestinal.³²

Ochoa y Col., En un estudio realizado evaluaron el efecto antidiarreico y antiespasmódico del extracto metanólico de *púnica granatum* L. "granada" en ratones. Se encontró que en el tratamiento con extracto metanólico de granada disminuyó significativamente la cantidad total de deposiciones frente al control negativo después de 2 horas de inducción. Por otra parte, el tiempo de aparición de la primera defecación semilíquida del grupo granada fue 80 minutos más tarde que la del grupo control negativo. También se encontró que en el tratamiento con el extracto de granada el tránsito intestinal disminuyó significativamente ($61,55\% \pm 21,26$) respecto del control negativo ($95,97\% \pm 2,53$) pero no frente al grupo con Loperamida ($18,69\% \pm 7,23$) para un $p < 0,05$.³³

Serrano L., en su tesis estudió los extractos metanólicos de *Matricaria recutita* y *Ruta graveolens*, donde demostró la actividad antiespasmódica en íleon de cobayos, resultando con la mejor respuesta antiespasmódica con 82,3 y 70,4 % de relajación. El extracto acuoso con la mejor respuesta fue el de *Ruta graveolens* con 61,8 % de relajación. La actividad antiespasmódica de *Matricaria recutita* y *Ruta graveolens* son parcialmente consistentes con su uso en medicina popular para los desórdenes gastrointestinales, *Ruta graveolens* mostró actividad antiespasmódica y tóxica por lo que se recomienda limitar su uso en medicina popular hasta tener más de efectividad y toxicidad de sus fracciones constituyentes.³⁴

Antonio M. y Col., en un trabajo de investigación determinaron el efecto del fruto de *Cydonia oblonga* en dos modelos gastrointestinales, *in vivo*. El efecto sobre la propulsión intestinal, en ratones, se probó utilizando el método de carbón activado; se encontró que el preparado acuoso y el extracto etanólico del fruto de *Cydonia oblonga* disminuyeron el avance del contenido gastrointestinal; además, redujeron la diarrea inducida por aceite de ricino en ratones. Los resultados contribuyen a explicar el uso popular del fruto de *Cydonia oblonga* como agente antidiarreico. El fruto de *Cydonia oblonga*, ha mostrado la presencia de compuestos derivados de la quercetina y se ha comprobado que este flavonoide presenta acción antiespasmódica *in vivo* e *in vitro*; su mecanismo de acción involucra no sólo la inhibición de la síntesis y liberación de prostaglandinas, sino también la inhibición directa de las acciones patofisiológicas de las

prostaglandinas en el tracto gastrointestinal, la quercetina es liberada a partir de su glicósido en el intestino y restaura el proceso intestinal involucrado en el transporte de fluidos a través de la membrana colónica e inhibe las respuestas contráctiles en íleon aislado de cobayo, probablemente por disminución de la concentración disponible de calcio.³⁵

Morón F. y Col., en un estudio de investigación de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L.) propusieron comprobar su actividad farmacológica como parte de los estudios preclínicos. Emplearon el modelo in vivo de tránsito intestinal en ratones machos, sin acceso a alimento las 6 h anteriores a comenzar el experimento, y se formaron los grupos aleatoriamente. Se administró la tintura (200; 400 y 800 mg/kg), se emplearon como controles positivos: papaverina (10; 40 y 80 mg/kg. i.m.) y atropina (0,5; 1,0 ó 1,5 mg/kg. i.m.). Se encontró que todos los tratamientos disminuyeron significativamente y de manera dosis dependiente el tránsito intestinal. Este resultado valida el efecto antidiarreico de la tintura de hojas de guayaba al 20 %.³⁶

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" tiene efecto sobre la motilidad intestinal.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" posee los metabolitos secundarios como: alcaloides, flavonoides, iridoides, fenoles y taninos, glicósidos cardiotónicos, saponinas y catequinas.
3. La dosis que presenta mejor efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" fue de 400 mg/kg.
4. El efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" de la dosis de 400 mg/kg es similar a la loperamida.
5. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" no demostró toxicidad aguda a dosis de 2000 mg/kg.

VII. RECOMENDACIONES

1. Al utilizar plantas medicinales para prevenir o curar una dolencia, no se debe abusar del consumo de éstas, ya que con tratamientos muy prolongados puede desencadenar efectos adversos que pueden ser perjudiciales para la salud del ser humano.
2. Continuar con el estudio fitoquímico, farmacológico y toxicológico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca".
3. Aislar e identificar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" responsables de inhibir la motilidad intestinal.
4. Tener una buena técnica en la incisión longitudinal, para la extracción de los intestinos en el cobayo, para realizar la medida del carbón activado.
5. Preparar todos insumos y materiales previos al experimento para prevenir algunos percances durante la ejecución de la investigación.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la salud. Manual Clínico Para los Servicios de Salud. Tratamiento de la diarrea. Washington, D.C.: OPS, © 2008. [Revista en internet] 2008. [Acceso 19 de octubre de 2015]. Disponible en: <http://bvs.per.paho.org/texcom/colera/001948.pdf>.
2. Ccaccro R. Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" en ratas. Ayacucho 2015. [Tesis]. Ayacucho, Perú; Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Escuela de Farmacia y Bioquímica; 2013.
3. Serrano GL. Actividad antiespasmódica en extractos de plantas medicinales en preparaciones de ileon de cobayo [tesis Doctoral]. Nuevo León: universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina; 2005.
4. Berardi A. "Etnofarmacología gastrointestinal de plantas medicinales argentinas del género *Aloysia*, familia Verbenaceae: mecanismos de acción y relación con los principios activos. [Tesis] La plata – Argentina. Universidad nacional de la plata facultad de ciencias exactas departamento de ciencias biológicas; 2012. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2656/Documento_completo_.pdf?sequence=3
5. Ramírez F. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze, "Canchalagua" en ratas albinas. [Tesis] Lima – Perú, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010. [Acceso a internet el 17 septiembre 2015]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/240/Ramirez_cf.pdf?sequence=1
6. Toso R, Skliar M, Verna E. Modelo Experimental para Evaluar el Tránsito Gastrointestinal en Ratones. [Tesis] La Pampa – Argentina, Universidad Nacional de la Pampa; 2002. [Acceso a internet 17 de septiembre del 2015]. Disponible: <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/n04a07toso.pdf>
7. Rivera E, Chávez MA, Gattuso, Lozoya X. La hoja de guayabo en el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Revista fitoterapia. [Revista en internet] 2003 noviembre. [Acceso el 15 de septiembre del 2015]; 2(2). Disponible : http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF3_2_GUAYABO.pdf
8. Arce J. "Estudio sobre los Estándares de certificación de Manejo de Bosques".edit. ICON-INSTITUT GmbH Pivate sector. Lima, febrero de 2009. Citado de internet el 28 de Agosto 2015. Disponible en: <http://www.mincetur.gob.pe/Comercio/ueperu/licitacion/pdfs/Informes/75.pdf>.
9. Delgado H. "Inventario de Recursos Curativos en Centros de Expendio Formales e Informales". Ayacucho, noviembre 1989. citado de internet el 28 de agosto 2015. Disponible en: http://www.flacsoandes.edu.ec/sites/default/files/agora/files/1282789640.ami_mt_75_inventario_recursos_curativos_junin.pdf.
10. Macía M. Las plantas de fibra. Botánica Económica de los Andes Centrales [Revista en internet] 2006. [Acceso 28/08/15]. Disponible en: <http://www.beisa.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%203.pdf>

11. Zárate R, Mori TJ. Mesozonificación Ecológica y Económica para el Desarrollo Sostenible del Valle del Río Apurímac-VRA. Edit. Instituto de Investigaciones de la Amazonía. Peruana. Iquitos-Perú. Citado de internet el 28 de agosto. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/cdpublicaciones2011/documentos/pdf/proterra/pu/97.pdf>
12. Villar A. Farmacognosia General. Edit. Síntesis, SA. Madrid- España 1999.
13. Bruneton J. Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales. 2ª ed. Edit. Acribia S.A. Zaragoza – España. 2001.
14. López N, Miguel M, Aleixandre A. Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud. Nutrición clínica y dietética Hospitalaria. [Revista en internet] 2012; 32(3), Madrid – España. [Acceso el 18 de setiembre del 2015]. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/101431/1/terpenos%20iridoides.pdf>
15. Lock O, Investigación fitoquímica: Método en el estudio de productos naturales. 2ª ed., edit. Fondo. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima – Perú; 1994.
16. Aguirre R, Avila M, Barradas G, Calderon J, Calixto J, Campos A, et al. Manual de práctica de laboratorio de farmacología. 2ª ed, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México; 2013.
17. Ferrufino J, Taxa L, Ángeles G. histología normal del intestino delgado. Revista médica Heredia. 1996. [revista en internet] 1996. [Acceso el 12 de octubre 2015]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v7n1/v7n1tr2.pdf>.
18. Canalejo J. aparato digestivo y metabolismo. Guía básica farmacoterapéutico. 5ª ed. Barcelona: estudio gráfico S.L; 2002.
19. Alvarado, J. "Apuntes de farmacología". Edit. Apuntes médicos del Perú. 3ª ed, Callao-Perú, 2008.
20. Katzung B. Farmacología Básica y Clínica. 10ª ed. Edit. El manual moderno S.A. México, 2007.
21. Godman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Vol I, Edit. Mac Graw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México, D.F. México, 2001.
22. Taylor M, Reide P. Farmacología. Edit. Harcourt, Madrid – España; 1999.
23. Malagelada JR. Gastrointestinal motility and perception disorders revisited. Revista española de Enfermedades digestivas. [Revista en internet], 2004. [Acceso el 19 de setiembre del 2015]. 96 (7). Madrid – España; 2004. Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v96n7/es_punto.pdf
24. Neil I. Enfermedades y trastornos de la salud. Edit. Sons. 3ª ed. México 2004.
25. Miranda M. métodos de análisis de drogas y extracción. La Habana: Universidad de la Habana; 2002.
26. Zavala E, Goicochea S, Agurto T, Adrianzen S, Coronel G, Salazar A. Dosis respuesta sobre la motilidad intestinal y el sistema nervioso de la interacción entre *Jatropha curcas* L. y metocloropramida en el sistema gastrointestinal. [Revista en internet], 2013. [Acceso 10 agosto del 2015]. 30(3). Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de

- Porres. Lima, Perú. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v30n3/a04v30n3.pdf>.
27. Arbos, J.; Cegrí, A.; Lopez - Soriano, F.R.J.; Argiles, J.M. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. Arch. Intern. Physiol. Bioch. Biophys. 1993; 101:113-115.
 28. Carrasco JM, Fartolino A, Sanchez A, Lujan J, Pchas A, Castilla L et al. Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de semilla de *Jatropha curcas* L. Revista cubana de plantas medicinales. [Revista en internet] 2013. [Acceso a internet el 17 de septiembre del 2015]; 18(1):84-91. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n1/pla10113.pdf>
 29. Astudillo VA, Mata R, Navarrete A. El reino vegetal, fuente de agentes antiespasmódicos [monografía en internet]. Coyoacan, México D. F.; Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de Farmacia; 2009 [acceso el 14 de noviembre 2015]. Disponible en: www.Relaquim.Com/archie/2009/p2009371-7.pdf.
 30. María F. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "Canchalagua" en ratas albinas. [tesis] Lima – Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2010.
 31. Vega R, Carrillo C. Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón). Revista Cubana de Plantas Medicinales. [Revista en internet] 1997. [Acceso a internet el 15 de septiembre del 2015]; 2(2), mayo – agosto. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47961997000200004&script=sci_arttext
 32. Salinas D, Araujo J, Cisneros C, Villena C, Senosain D, Huarcaya C et al. Inhibición del tránsito intestinal por el extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* L (guanábana) en ratones. Ciencia investigación. [Revista en internet] 2011; 14(1):9-13. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM; 2011. [Acceso el 12 de setiembre del 2015] Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v14_n1/pdf/a02v14n1.pdf
 33. Ochoa Ch, Chapoñan M, Granada C, Quintana W, Xavier W, Puerta E et al. Efecto antidiarreico y antiespasmódico del extracto metanólico de *Púnica granatum* L. "granada" en ratones. Rev. Informe final de investigación experimental curso de farmacología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.
 34. Serrano L. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de íleon de cobayo. [tesis doctoral] Nuevo – México, Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Medicina; 2005.
 35. Antonio M, Noemí H y Astudillo A. Actividad gastrointestinal del fruto de *Cydonia oblonga* Miller. [Revista en internet]; Revista Latinoamericana Química; 2009 37(2) [acceso a internet el 29 de noviembre de 2015]. Disponible en: http://scielo.iec.pa.gov.br/pdf/rpas/v1n1/es_v1n1a26.pdf
 36. Morón F, Martínez M y Morón D. Disminución del tránsito intestinal en ratones por tintura de guayaba (*Psidium guajava* L.) oral. [Revista en internet] Revista cubana de plantas medicinales 1999; 3(2). Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende" Laboratorio Central de Farmacología [Acceso a internet el 30 de noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol4_2_99/pla02299.pdf

ANEXOS

Anexo 1

Certificado de identificación botánica de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca".
Ayacucho, 2015.



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

C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Odbar, CARBAJAL HUAMÁN, 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	:	ROSIDAE
ORDEN	:	ROSALES
FAMILIA	:	COLUMELLIACEAE
GENERO	:	<i>Columellia</i>
ESPECIE	:	<i>Columellia obovata</i> R.& P.
N.V.	:	"pisca pisca", "ujichkacc."

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

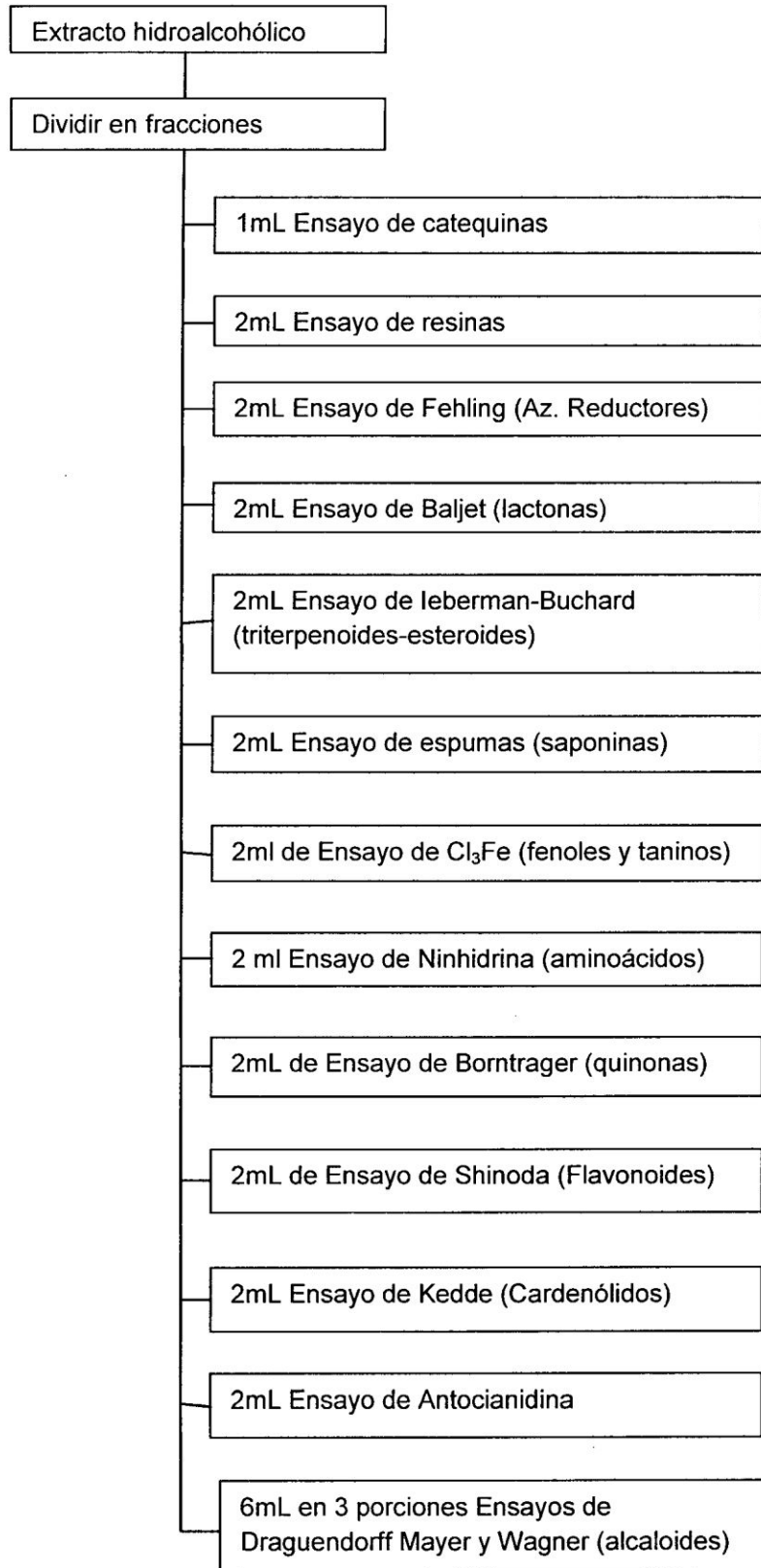
Ayacucho, 12 de Agosto del 2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Elga. Laura Aucásimo Negrina
JEFE

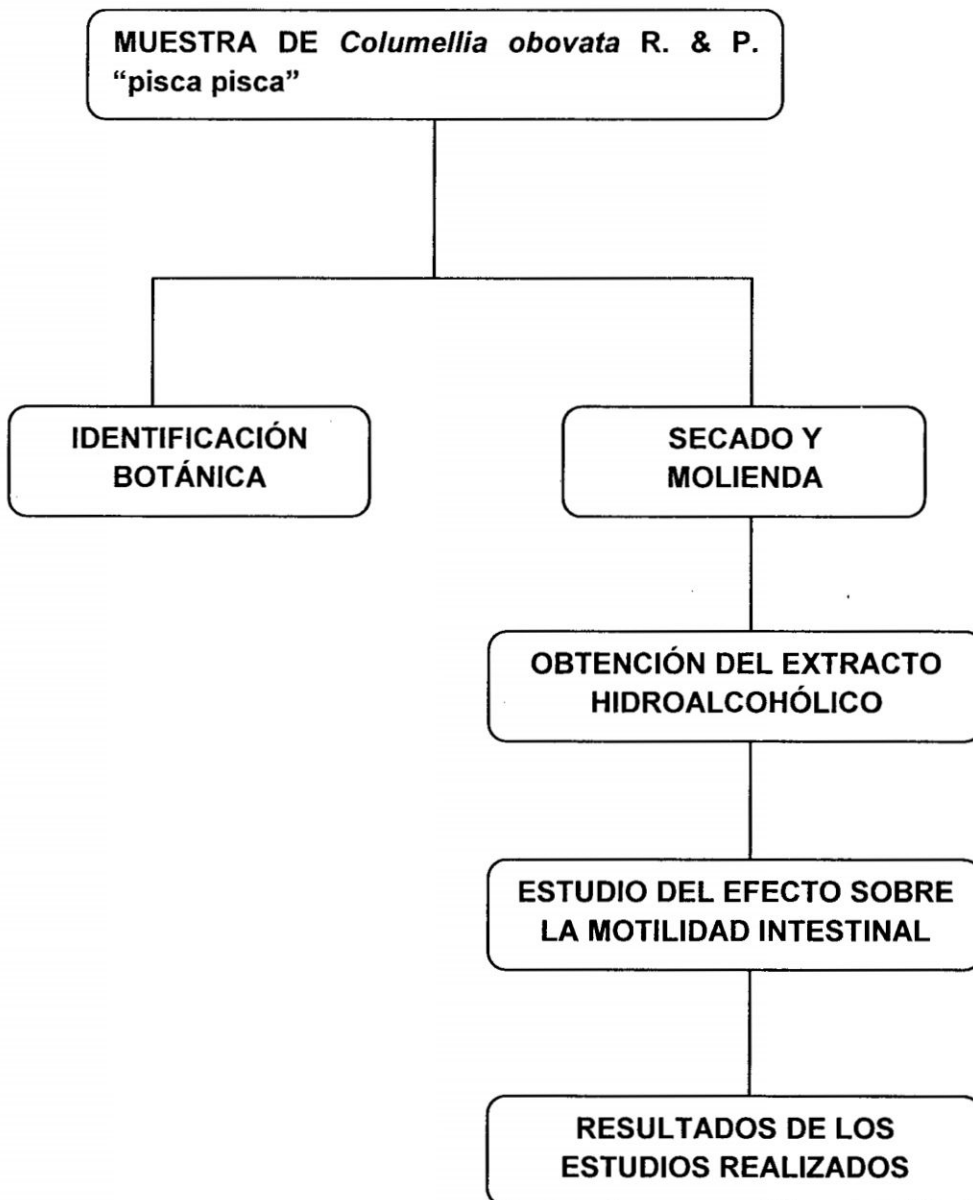
Anexo 2

Pruebas fitoquímicas con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.



Anexo 3

Flujograma de estudio del efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca", Ayacucho 2015.



Anexo 4

Análisis de Varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

Porcentaje de motilidad intestinal

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3185,833	2	1592,917	59,734	,000
Dentro de grupos	320,000	12	26,667		
Total	3505,833	14			

Anexo 5

Comparación de medias mediante la prueba Duncan del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. Ayacucho, 2015.

Duncan^a

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
extracto 100mg/kg	5	16,0000		
extracto 200mg/kg	5		30,5000	
extracto 400mg/kg	5			51,5000
Sig.		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 6

Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de atropina y de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho 2015.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8928,650	3	2976,217	133,276	,000
Dentro de grupos	357,300	16	22,331		
Total	9285,950	19			

Anexo 7

Comparación de medias mediante la prueba de Dunnett del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de atropina y de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal						
T de Dunnett (bilateral) ^a						
TRATAMIENTO (T)	CONTROL(C)	Diferencia de medias (T-C)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
extracto 100mg/kg	Atropina	-55,80000*	2,98873	,000	-63,5478	-48,0522
extracto 200mg/kg	Atropina	-41,30000*	2,98873	,000	-49,0478	-33,5522
extracto 400mg/kg	Atropina	-20,30000*	2,98873	,000	-28,0478	-12,5522

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

Anexo 8

Análisis de varianza (Anova) del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de loperamida y de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4973,438	3	1657,813	79,297	,000
Dentro de grupos	334,500	16	20,906		
Total	5307,938	19			

Anexo 9

Comparación de medias mediante la prueba de Dunnett del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de loperamida y de los tratamientos administrados del extracto de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

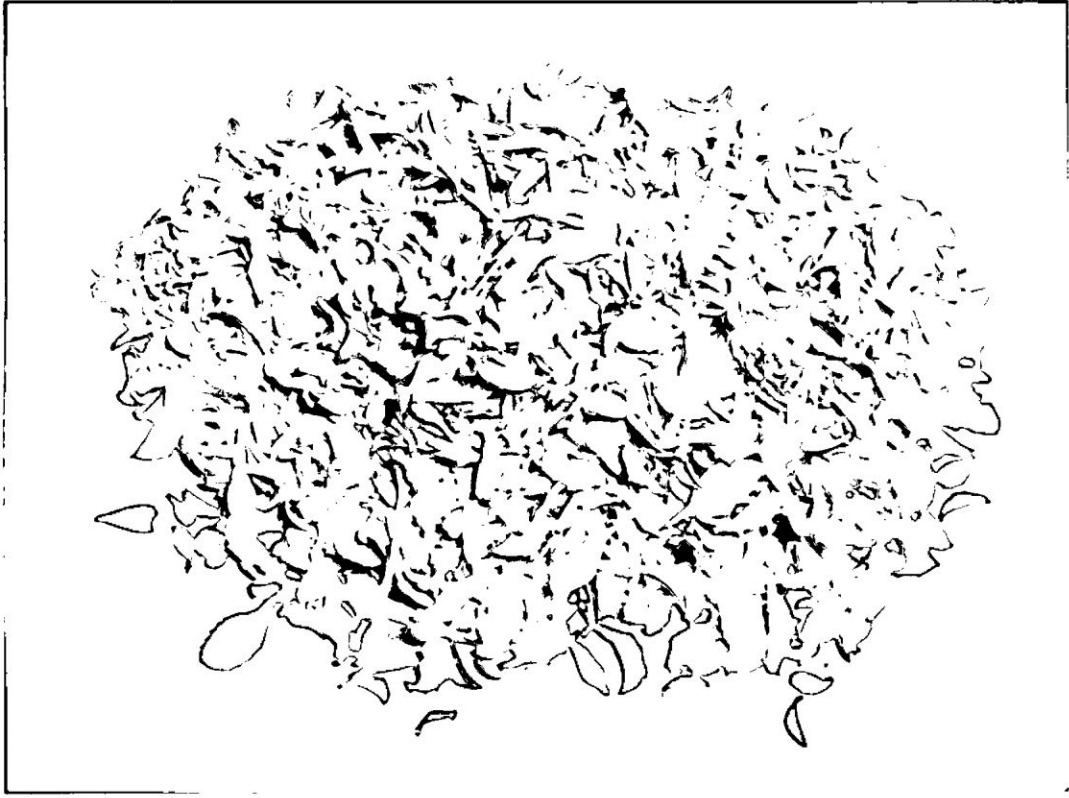
porcentaje de inhibición de la motilidad						
T de Dunnett (bilateral) ^a						
Tratamiento (T)	Control (C)	Diferencia de medias (T-C)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
extracto 100mg/kg	loperamida	-38,50000*	2,89180	,000	-45,9965	-31,0035
extracto 200mg/kg	loperamida	-24,00000*	2,89180	,000	-31,4965	-16,5035
extracto 400mg/kg	loperamida	-3,00000	2,89180	,610	-10,4965	4,4965

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

Anexo 10

Secado de las hojas *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.



Anexo 11

Hojas secas molidas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.



Anexo 12

Fermentación de las hojas secas molidas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca", en la solución hidroalcohólica, por siete días. Ayacucho, 2015.



Anexo 13

Concentrado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columelia obovata* R. & P. "pisca pisca". Realizado en el laboratorio de farmacognosia de la escuela Profesional de farmacia y Bioquímica, Ayacucho, 2015.



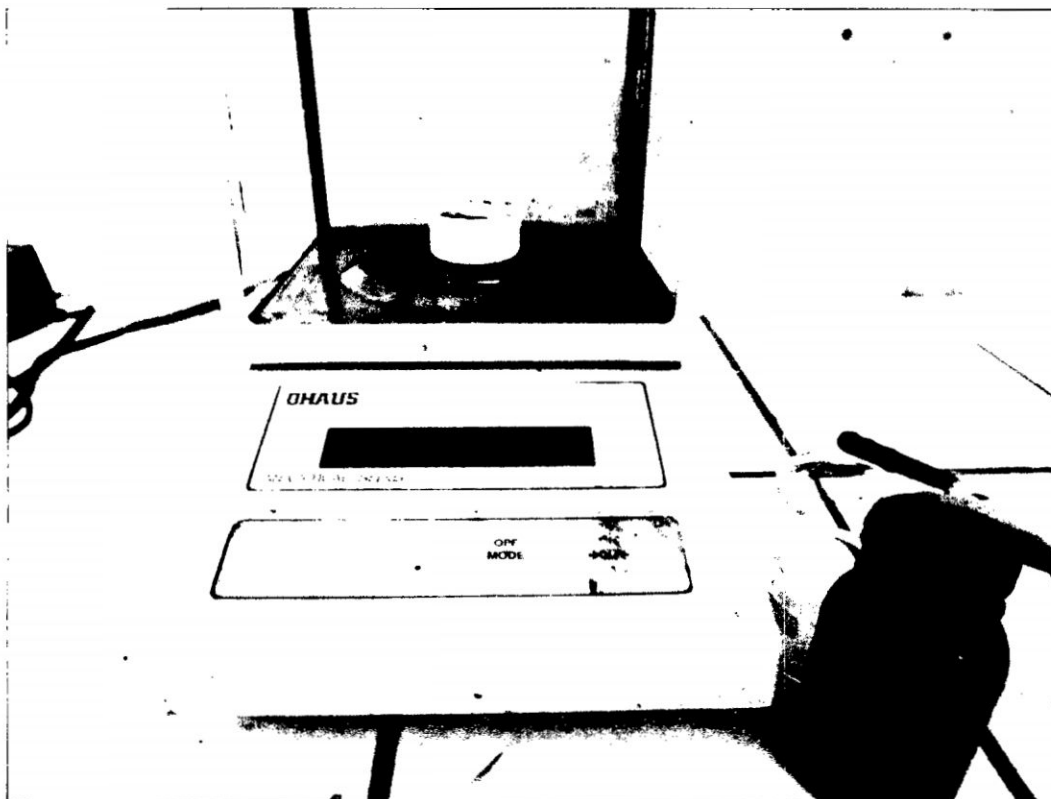
Anexo 14

Resultados del screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Realizado en el laboratorio de Farmacognosia de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Ayacucho, 2015.



Anexo 15

Pesaje del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca", al 3 %, para preparar en 100 mL de agua destilada. Ayacucho, 2015.



Anexo 16

Preparación de las soluciones para la administración a los animales de experimentación (cobayos), extracto hidroalcohólico al 3 %, loperamida 3mg / kg y carbón activado al 10%. Ayacucho, 2015.



Anexo 17

Medida de tránsito intestinal del carbón activado de los tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.



Anexo 18. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLE	MARCO TEÓRICO	METODOLOGIA
Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" Ayacucho 2015.	¿Tendrá efecto sobre la motilidad intestinal el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca"?	<p>General</p> <p>Evaluar el efecto sobre la motilidad intestinal a diferente concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" pisca"</p> <p>Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" pisca". Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" pisca" con mejor efecto sobre la motilidad intestinal. Determinar el porcentaje de tránsito intestinal y porcentaje de inhibición frente a estándares. Determinar la toxicidad aguda oral a dosis límite del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" pisca". 	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" a diferentes concentraciones posee efecto sobre la motilidad intestinal.	Variable independiente Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" pisca"	<p><i>Columellia obovata</i> R. & P. Es una planta arbustiva, de aproximadamente 2 a 4 m de alto, tallos densamente ramosos, y bastante pubescentes; hojas simples. Flores pequeñas solitarias, dispuestas en el ápice de las ramas superiores; las cuales son bisexuales. Fruto cápsula conteniendo numerosas semillas.</p> <p>Metabolitos secundarios: <i>Columellia obovata</i> R. & P. Posibles metabolitos secundarios implicados sobre la motilidad intestinal flavonoides, alcaloides iridooides.</p> <p>Usos tradicionales La <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" pisca", es una planta de sabor amarguisimo, se utilizan las hojas para fiebres intermitentes prolongadas, y dolencias del estomago</p> <p>Alcaloides Flavonoides Iridooides</p> <p>Trastornos de la motilidad gastrointestinal Atropina y mecanismo de acción. Loperamida y mecanismo de acción.</p>	<p>Nivel de investigación. Básica- Experimental</p> <p>Población. Hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" pisca" que crecen en el Distrito de Quinua, región Ayacucho.</p> <p>Muestra. Tres kilogramos de hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" pisca".</p> <p>Unidad experimental. Se emplearán 30 cobayos machos, de 500 +/- 50 g de peso, que serán adquiridos de INIA</p> <p>Obtención de Extractos Por maceración en etanol al 80% por una semana.</p> <p>Marcha fitoquímica. Por reacciones de coloración y precipitación.</p> <p>Diseño experimental. Aleatorizado. Seis grupos de cinco ratones cada grupo:</p> <p>Grupo I: suero fisiológico 0,9%</p> <p>Grupo II: Estándar: Atropina</p> <p>Grupo III: Estándar: Loperamida</p> <p>Grupos IV a VI: Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Columellia obovata</i> R. & P. "pisca" pisca" a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg.</p> <p>Determinación del efecto sobre la motilidad intestinal. Modelo <i>in vivo</i> de tránsito intestinal: Tras la administración de una solución de carbón activado como contraste (patrón indicador), es posible medir su desplazamiento estimulado por la motilidad intestinal (peristaltismo).</p> <p>Ensayo de toxicidad aguda oral a dosis límite (2,000mg/kg)</p> <p>Análisis estadístico. Los datos se presentarán en forma de medias y desviación estándar. La diferencia entre los grupos tratados se determinará mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparaciones múltiples Dunnett y Duncan, considerando un nivel de confianza del 95%.</p>

Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. “pisca pisca”. Ayacucho-2015.

Odbar Carbajal Huamán¹, Johnny Aldo Tinco Jayo², Edgar Cárdenas Landdeo³, Maricela López Sierralta⁴.
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

Los desórdenes gastrointestinales son uno de los principales problemas de salud en el mundo, siendo este problema más prevalente en las áreas rurales y urbanas marginales de nuestro país. Este objetivo principal de la investigación desarrollada fue determinar el efecto sobre la motilidad intestinal de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. “pisca pisca” en cobayos, se desarrolló el trabajo de investigación de tipo experimental en los laboratorios de farmacognosia y farmacología de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en la ciudad de Ayacucho. La muestra fue recolectada del Distrito de Quinua, Provincia de Huamanga, Región Ayacucho. Para evaluar el efecto sobre la motilidad intestinal se ha empleado el modelo *in vivo* de tránsito intestinal en cobayos, utilizando como indicador de la motilidad intestinal el carbón activado. Los animales fueron distribuidos en seis grupos de cinco, donde se les administró como: control (suero fisiológico 0,1 mL/10g), fármacos de referencia (atropina 1 mg/kg y loperamida 3 mg/kg) y los extractos a una dosis de 100, 200 y 400 mg/kg. Se ha determinado la presencia de los metabolitos secundarios como: alcaloides, flavonoides, iridoides, catequinas, saponinas, taninos, fenoles, aminoácidos, glicósidos cardiotónicos, destacando la mayor presencia de alcaloides y flavonoides. Los porcentajes de tránsito intestinal para atropina, loperamida fue 28,20 y 45,50%. En cambio para los extractos hidroalcohólicos de 100, 200 y 400 mg/kg, fue 84,00%, 69,50% y 48,50% respectivamente. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. “pisca pisca” presentó mejor resultado en el efecto sobre la motilidad intestinal a dosis de 400 mg/kg, y se compara el efecto de esta dosis con el fármaco de referencia la loperamida. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. “pisca pisca” tiene efecto sobre la motilidad intestinal y no presentó ningún signo de toxicidad aguda hasta un nivel 2,000 mg/kg.

Palabras claves: *Columellia obovata* R. & P., motilidad intestinal, atropina, loperamida, carbón activado.

SUMMARY

Gastrointestinal disorders are one of the major health problems in the world, and this more prevalent in rural and marginal urban areas of our country problem. The main objective of the research conducted to determine the effect on intestinal motility of alcoholic extract from the leaves of *Columellia obovata* R. & P. “pinch pinch” in guinea pigs, the research work in experimental laboratories developed pharmacognosy and pharmacology of the Professional School of Pharmacy and Biochemistry of the National University of San Cristobal de Huamanga in Ayacucho. The sample was collected Quinua District, Huamanga Province, Ayacucho Region. To evaluate the effect on intestinal motility has been used *in vivo* intestinal transit model in guinea pigs, using as an indicator of intestinal motility activated carbon. The animals were divided into six groups of five, which were given as: control (saline 0.1 mL / 10g), reference drugs (atropine 1 mg / kg and loperamide 3 mg / kg) and the extracts at a dose 100, 200 and 400 mg / kg. We have determined the presence of secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, iridoids, catechins, saponins, tannins, phenols, amino acids, cardiotonic glycosides, highlighting most presence of alkaloids and flavonoids. The percentages of intestinal transit atropine and loperamide were 28.20 and 45.50%. In contrast to the hydroalcoholic extracts of 100, 200 and 400 mg / kg, it was 84.00%, 69.50% and 48.50% respectively. The hydroalcoholic extract of leaves of *Columellia obovata* R. & P. “pinch pinch” provided better results in the effect on intestinal motility at doses of 400 mg / kg, and the effect of this dose is compared with the reference drug loperamide. We conclude that the alcoholic extract from the leaves of *Columellia obovata* R. & P. “pinch pinch” has effect on intestinal motility and presented no sign of acute toxicity to a level 2,000 mg / kg.

Keywords: *Columellia obovata* R. & P., intestinal motility, atropine, loperamide, activated carbón.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades diarreicas son la principal causa de la morbilidad y mortalidad de menores de 5 años en los países en desarrollo, y un factor importante de desnutrición. En el 2003 murieron aproximadamente 1,870 000 niños menores de 5 años como consecuencia de la diarrea. Ocho de cada 10 defunciones se producen en los dos primeros años de vida. Los niños menores de 3 años de los países en desarrollo presentan una media de tres episodios diarreicos por año. En muchos países, la diarrea especialmente la de origen colérico, es también una importante causa de morbilidad entre los niños mayores y los adultos. En los tres últimos decenios se han descubierto muchas nuevas causas de diarrea infecciosa. Los laboratorios de investigación pueden identificar actualmente los microorganismos que causan diarrea en más de tres cuartas partes de los niños que acuden a los centros de salud.

Muchas de las defunciones por diarrea son debidas a la deshidratación. Un gran avance ha sido el descubrimiento de que puede tratarse de forma segura y eficaz la deshidratación producida por la diarrea aguda por diversas causas y a cualquier edad, excepto cuando es grave. En efecto, más de 90% de los casos responden a la rehidratación oral usando un solo líquido. Se disuelve glucosa y varias sales de una mezcla conocida como sales de rehidratación oral (SRO) en agua para formar la solución de sales de rehidratación oral. Las sales de rehidratación oral se absorben en el intestino delgado aun en casos de diarrea copiosa, reemplazando así el agua y los electrólitos perdidos en las heces. La diarrea sanguinolenta (disentería) y la diarrea persistente acompañada de desnutrición también son causas importantes de muerte. Los episodios repetidos de diarrea contribuyen a causar desnutrición y las enfermedades diarreicas tienen mayor probabilidad de causar la muerte en niños que están desnutridos. La investigación ha revelado, sin embargo, que los efectos adversos de la diarrea sobre el estado de nutrición de un niño pueden disminuirse o prevenirse si se le sigue alimentando durante toda la enfermedad. La morbilidad de origen diarreico es mayor en los niños infectados por el VIH. Sin embargo, el tratamiento de la diarrea en estos niños es en general el mismo que el administrado a los no infectados, aunque la intolerancia a la lactosa y a los monosacáridos es más frecuente en los niños seropositivos. Los elementos esenciales en el tratamiento de cualquier niño con diarrea son la administración del tratamiento de rehidratación oral y la alimentación constante; el uso de antimicrobianos se reserva a aquellos con diarrea sanguinolenta, casos de cólera o infecciones extraintestinales graves. Para orientar la capacitación de otro personal sanitario, como los agentes sanitarios de la comunidad, hay otras publicaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Esta cuarta revisión del manual refleja la experiencia clínica y los resultados de las investigaciones recientes en el tratamiento de los casos de diarrea. Comparada con las versiones anteriores, incluye las directrices revisadas para el tratamiento de la diarrea aguda infantil con la nueva fórmula de SRO de osmolaridad reducida y los suplementos de zinc, que se ha comprobado que limitan la duración y gravedad de los episodios diarreicos, así como las directrices revisadas para el tratamiento de la diarrea sanguinolenta. Las directrices del presente manual se basan en la versión revisada del esquema de

tratamiento de la OMS que se incluye al final de este documento.¹

Objetivo general

Evaluar el efecto sobre la motilidad intestinal a diferente concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca"

Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca".
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" con mejor efecto sobre la motilidad intestinal.
- Determinar el porcentaje de tránsito intestinal y porcentaje de inhibición frente a estándares.
- Determinar la toxicidad aguda oral a dosis límite del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca".

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de octubre a diciembre del 2015.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" que crecen en el Distrito de Quinua, provincia de Huamanga, región Ayacucho.

3.2.2. Muestra

Dos kilogramos (2 kg) de hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" recolectadas en el Distrito de Quinua, provincia Huamanga, región Ayacucho.

3.2.3. Sistema de muestreo

Se seleccionaron plantas libres de cualquier tipo de lesión, en forma aleatoria, para ello se necesita un cuidado y técnica para extraer las hojas de su sitio de origen. Luego fueron transportados cuidadosamente, en bolsas de color oscuro, luego se procedió al secado de las hojas y se conservó a una temperatura ambiente, hasta proceder la extracción hidroalcohólico.

Para su identificación botánica, se envió la muestra al *Herbarium Huamangensis* de la facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH. En los laboratorios de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica se procedió a la reducción de su tamaño de partículas.

3.2.4. Unidad de Análisis

Se utilizaron 30 cobayos machos de 500 +/- 50 g. de peso, que fueron adquiridos del Instituto Nacional de Investigación y Agricultura (INIA) de Ayacucho. Que luego fueron transportados a los laboratorios de la escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH, para su adaptación por una semana a temperatura ambiente, con dieta balanceada y agua. (24h antes del experimento se privó del alimento y agua).

3.3. Metodología y recolección de datos

3.3.1. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca"

La muestra seca molida de 300 g. se maceró en frascos de color ámbar durante una semana aproximadamente en alcohol de 80°; este cubrirá a la

muestra en su totalidad, unos 10 centímetros por encima inclusive. Durante el proceso se agita el frasco periódicamente para que el solvente se distribuya homogéneamente en la muestra. Transcurrido dicho tiempo el extracto fluido obtenido después fue filtrado y se concentró a presión reducida hasta la eliminación del solvente en un rotavapor, obteniéndose un extracto de consistencia blanda, el mismo que terminó de concentrarse en una estufa a no más de 50 °C para obtener un extracto seco que luego se trasvasa en un frasco ámbar bajo refrigeración hasta su empleo.

3.3.2 Preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca"

Se filtró el extracto hidroalcohólico macerado, luego se llevó al equipo de rotavapor para su concentración obteniendo el extracto de consistencia semilíquida y finalmente se llevó a estufa a una temperatura de 40 °C hasta obtener la sequedad del extracto. Se pesó 3 g de extracto de hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca", para preparar una solución madre al 3%, con 100 mL de agua destilada, y de esta se hizo diluciones sucesivas para concentraciones de 100, 200 y 400 mg/Kg.

3.3.3 Procedimiento para realizar el tamizaje fitoquímico

Se realizó reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico.²⁵

3.3.4. Determinación de la actividad sobre la motilidad intestinal

Fundamento: para evaluar el efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" se empleó el modelo *in vivo* de tránsito intestinal en cobayos utilizando el carbón activado como contraste (patrón indicador) de la motilidad intestinal (peristaltismo).

3.3.5. Fármacos de referencia

- Atropina 1 mg/2mL en ampolla, se aplicó directamente por vía intramuscular a concentración 1 mg/kg de peso animal.
- Loperamida 2 mg en tabletas, se disolvió y se administró por vía oral a concentración 3 mg/kg de peso del animal.

3.3.6. Método empleado

Se utilizó el método de Arbos y Col., a 24 h antes del inicio del experimento, se privó de alimentos a los roedores, y se continuó con agua *ad libitum*. Posteriormente, se administraron las sustancias en estudio. Transcurridos 30 minutos, se procedió a administrar por vía oral (VO) el marcador carbón activado al 10% a dosis de 0.1 ml/10g de peso. Luego de 30 min, se sacrificó a los animales por dislocación cervical, realizándose disección tipo laparotomía para extraer el intestino delgado, desde la porción pilórica hasta el colon, y se procedió a medir la distancia recorrida del carbón activado (que contuvo por lo menos 1 cm continuo de carbón) entre la porción pilórica y la unión ileocecal. La distancia se expresó como la media del porcentaje de la longitud total del intestino recorrida por el carbón \pm error estándar.^{26, 27}

3.3.7. Procedimientos

Modelo *in vivo* de tránsito intestinal: Tras la administración vía oral de una solución de carbón activado como contraste (patrón indicador), es posible medir su desplazamiento estimulado por la motilidad intestinal (peristaltismo).⁴

- Se empleó 30 cobayos machos con un peso corporal comprendido entre 500 \pm 50g. Se les acondicionó en un ambiente higiénico, a temperatura ambiente, con agua y alimento balanceado para cobayos. Los animales fueron privados de alimento y mantenidos sólo con

agua durante las 24 horas previas al experimento.

- Los animales fueron distribuidos al azar en 6 grupos de 5 cobayos cada uno.
- Las dosis se administró por vía oral (v.o.) mediante sonda orogástrica excepto la dosis de Atropina, que se administró por vía intramuscular (i.m.) a razón de 1 mg/kg.
- Transcurrido 30 minutos, se administró carbón activado al 10% (0,1 ml/10 g de peso) vía oral (v.o.) a cada animal.
- Transcurridos 30 minutos después de los tratamientos, se sacrificó los cobayos por dislocación cervical e inmediatamente se les extrae el tubo digestivo desde el cardias hasta la válvula ileocecal.
- Se midió la distancia recorrida por el carbón activado desde el píloro hasta el lugar más distal donde llega esta sustancia. Se tomó como el 100% el largo total del intestino desde el píloro hasta la válvula ileocecal de cada cobayo para calcular porcentualmente el avance del carbón activado en cada animal. Con estos datos se calculó los porcentajes de tránsito e inhibición de la motilidad intestinal, haciendo uso de las siguientes fórmulas:

$$\% TI = \frac{Rc (cm)}{Li (cm)} \times 100$$

$$\% IM = \frac{RcBlanco (cm) - RcTratamiento (cm)}{RcBlanco (cm)} \times 100$$

Donde:

%TI: tránsito intestinal

%IM: inhibición de la motilidad

Rc: distancia recorrida por el carbón

Li: longitud total del intestino

3.3.8 Tipo y diseño de investigación

La investigación será de tipo aleatorio, con seis tratamientos y cinco repeticiones para cada tratamiento del modo siguiente:

Los extractos se prepararon al 3% (3g en 100 mL de agua destilada), y la rehidratación a los animales se realiza con suero fisiológico administrando: 10 mL/kg.

Diseño experimental

Grupos de cinco cobayos cada grupo:

Grupo I: suero fisiológico 0,9%

Grupo II: Estándar: Atropina

Grupo III: Estándar:

Loperamida Grupos IV

a VI: Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg.

3.3.9. Determinación de los parámetros a evaluar

Medida del transporte de carbón activado, en el intestino del cobayo y se comparó con los tratamientos a que concentraciones hay mejor efecto, para determinar el porcentaje de transporte intestinal y el porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal en cobayos.

3.3.10. Ensayo de toxicidad aguda oral a dosis límite (DL₅₀)

Para la determinación de la toxicidad aguda del extracto, se ha empleado cinco ratones albinos de peso corporal que comprenden entre 20 \pm 5g; previamente puesto a la adaptación requerida.

- Los animales estuvieron en ayunas de aproximadamente 12 horas previo al experimento.
- La dosis del extracto de experimento ha sido administrada a una dosis única de 2,000 mg/kg de peso corporal a cada animal por vía oral, usando la cánula orogástrica.

- Se observó a los animales en prueba después de la administración de la dosis, con especial atención las primeras cuatro horas, periódicamente durante las primeras 24h y a continuación diariamente hasta un total de 14 días.

3.4. Análisis de datos

3.4.1. Actividad sobre la motilidad intestinal

Con los datos obtenidos se calculó en forma de medias y desviación estándar. Los resultados entre los grupos tratados se determinaron mediante el uso de Análisis de varianza, prueba de comparaciones múltiples de Dunnett (comparación de las medias de todos los tratamientos contra un control) y Duncan (comparaciones entre los tratamientos), considerando un nivel de confianza del 95%.

Resultados

Tabla 2. Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Observaciones	resultados
Flavonoides	Shinoda	Coloración amarilla	+++
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado naranja	+++
Alcaloides	Mayer	Suspensión lechosa	+++
Alcaloides	Wagner	Precipitado verde	+++
Iridoides	Vainillina HCl	Rosado	+
Catequinas	Ensayo de catequinas	Color verde carmelita	++
Saponinas	Espuma	Mucha espuma	+++
Fenoles y taninos	Cloruro férrico Cl ₃ Fe	Coloración verde intensa	+++
Aminoácidos	Ensayo de ninhidrina	Coloración azul	+
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	Coloración violáceo	++

Leyenda: (+): Escaso (++): Moderado (+++): Abundante

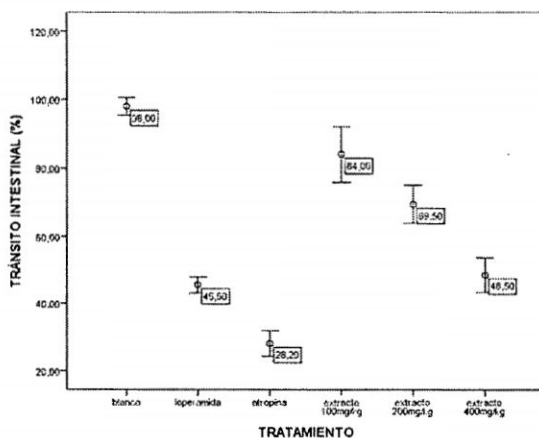


Figura 6. Variación de Porcentaje del tránsito intestinal, con la prueba de Dunnett, $p < 0,05$, por efecto de la administración de blanco, atropina, loperamida y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

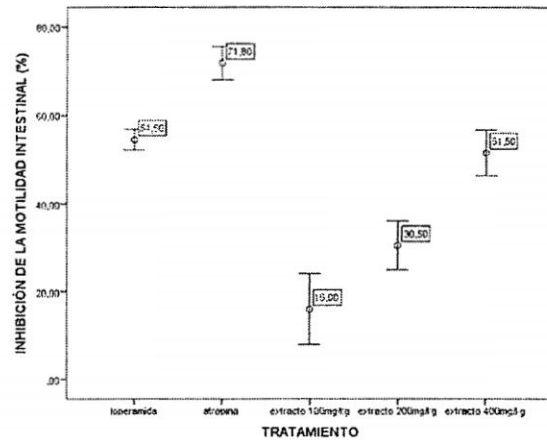


Figura 7. Variación Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal con la prueba de Dunnett, $p < 0,05$, por efecto de la administración de atropina, loperamida y el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca". Ayacucho, 2015.

Discusión

En este estudio se evaluó el efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R & P. "pisca pisca" usada comúnmente en la medicina tradicional para tratar síntomas gastrointestinales, para ello se procedió a realizar una extracción hidroalcohólico al 80%.

En la tabla 2, muestra el resultado del análisis fitoquímico de las hojas de *Columellia obovata* R & P. "pisca pisca", demostrando la presencia de alcaloides, flavonoides, iridoides, catequinas, saponinas, taninos, fenoles, aminoácidos, glicósidos cardiotónicos. Por lo tanto, los metabolitos secundarios resaltantes en dicha extracción fueron los alcaloides con la presencia de precipitado naranja intenso, flavonoides con una coloración de amarillo e iridoides con una coloración rosada, estas reacciones de identificación (Anexo 2).

En la figura 6. Se observe el resultado de porcentaje de tránsito intestinal de la atropina (fármaco de referencia), loperamida (fármaco de referencia) y de los extractos de 100, 200 y 400 mg/Kg respectivamente, obteniendo los resultados para el blanco 98%; atropina 28,20%; loperamida 45,50% y para los extractos hidroalcohólicos 84,00%; 69,50% y 48,50% respectivamente. Se encontró que todos los tratamientos del extracto hidroalcohólico disminuyeron el tránsito intestinal significativamente y de manera dosis dependiente. Al evaluar las diferencias estadísticas del efecto producido por cada uno de los tratamientos se demuestra que la dosis de 400mg/kg y loperamida son similares y no se comparan estadísticamente a la atropina.

Al realizar la prueba de Duncan se determinó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos del extracto ($p < 0,05$), en donde nos muestra que la dosis de 400 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R & P. "pisca pisca" posee el mejor efecto sobre la motilidad intestinal, expresando en la disminución del tránsito intestinal del carbón activado; en cambio las dosis de 100 y 200 mg/kg presentó menor actividad.

En la figura 7, se observa el resultado del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de la atropina

(71,80%), loperamida (54,50%) y de los extractos de 100, 200 y 400 mg/kg; obteniendo al 16,00%; 30,50%; 51,50% respectivamente.

Al realizar el análisis estadístico de varianza demuestra de que las diferencias en los tratamientos son estadísticamente significativos ($p < 0,05$) y con la prueba de comparaciones de Dunnett (Anexo 5) nos muestra de que los valores para loperamida (fármaco de referencia) y el extracto de 400 mg/kg poseen similares efectos en la relajación de la musculatura lisa intestinal. Los extractos hidroalcohólicos actuaron sobre el intestino de los cobayos, produciendo una inhibición de la contracción dependiente de la concentración (100, 200 y 400 mg/kg), el extracto de 400 mg/kg mostró una mayor actividad relajante (51,50%).

Se realizó la determinación de toxicidad aguda (DL50) en ratones, administrando el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Columellia obovata* R. & P. "pisca pisca" (figura 8). El extracto a dosis 2,000 mg/kg fue bien tolerado por los animales, no hubo muertes registradas después de la administración oral y durante el periodo de observación, lo cual solo se manifestó mediante el aumento del peso corporal. Por lo tanto en el resultado de la toxicidad aguda de *Columellia obovata* R & P. "pisca pisca" no presentó ningún signo de toxicidad hasta un nivel 2,000 mg/kg.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Organización Panamericana de la salud. Manual Clínico Para los Servicios de Salud. Tratamiento de la diarrea. Washington, D.C.: OPS, © 2008. [Revista en internet] 2008. [Acceso 19 de octubre de 2015]. Disponible en: <http://bvs.per.paho.org/texcom/colera/001948.pdf>.
- Ccaccro R. Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto hidroalcohólico de *Lisianthus alatus* Aubl. "kimsa cucho" en ratas. Ayacucho 2015. [Tesis]. Ayacucho, Perú; Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Escuela de Farmacia y Bioquímica; 2013.
- Serrano GL. Actividad antiespasmódica en extractos de plantas medicinales en preparaciones de íleon de cobayo [tesis Doctoral]. Nuevo león: universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina; 2005.
- Berardi A. "Etnofarmacología gastrointestinal de plantas medicinales argentinas del género *Aloysia*, familia Verbenaceae: mecanismos de acción y relación con los principios activos. [Tesis] La plata – Argentina. Universidad nacional de la plata facultad de ciencias exactas departamento de ciencias biológicas; 2012. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2656/Documento_completo___pdf?s_equence=3
- Ramirez F. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "Canchalagua" en ratas albinas. [Tesis] Lima – Perú, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010. [Acceso a internet el 17 septiembre 2015]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/240/Ramirez_cf.pdf?sequence=1
- Toso R, Skliar M, Verna E. Modelo Experimental para Evaluar el Tránsito Gastrointestinal en Ratones. [Tesis] La Pampa – Argentina, Universidad Nacional de la Pampa; 2002. [Acceso a internet 17 de septiembre del 2015]. Disponible: <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/n04a07toso.pdf>
- Rivera E, Chávez MA, Gattuso, Lozoya X. La hoja de guayabo en el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Revista fitoterapia. [Revista en internet] 2003 noviembre. [Acceso el 15 de septiembre del 2015]; 2(2). Disponible : http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF3_2_G_UAYABO.pdf
- Arce J. "Estudio sobre los Estándares de certificación de Manejo de Bosques". edit. ICON- INSTITUT GmbH Pivate sector. Lima, febrero de 2009. Citado de internet el 28 de Agosto 2015. Disponible en: <http://www.mincetur.gob.pe/Comercio/ueperu/licitacion/pdfs/Informes/75.pdf>.
- Delgado H. "Inventario de Recursos Curativos en Centros de Expendio Formales e Informales". Ayacucho, noviembre 1989. citado de internet el 28 de agosto 2015. Disponible en: http://www.flacsoandes.edu.ec/sites/default/files/agora/files/1282789640.amt_75_inventario_recursos_curativos_junin.pdf.
- Macía M. Las plantas de fibra. Botánica Económica de los Andes Centrales [Revista en internet] 2006. [Acceso 28/08/15]. Disponible en: <http://www.beisa.dk/Publicaciones/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%2023.pdf>
- Zárate R, Mori TJ. Mesozonificación Ecológica y Económica para el Desarrollo Sostenible del Valle del Río Apurímac-VRA. Edit. Instituto de Investigaciones de la Amazonía. Peruana. Iquitos-Perú. Citado de internet el 28 de agosto. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/cdpublicaciones2011/documentos/pdf/proterra/pu/97.pdf>
- Villar A. Farmacognosia General. Edit. Síntesis, SA. Madrid- España 1999.
- Bruneton J. Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales. 2ª ed. Edit. Acribia S.A. Zaragoza – España. 2001.
- López N, Miguel M, Aleixandre A. Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud. Nutrición clínica y dietética Hospitalaria. [Revista en internet] 2012; 32(3), Madrid – España. [Acceso el 18 de setiembre del 2015]. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/101431/1/terpenos%20iridoides.pdf>
- Lock O, Investigación fitoquímica: Método en el estudio de productos naturales. 2ª ed., edit. Fondo. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima – Perú; 1994.
- Aguirre R, Avila M, Barradas G, Calderon J, Calixto J, Campos A, et al. Manual de práctica de laboratorio de farmacología. 2ª ed, Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autonoma de Mexico; 2013.
- Ferrufino J, Taxa L, Ángeles G. histología normal del intestino delgado. Revista médica Heredia. 1996. [revista en internet] 1996. [Acceso el 12 de octubre 2015]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/mh/v7n1/v7n1tr2.pdf>.
- Canalejo J. aparato digestivo y metabolismo. Guía básica farmacoterapéutico. 5ª ed. Barcelona: estudio gráfico S.L; 2002.
- Alvarado, J. "Apuntes de farmacología". Edit. Apuntes médicos del Perú. 3ª ed, Callao-Perú, 2008.
- Katzung B. Farmacología Básica y Clínica. 10ª ed. Edit. El manual moderno S.A. México, 2007.
- Godman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Vol I, Edit. Mac Graw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México, D.F. México, 2001.

22. Taylor M, Reide P. Farmacología. Edit. Harcourt, Madrid – España; 1999.
23. Malagelada JR. Gastrointestinal motility and perception disorders re-visited. Revista española de Enfermedades digestivas. [Revista en internet], 2004. [Acceso el 19 de setiembre del 2015]. 96 (7). Madrid – España; 2004. Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v96n7/es_punto.pdf
24. Neil I. Enfermedades y trastornos de la salud. Edit. Sons. 3ª ed. México 2004.
25. Miranda M. métodos de análisis de drogas y extracción. La Habana: Universidad de la Habana; 2002.
26. Zavala E, Goicochea S, Agurto T, Adrianzen S, Coronel G, Salazar A. Dosis respuesta sobre la motilidad intestinal y el sistema nervioso de la interacción entre *Jatropha curcas* L. y metocloropramida en el sistema gastrointestinal. [Revista en internet], 2013. [Acceso 10 agosto del 2015]. 30(3). Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres. Lima, Perú. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v30n3/a04v30n3.pdf>.
27. Arbos, J.; Cegri, A.; Lopez - Soriano, F.R.J.; Argiles, J.M. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. Arch. Intern. Physiol. Bioch. Biophys. 1993; 101:113-115.
28. Carrasco JM, Fartolino A, Sanchez A, Lujan J, Pchas A, Castilla L et al. Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de semilla de *Jatropha curcas* L. Revista cubana de plantas medicinales. [Revista en internet] 2013. [Acceso a internet el 17 de setiembre del 2015]; 18(1):84-91. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n1/pla10113.pdf>
29. Astudillo VA, Mata R, Navarrete A. El reino vegetal, fuente de agentes antiespasmódicos [monografía en internet]. Coyoacan, México D. F; Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de Farmacia; 2009 [acceso el 14 de noviembre 2015]. Disponible en: www.Relaquim.Com/archiv/2009/p_2009371-7.pdf.
30. María F. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "Canchalagua" en ratas albinas.[tesis] Lima – Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2010.
31. Vega R, Carrillo C. Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón). Revista Cubana de Plantas Medicinales. [Revista en internet] 1997. [Acceso a internet el 15 de setiembre del 2015]; 2(2), mayo – agosto. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47961997000200004&script=sci_arttext
32. Salinas D, Araujo J, Cisneros C, Villena C, Senosain D, Huarcaya C et al. Inhibición del tránsito intestinal por el extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* L (guanábana) en ratones. Ciencia investigación. [Revista en internet] 2011; 14(1):9-13. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM; 2011. [Acceso el 12 de setiembre del 2015] Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v14_n1/pdf/a02v14n1.pdf
33. Ochoa Ch, Chapañan M, Granada C, Quintana W, Xavier W, Puerta E et al. Efecto antidiarreico y antiespasmódico del extracto metanólico de *Púnica granatum* L. "granada" en ratones. Rev. Informe final de investigación experimental curso de farmacología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.
34. Serrano L. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de ileon de cobayo. [tesis doctoral] Nuevo – México, Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Medicina; 2005.
35. Antonio M, Noemí H y Astudillo A. Actividad gastrointestinal del fruto de *Cydonia oblonga* Miller. [Revista en internet]; Revista Latinoamericana Química; 2009 37(2) [acceso a internet el 29 de noviembre de 2015]. Disponible en: http://scielo.iec.pa.gov.br/pdf/rpas/v1n1/es_v1n1a26.pdf
36. Morón F, Martínez M y Morón D. Disminución del tránsito intestinal en ratones por tintura de guayaba (*Psidium guajava* L.) oral. [Revista en internet] Revista cubana de plantas medicinales 1999; 3(2). Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende" Laboratorio Central de Farmacología [Acceso a internet el 30 de noviembre de 2015]. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol4_2_99/pla02299.pdf