

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



Efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico de las
hojas de *Satureja brevicalix* Epling “wayra muña” en
íleon aislado de cobayo. Ayacucho - 2012

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:

Bach. PALOMINO MEDINA, CYNDY CRISTAL

AYACUCHO – PERÚ

2013

ACTA DE SUSTENCIÓN DE TESIS
R.D.N. 117-13-UNSCH-FCB-D
Bach. Cyndy Cristal PALOMINO MEDINA

En la ciudad de Ayacucho, a las diecinueve días del mes de agosto del año dos mil trece, en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH, siendo las cuatro de la tarde, los miembros del jurado calificador, bajo la presidencia del Dr. Segundo Tomás Castro Carranza e integrado por los siguientes miembros docentes: Mg. José Manuel Diez Macavilca, Mg. Edgar Cárdenas Landeo, Dr. Edwin Carlos Enciso Roca y actuando como secretaria docente la Blga. Rosa Cortez Saavedra para recepcionar la sustentación de la tesis titulada: "Efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico de las hojas de *Satureja breviculix* Epling "wayra muña" en ileon aislado de cobayo. Ayacucho – 2012, presentado por la bachiller en Farmacia y Bioquímica Cyndy Cristal Palomino Medina quien pretende optar el título profesional de Químico Farmaceutica. Cabe mencionar al Mg. Enrique Javier Aguilar Felices quien es el miembro-asesor.

Como primer acto el Sr. Presidente del Jurado Calificador dio instrucciones a la señorita sustentante para su exposición, el que no debe extenderse de los cuarenta y cinco minutos. Culminada la exposición el Sr. Presidente solicitó la participación de los miembros del jurado calificador, para realizar sus observaciones, preguntas o aclaraciones que crean por conveniente para realizar la calificación correspondiente.

Los miembros del jurado calificador participaron en el siguiente orden:

Mg. José Manuel Diez Macavilca, Dr. Edwin Carlos Enciso Roca, Mg. Edgar Cárdenas Landeo, Dr. Tomas Castro Carranza y Mg. Enrique Aguilar Felices (asesor).


Culminada la fase de participación de los miembros del Jurado Calificador, el presidente de la misma, invita a la señorita sustentante y al público asistente a abandonar el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, para que el Jurado Calificador pueda deliberar y realizar la calificación en privado. Obteniéndose la siguiente calificación:

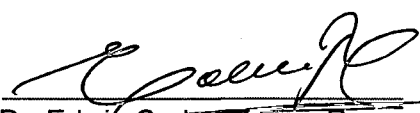
JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	RESPUESTA A PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg. José Manuel Diez Macavilca	17	17	17
Mg. Edgar Cárdenas Landeo	17	17	17
Dr. Edwin Carlos Enciso Roca	17	17	17
Enrique Aguilar Felices (asesor)	17	17	17
		PROMEDIO: 17	

De la evaluación realizada, la señorita sustentante obtuvo la nota promedio de DIECISIETE (17) de la cual dan fe los miembros del Jurado Calificador estampando la firma al pie del acta. Culminado el acto de sustentación siendo las cinco y veintisiete minutos de la tarde.


Mg. José Manuel Diez Macavilca
Miembro


Mg. Edgar Cárdenas Landeo
Miembro


Enrique Aguilar Felices
Miembro – Asesor


Dr. Edwin Carlos Enciso Roca
Miembro


Dr. Segundo Tomás Castro Carranza
Presidente


Biga. Rosa Cortez Saavedra
Secretaria – Docente

DEDICATORIA

A Dios.

A mis padres, Carmen y Herminio.

A mis hermanos Ernes, Marillia,
Milagros, Paola y a Edgar Fernando.

AGRADECIMIENTO

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

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

A mis asesores del presente trabajo, el Mg. Enrique Aguilar Felices y Dr. Aldo Tinco Jayo, que con gran criterio profesional y sobre todo comprensión humana contribuyeron a la realización de la presente tesis.

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

INDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Satureja breviculix</i> Epling "wayra muña"	5
2.3. Terpenos	7
2.4. Intestino delgado	8
2.5. Acetilcolina	10
2.6. Antagonistas colinérgicos	12
2.7. Cólico	12
2.8. Antiespasmódico	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Ubicación del lugar de estudio	15
3.2. Población y muestra	15
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	16
3.3.1. Preparación de la muestra	16
3.3.2. Ensayos fitoquímicos	16
3.3.3. Cromatografía en Capa Fina (CCF)	17
3.3.4. Determinación de la actividad antiespasmódica	17
3.3.5. Diseño experimental	18
3.3.6. Análisis de datos	19
IV. RESULTADOS	20
V. DISCUSIÓN	27
VI. CONCLUSIONES	34
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	39

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto clorofórmico.	21

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Biosíntesis de terpenos	7
Figura 2.	Estructura histológica del tubo digestivo.	9
Figura 3.	Sinapsis colinérgica.	11
Figura 4.	Cromatografía en capa fina del extracto clorofórmico; vainillina ácido sulfúrico (A) y el reactivo de Liebermann – Burchard (B), a la luz visible.	22
Figura 5.	Cromatografía en capa fina del extracto clorofórmico; vainillina ácido sulfúrico (A) y el reactivo de Liebermann – Burchard (B), a la luz ultravioleta.	23
Figura 6.	Tensión (g) de la contracción del íleon según tratamientos.	24
Figura 7.	Número de contracciones del íleon según tratamientos.	25
Figura 8.	Altura de contracciones del íleon según tratamientos.	26

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página	
Anexo 1.	Certificado de identificación botánica.	40
Anexo 2.	Flujograma de obtención del extracto hidroalcohólico.	41
Anexo 3.	Flujograma de obtención del extracto clorofórmico.	42
Anexo 4.	Composición del medio nutricio Tyrode.	43
Anexo 5.	Pulverización de las hojas.	44
Anexo 6.	Equipo de evaporador rotatorio BUCHI 3000.	45
Anexo 7.	Pera de bromo para separación por fases.	46
Anexo 8.	Tubos de prueba con reacciones de coloración; Liebermann – Burchard (I), Shinoda (II), cloruro férrico (III); fracción clorofórmica (C) e hidroalcohólica (HA).	47
Anexo 9.	Sembrado y desarrollo de la cromatografía de capa fina.	48
Anexo 10.	Quimógrafo automatizado Panlab Harvard.	49
Anexo 11.	Lavado del íleon aislado de cobayo.	50
Anexo 12.	Baño de órganos aislados.	51
Anexo 13.	Análisis de varianza de la tensión (g) de la contracción del íleon.	52
Anexo 14.	Prueba de Tukey de la tensión (g) de la contracción del íleon.	53
Anexo 15.	Análisis de varianza del número de contracciones.	54
Anexo 16.	Prueba de Tukey del número de contracciones.	55
Anexo 17.	Análisis de varianza de la altura de las contracciones.	56
Anexo 18.	Prueba de Tukey de la altura de las contracciones.	57
Anexo 19.	Respuesta gráfica del íleon con aplicación de acetilcolina.	58
Anexo 20.	Respuesta gráfica del íleon con aplicación de acetilcolina y atropina.	59
Anexo 21.	Respuesta gráfica del íleon con aplicación de acetilcolina y extracto clorofórmico al 3%.	60
Anexo 22.	Respuesta gráfica del íleon con aplicación de acetilcolina y extracto clorofórmico al 6%.	61

Anexo 23.	Respuesta gráfica del ileon con aplicación de acetilcolina y extracto clorofórmico al 12%.	62
Anexo 24.	Matriz de consistencia.	63

RESUMEN

Satureja brevicalex Epling es una especie utilizada tradicionalmente como antiespasmódico. El presente trabajo de investigación experimental se realizó con el objetivo de determinar la actividad antiespasmódica del extracto clorofórmico de las hojas de *Satureja brevicalex* Epling “wayra muña” en íleon aislado de cobayo, desarrollado en los laboratorios del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga entre los meses de junio a noviembre del 2012. Las hojas fueron colectadas en el distrito de Quinua, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. La extracción se realizó con cloroformo, se evaporó a sequedad y se realizó los ensayos fitoquímicos y cromatográficos, donde se evidenció la presencia de sustancias de naturaleza terpénica y flavonoides. La evaluación del efecto antiespasmódico se realizó mediante el método de Magnus modificado¹ en íleon aislado de cobayo, haciendo uso de un quimógrafo automatizado, Panlab Harvard; las contracciones fueron inducidas con acetilcolina $2 \times 10^{-1} M$, registrándose el aumento de la tensión, número y altura de las contracciones. Se usó como control atropina y se evaluó el extracto clorofórmico a las concentraciones de 3%, 6% y 12%. El extracto clorofórmico al 12% redujo la tensión a -0,353 g semejante al de la atropina (-0,526 g), los extractos al 3 y 6% a 1,278 g y 0,481 g respectivamente. El número y altura de las contracciones fue de 0,6 y 0,55 mm con atropina; 8,2 y 8,8 mm con el extracto al 3%; 12,8 y 1,890 mm con el 6% y finalmente 20,4 y 2,754 mm con la concentración al 12% respectivamente. El análisis estadístico mostró diferencias significativas en los diferentes tratamientos ($p < 0,05\%$). Se concluye que el extracto clorofórmico tiene efecto antiespasmódico, mostrando mejor efecto al 12%.

Palabras clave: *Satureja brevicalex* Epling, efecto antiespasmódico.

I. INTRODUCCIÓN

Una gran variedad de enfermedades se manifiestan con dolor abdominal tipo cólico, un síntoma claramente inespecífico, pero significativamente molesto, cuya prevalencia estimada para la población adulta es cercana al 30%.² Las posibilidades terapéuticas incluyen una amplia gama de alternativas, entre las que se encuentran los antiespasmódicos y la terapia herbal, que se convierte en una de las más utilizadas hoy en día.² Sobre todo en países económicamente dependientes, donde los padecimientos gastrointestinales afectan a grandes grupos de la población.³

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

Dentro de los metabolitos secundarios con actividad antiespasmódica principalmente son reportados flavonoides, terpenos y alcaloides.³ *Satureja breviculix* Epling "wayra muña" es una especie nativa que crece de manera silvestre en los andes peruanos, y es utilizada tradicionalmente para aliviar dolores de cabeza, cólicos intestinales, entre otros usos, por su contenido de aceites esenciales, flavonoides, terpenos entre otros.^{5,6} Lo que convierte a esta

planta en un remedio casero ideal para el tratamiento natural y alivio de cólicos y dolores asociados a espasmos y contracturas musculares involuntarias; además de poseer otras actividades también importantes como antibacterianas, antioxidante y antiinflamatorias.⁷

Todo ello conlleva a prestarle mayor atención y complementar los estudios que se le han realizado utilizando solventes con diferente polaridad, permitiendo una extracción selectiva de los compuestos químicos presentes en una planta medicinal. En el presente trabajo de investigación se ha evaluado el efecto antiespasmódico de la fracción clorofórmica en íleon aislado de cobayo, haciendo uso de un quimógrafo automatizado. Este equipo tiene un transductor y amplificador con conexión a un computador que permitió registrar la actividad muscular del órgano aislado de manera más precisa.

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

Objetivo general

- Determinar el efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico de las hojas de *Satureja breviculix* Epling “wayra muña” en íleon aislado de cobayo.

Objetivos específicos.

- Comparar el efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico de las hojas de *Satureja breviculix* Epling “wayra muña” con la atropina en íleon aislado de cobayo.
- Determinar la concentración del extracto clorofórmico de *Satureja breviculix* Epling “wayra muña” que muestre mejor efecto antiespasmódico.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En la ciudad del Cusco, las plantas medicinales son frecuentemente utilizadas para tratar inflamaciones renales y hepáticas (40%), dolencias gastrointestinales (30%) y afecciones broncopulmonares (20%).⁸

Se revisaron 242 trabajos de investigación ejecutados entre 1972 y 2008, reportándose estudios de actividad antiespasmódica y/o antidiarreica para 319 especies pertenecientes a 101 familias, siendo de mayor frecuencia las Asteraceae, Fabaceae y Labiatae. La mayoría de ellos realizadas en estudios *in vitro* utilizándose mayormente íleon aislado de cobayo y yeyuno aislado de conejo.³

En la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga se han realizado trabajos sobre efecto antiespasmódico en varias especies como *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pampa salvia"⁹, *Melissa officinalis* L. "toronjil"¹⁰, *Rosmarinus officinalis* L. "romero"¹¹, *Foeniculum vulgare* Will. "hinojo"¹², e incluso con la misma *Satureja breviculix* Epling, "wayra muña" en infusión acuosa¹³, y de los flavonoides aislados de sus hojas¹; en la mayoría de casos en íleon aislado de cobayo.

Existen otros trabajos de investigación que evalúan el efecto antiespasmódico de las plantas medicinales entre ellos tenemos los realizados con *Aloysia*

polystachya y *Aloysia gratissima*, éstas especies redujeron los efectos espasmogénicos de la acetilcolina, mostrando mejor actividad el extracto etanólico en comparación de los extractos acuosos.¹⁴

Actividad espasmolítica de *Melissa officinalis* L. fue evaluada en tres experimentos, el primero *in vitro*, sobre íleon aislado de cobayo evaluando su actividad frente a las contracciones inducidas por diferentes espasmógenos; los otros dos se realizaron *in vivo*, evaluando la actividad del tránsito intestinal en ratones y el modelo de diarreas en ratas.¹⁵

También se realizaron estudios sobre la actividad antiespasmódica de extractos metanólicos de *Argemone mexicana*, *Lippia graveolens*, *Marrubium vulgare*, *Matricaria recutita*, *Ruta graveolens* y *Thymus vulgaris* sobre íleon de cobayo, donde observaron que el extracto de *Matricaria recutita* fue el que presentó mayor actividad relajante (82,3%), a concentración de 10 µg/ml, además que el extracto de *Ruta graveolens* a la misma concentración presentó una respuesta moderada (74,4%).¹⁶

En otro estudio evaluaron el efecto *in vitro* de la infusión al 10% de hojas secas de *Ocimum basilicum* (albahaca) y *Foeniculum vulgare* (hinojo) y la mezcla 1:1 de ambas infusiones, demostrando efecto relajante en el tono del íleon precontraído de rata en ambas especies; pero no observaron efecto aditivo con la mezcla de ambas.²

En el estudio sobre el efecto antiespasmódico de los extractos de metanol, cloroformo y hexano del alga *Oedogonium capillare* (Linn) Kuetz sobre íleon de rata Wistar; el extracto metanólico presentó un mejor efecto relajante a comparación de los otros que no tuvieron efecto sobre la amplitud de las contracciones ni sobre el tono del músculo del íleon.¹⁷

2.2. *Satureja brevicalex* Epling “wayra muña”

2.2.1. Taxonomía

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

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUB- CLASE : ASTERIDAE

ORDEN : LAMIALES

FAMILIA : LAMIACEAE

GÉNERO : *Satureja*

ESPECIE : *Satureja brevicalex* Epling

Sinonimia vulgar: “urqu muña”, “wayra muña”, “sacha muña”, “muña”, “inca muña”, “salqa muña”, “cjunumuña”, “cjuña”, “konoc” y “orégano de los incas”.^{18,19}

2.2.2. Descripción botánica

Es de porte arbustiva perennifolio, erguido de uno a un metro y medio de altura, aromática y pubescente. Hojas muy pequeñas, espatuladas, sésiles, verticiladas y opuestas, de margen entero. Flores blancas, solitarias, axilares, tetrámeras, bilabiadas; cáliz gamosépalo; corola gamopétala; androceo con estambres didínamos; gineceo con ovario súpero, estilo apical y estigma simple. Florece en primavera y verano.^{18,19}

2.2.3. Distribución geográfica

En el Perú *Satureja brevicalex* Epling crece en territorios alto andinos mayormente entre los 3 500 y 3 800 m.s.n.m. de clima frío, creciendo de manera silvestre en las montañas y faldas de los cerros junto con el ichu, es de predilección por laderas de suelos areno-arcillosos y pedregosos. En el Perú esta planta crece en Cuzco, Apurímac, Huancavelica, Junín y en mayor cantidad, siendo vernácula y aborigen en el departamento de Ayacucho.^{18,19,20}

2.2.4. Etnobotánica y etnofarmacología

Según informaciones etnobotánicas y etnofarmacológicas es usada para resolver problemas gastrointestinales y para la corrección de desórdenes menstruales. Es digestivo, carminativo, contra la gastritis, flatulencia y antiespasmódica. También es usado como analgésico soasando las hojas en caso de dolores musculares y tortícolis.^{18,21}

2.2.5. Estudios farmacológicos

Se han realizado diversos estudios a esta especie entre las que se puede mencionar: actividad analgésica⁵, antiespasmódica de la infusión acuosa de sus hojas y sumidades floridas¹³, capacidad de captación de radicales libres del extracto acuoso liofilizado de las hojas utilizando la técnica del difenilpicrilhidrazilo (DPPH)²², actividad hepatoprotectora del extracto acuoso de sus hojas²³, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial²¹, efecto neuroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas sobre los mecanismos antioxidantes en cerebros de ratas Holtzman recién nacidas sometidas a hipoxia isquemia⁷, actividad antioxidante y antiinflamatoria de los flavonoides aislados de las hojas⁶; actividad hepatoprotectora y antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas^{24,1} y actividad antioxidante de los ácidos fenólicos aislados de las hojas.²⁵

2.2.6. Composición química

En el extracto hidroalcohólico se evidenció resinas, azúcares reductores, catequinas, lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, flavonoides y aceite esencial.⁵ En su aceite esencial se reporta la presencia de monoterpenos oxigenados (74,8%), como componentes mayoritarios la pulegona (27,2%), linalol (20,3%), mentona (11,1%), isomentona (8,3%), cisisopulegona (2,7%), trans-isopulegona (0,9%), α -carvacrol (0,6%), timol (0,6%) y α -terpineol (0,5%); hidrocarburos sesquiterpénicos (16%),

destacando β -biciclogermacreno (8,2%) y β -cariofileno (6,5%); hidrocarburos monoterpénicos (4,1%), con el p-cimeno (2,0%), limoneno (0,7%) y γ -terpineno (0,6%); y sesquiterpenos oxigenados (1,5%), con el espatulenol (0,8%).²¹ También se aisló los flavonoides apigenina y naringenina⁶ y los ácidos fenólicos cafeico, ferúlico, clorogénico y rosmarínico de las hojas.²⁵

2.3. Terpenos

Los terpenos son un amplio grupo de compuestos que se caracterizan por estar formados por la unión de unidades pentacarbonadas (C₅) ramificadas relacionadas con el 2-metil-1,3-butadieno (isopreno).²⁶

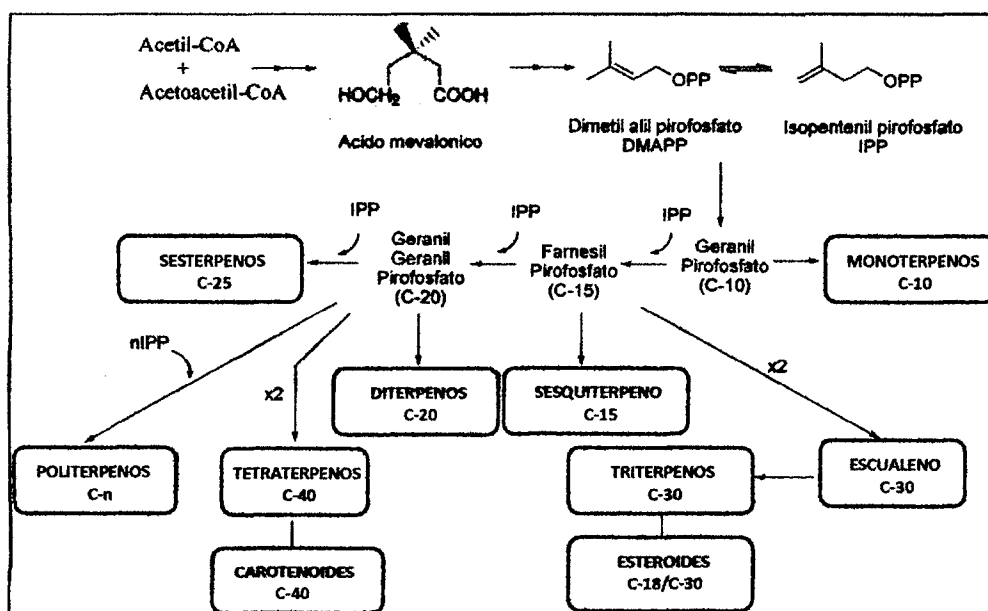


Figura 1. Biosíntesis de terpenos.²⁶

Son muy numerosos y de estructura diversa y se pueden encontrar tal cual o formando parte de estructuras más complejas (por ejemplo, saponinas) o de mezclas complejas (por ejemplo, aceites esenciales). Algunos compuestos tienen sólo una parte de la estructura de naturaleza isoprenoide y se consideran de origen mixto.²⁷ Aunque la inmensa mayoría de los terpenos son compuestos específicos del reino vegetal (metabolitos secundarios), también pueden

encontrarse en los animales (como por ejemplo los diterpenos de organismos marinos).²⁶

A la vista de esta variedad de compuestos, es evidente que muchos terpenos tienen un importante valor fisiológico y comercial.²⁸

Clasificación

Se clasifican por el número de unidades de isopreno (C_5) que contienen.^{27, 29}

- **Monoterpenos:** contienen dos unidades de isopreno y se encuentran en los aceites esenciales y en las oleorresinas.
- **Sesquiterpenos:** tienen tres unidades C_5 y se encuentran libres, formando parte de aceites esenciales o como lactonas sesquiterpénicas.
- **Diterpenos:** tienen cuatro unidades C_5 .
- **Triterpenos:** contienen 30 átomos de carbono, su presencia es habitual en plantas superiores, pero aparecen también en animales superiores y en hongos y bacterias.
- **Tetraterpenos:** tienen 40 átomos de carbono y se habla de politerpenos cuando contienen más de ocho unidades de isopreno.

2.4. Intestino delgado

Es la parte de mayor longitud del sistema gastrointestinal (aproximadamente cinco metros), alrededor del 5% de su longitud inicial corresponde al duodeno (caracterizado por la ausencia del mesenterio), enseguida se ubica el yeyuno (alrededor del 40% de longitud intestinal), y finaliza con el íleon. Es el órgano de absorción y digestión alimenticia más importante en el organismo. Las alteraciones en su funcionamiento pueden provocar reflujo, esofagitis, úlceras pépticas, trastornos estomacales, propulsión inadecuada del quimo y sólidos en el intestino delgado, colon y recto; diarrea, infecciones, inflamaciones, etc.³⁰

2.4.1. Estructura histológica del tubo digestivo

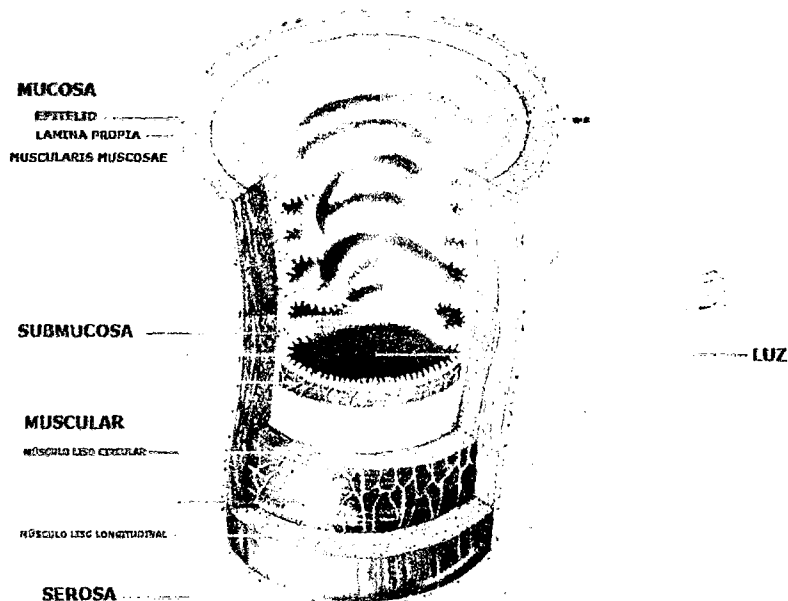


Figura 2. Estructura histológica del tubo digestivo.³⁰

Hay cuatro capas en la pared del tubo digestivo:³¹

- **Epitelio o mucosa digestiva.** El epitelio presenta glándulas mucosas productoras de moco, con función protectora y lubricante.
- **Submucosa.** Existen abundantes vasos sanguíneos; en ella se encuentra el plexo (red) submucoso de Meissner, que es de carácter nervioso vegetativo, es el primer nivel de regulación digestiva, forma parte del sistema neuroentérico intrínseco y tiene el papel principal de regular la secreción de las glándulas.
- **Capa muscular externa.** Posee dos capas de fibras musculares; la primera capa es circular y por encima de ella está la capa muscular longitudinal, en esta capa más externa se encuentra el plexo mientérico de Auerbach, que es el primer componente del sistema neuroentérico intrínseco, ésta actúa sobre el músculo del tubo digestivo y regula la motilidad muscular.

- **Capa externa.** Está formada por la adventicia (o capa más externa del tubo digestivo) o por la serosa que recibe el nombre de peritoneal. El peritoneo recubre a gran parte de estructuras intraabdominales.

2.4.2. Neurotransmisión en el tracto gastrointestinal

La regulación nerviosa de la función gastrointestinal se caracteriza por un elevado grado de autonomía. Aunque recibe la influencia del sistema nervioso autónomo, presenta características muy especiales que la separan claramente de la regulación en otros órganos. Estas características son: la existencia de un sistema nervioso entérico (SNE) virtualmente independiente del control nervioso central; existencia de gran número de neuronas intrínsecas (107 a 108); la enorme diversidad de tipos neuronales y de neurotransmisores, especialmente neuropéptidos, y la frecuencia con que una misma neurona contiene dos o más cotransmisores. De esta manera, este sistema controla la motilidad, las secreciones exocrina y endocrina, y la microcirculación del tubo digestivo, e interviene en la regulación de sus procesos inmunológicos e inflamatorios.³²

El SNE mantiene una clara relación y comunicación con el sistema nervioso central (SNC) a través de las neuronas aferentes y eferentes del sistema simpático y parasimpático. Así pues, existe una parte del SNC dedicado a regular y controlar la actividad del SNE, pero buena parte de la actividad ordinaria del aparato digestivo es realizada bajo el control casi exclusivo del SNE. La inervación colinérgica es abundante, el 50% de las neuronas del plexo submucoso y el 20% de las del mientérico contienen acetilcolina, a menudo en asociación con otros cotransmisores.³²

2.5. Acetilcolina

La acetilcolina (AC) fue el primer neurotransmisor caracterizado tanto en el sistema nervioso periférico (SNP) como en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos.³³ Es sintetizada en el citoplasma neuronal a partir de la colina y

de la acetilcoenzima A (acetil-CoA) mediante la acción de la enzima colinoacetiltransferasa (CAT). Una vez sintetizada, la acetilcolina es almacenada fundamentalmente en el terminal colinérgico presináptico. Una vez liberada al espacio intersináptico, la acetilcolina interactúa con sus receptores para ejercer las acciones específicas en cada órgano y es degradada inmediatamente. Si bien la acetilcolina puede hidrolizarse espontáneamente, este proceso es 100 millones de veces más rápido con enzimas colinesterásicas en el espacio intersináptico y que la desdoblan en acetato y colina, sustrato que será rápidamente recaptado por el terminal presináptico.³²

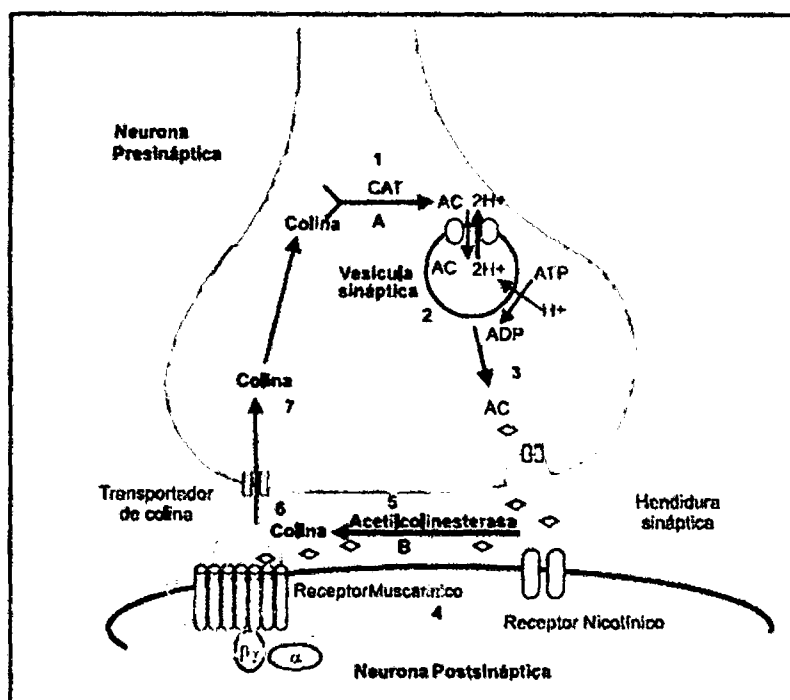


Figura 3. Sinapsis colinérgica.³³

Los receptores de acetilcolina (nicotínicos y muscarínicos) se encuentran ampliamente distribuidos en diversas áreas del SNC y en el SNP, en donde cada uno de ellos presenta un patrón de expresión temporal y espacial particular, los cuales pueden superponerse durante el desarrollo y son responsables de las diversas acciones fisiológicas de la acetilcolina.³² Los receptores muscarínicos

están presentes en diversos órganos y tejidos en la periferia (tejido cardiaco, músculo liso y glándulas exocrinas) y dentro del sistema nervioso central.³³

2.5.1. Acciones farmacológicas sobre el aparato gastrointestinal

Aumentan el tono, la actividad motora y secretora en todo el aparato. Activan en mayor grado las glándulas salivales y gástricas que las pancreáticas o las del intestino. Pueden producir espasmos gastrointestinales, generando una brusca aceleración del tránsito intestinal, con heces diarreicas y dolores tipo cólico; espasmos esofágicos, que pueden simular dolor anginoso.^{32,34}

2.6. Antagonistas colinérgicos

Los anticolinérgicos, fármacos capaces de bloquear la acción de la acetilcolina sobre sus efectores autónomos, pueden dividirse en antagonistas nicotínicos y muscarínicos.³²

La atropina y sus derivados, al bloquear de forma competitiva los receptores muscarínicos colinérgicos, impiden la acción de la acetilcolina sobre el músculo liso y las glándulas exocrinas, por lo que inhiben la secreción salival y ácida gástrica. Sobre la motilidad gastrointestinal, los anticolinérgicos producen una reducción significativa del tono muscular y de la frecuencia y amplitud de las contracciones, lo que se traduce en un enlentecimiento del tránsito intestinal. El efecto espasmolítico ha sido ampliamente utilizado en el tratamiento de procesos que cursan con aumento de la contractilidad muscular, como el intestino irritable.³²

2.7. Cólico

El cólico puede ser definido como la aparición de un dolor agudo, intenso y agotador en algunos casos, cuyo origen se encuentra en el aparato gastrointestinal.³⁵ Es un síntoma inespecífico que carece de marcadores biológicos que puedan determinar su valor y significado en las enfermedades gastrointestinales de carácter orgánico y funcional. Entre las opciones

terapéuticas para tratar el cólico intestinal, los antiespasmódicos suelen considerarse los fármacos de primera línea de tratamiento.²

2.8. Antiespasmódicos

Fármaco u otro tipo de agente que previene los espasmos de la musculatura lisa, como por ejemplo la del útero, el tubo digestivo o el aparato urinario.³⁶

Los antiespasmódicos son un grupo de agentes, que incluyen algunos compuestos de origen natural como los alcaloides de la especie vegetal *Atropa belladonna* (atropina, belladonna, hiosciamina, y escopolamina) o sus derivados sintéticos.³⁷ Aunque se conocen diversos mecanismos farmacológicos que explican el mecanismo de acción de los compuestos antiespasmódicos, el más común es la actividad como antagonista competitivo de la acetilcolina (antagonistas colinérgicos), y con ello impiden la despolarización de la célula muscular y su consiguiente contracción.¹⁶

También se utilizan otros anticolinérgicos con N cuaternario, con la pretensión de que actúen más selectivamente en los plexos ganglionares mientéricos: bromuro de butilescopolamina (solo o asociado), bromuro de metilescopolamina (asociado a clordiazepóxido), la dicioverina, el metilbromuro de octatropina, el otilonio y el pimaverio. La utilidad real de todos estos fármacos en el tratamiento de las alteraciones motoras digestivas (cólicos, espasmos o distonías) continúa siendo muy controvertida. Lo más frecuente, es que se encuentren en fórmulas asociadas a analgésicos para su utilización en dolores de tipo cólico, tanto digestivos como de otra localización. Los analgésicos empleados con mayor frecuencia son las pirazonas, metamizol o dipirona, que poseen también ligera actividad espasmolítica.³²

Se usa como espasmolíticos no anticolinérgicos, de acción directa sobre fibra muscular lisa, la papaverina, la mebeverina, la pramiverina y la trimebutina. Son fármacos que relajan la fibra muscular lisa de la pared gastrointestinal por un

mecanismo directo, es decir, no mediado por receptores de transmisores actualmente conocidos. Es posible que actúen intracelularmente, interfiriendo alguno de los procesos moleculares necesarios para producir la contracción muscular. Por ello, su actividad inhibitora es amplia, sea cual fuere el estímulo desencadenante de la contracción o espasmo, y por consiguiente más intensa que la de los fármacos estrictamente anticolinérgicos.³²

Las propiedades relajantes del músculo liso de los anticolinérgicos y otros fármacos antiespasmódicos pueden ser útiles en la dispepsia, el síndrome de colon irritable, y en la enfermedad diverticular.³⁸

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del lugar de estudio

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los Laboratorios del Área de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, distrito de Ayacucho, provincia Huamanga, departamento de Ayacucho, durante los meses de junio a noviembre de 2012.

3.2. Población y muestra

Población. Hojas de la especie *Satureja breviculix* Epling “wayra muña” del distrito de Quinua, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho; ubicada a 3 300 m.s.n.m.

Muestra. La muestra estuvo constituida por un kilogramo de hojas de *Satureja breviculix* Epling “wayra muña” recolectadas al azar, de las cuales se obtuvo el extracto clorofórmico. Una parte de la muestra fue utilizada para la identificación botánica por la Blga. Laura Aucasime del *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 1).

Material biológico. Se extrajo los ileones de 15 cobayos, con pesos comprendido entre 400 a 500 g, adquiridos en el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) – Ayacucho.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Preparación de la muestra

Se recolectó y seleccionó las hojas de *Satureja breviculix* Epling "wayra muña", éstas se secaron a temperatura ambiente en una habitación ventilada aproximadamente por una semana hasta la eliminación de la humedad. Luego se pulverizó la muestra (Anexo 5) y se pesó aproximadamente 500 g para realizar la extracción hidroalcohólica con cinco litros de etanol al 80%, en frascos de color ámbar por una semana, durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se filtró y se volvió a macerar la muestra con tres litros de etanol al 80% y se dejó por otra semana (realizando una doble extracción), se filtró y reunió los filtrados, obteniendo así la solución hidroalcohólica total; seguidamente se procedió a concentrar el extracto en un evaporador rotatorio BUCHI 3000 (Anexo 6). El extracto seco fue resuspendido en agua destilada, desengrasando con éter de petróleo utilizando un embudo de separación, luego se realizó la extracción con cloroformo (Anexo 7), realizándose tres lavados con éste, la fracción clorofórmica fue separada a un vaso de precipitado, luego se realizó la evaporación a sequedad, primero en el evaporador rotatorio y luego en una estufa a 40°C.

3.3.2. Ensayos fitoquímicos

Teniendo en cuenta reportes previos de identificación de metabolitos presentes en la especie en estudio⁴, se optó por confirmar la presencia de esteroides o terpenos y flavonoides mediante las pruebas de Cloruro Férrico, Shinoda y Liebermann – Burchard, en la fracción hidroalcohólica y clorofórmica (Anexo 8), siguiendo el modelo de Miranda y Cuellar.³⁹

3.3.2. Cromatografía en Capa Fina (CCF)

Se realizó la siembra de la fracción clorofórmica según las siguientes condiciones (Anexos 9 y 10):

Fase estacionaria: Placa cromatográfica 20 x 20 conteniendo Silicagel G 254 (Merck)

Fase Móvil: Hexano: acetato de etilo: ácido acético glacial (65:35:0,5)

Revelador: Reactivo de Liebermann – Burchard, vainillina ácido sulfúrico y Luz Ultravioleta (UV).

Luego del revelado de la placa cromatográfica, ésta se llevó a calentar en una estufa a 110°C por 10 min, posteriormente se evaluó las placas al visible y en la cámara UV a 365 nm.⁴⁰ (Figuras 4 y 5).

3.3.4. Determinación de la actividad antiespasmódica

La actividad antiespasmódica se evaluó siguiendo el método de Magnus modificado citado por Gonzales¹, que consiste en la inducción de espasmos en fracciones de íleon aislado, conservados en el medio nutricio Tyrode, con acetilcolina y evaluación del efecto antiespasmódico con la sustancia problema, utilizando como patrón de referencia atropina.

Materiales

- Acetilcolina, se preparó en agua destilada a una concentración de $2 \times 10^{-1} M$.
- Doce ampollas de atropina de 1 mg/ml (Wuxi N° 7 Pharmaceutical).
- Extracto clorofórmico a diferentes concentraciones: 3%, 6% y 12%, que se prepararon con medio nutricio de Tyrode y adicionando gotas de carboximetilcelulosa (CMC) 0,1%.

Procedimiento. Se suspendió la alimentación de los animales con 24 horas de anticipación siendo mantenidas con agua a voluntad. Para iniciar el trabajo se

encendió y calibró el quimógrafo automatizado Panlab Harvad, luego se sacrificó a los cobayos por dislocación cervical, se abrió la cavidad abdominal y se extrajo el íleon que fue sumergido de inmediato en la solución nutritiva Tyrode a 37°C, se lavó cuidadosamente (Anexo 11) y luego se cortó en segmentos de dos centímetros, los cuales fueron fijados con seda quirúrgica, por un extremo a un transductor y por el otro a la cámara para órgano aislado, con 25 ml de solución Tyrode, burbujeo constante y a 37°C (Anexo 12).

Se encendió el software y a los cuatro minutos se adicionó 0,5 ml de acetilcolina $2 \times 10^{-1}M$ y se dejó en observación por 25 min (Grupo I) (Anexo 19). Para el caso de los Grupos II, III IV y V, se hizo un registro control durante cuatro minutos y después se agregó 0,5 ml de acetilcolina al baño que permaneció en contacto con el íleon durante cinco minutos aproximadamente, luego se adicionó 0,5 ml de atropina, extracto al 3%, 6% y 12% respectivamente para cada grupo y se dejó en observación durante 20 min más. Todos los cambios y movimientos fueron captados por un transductor y registrados en la computadora (Anexos 20 al 23).

Para cada uno de los grupos se utilizaron tejidos recién obtenidos y se acondicionaron aproximadamente por 10 min. Se realizaron cinco repeticiones por grupo, la dosis óptima de acetilcolina y de atropina se determinaron en experiencias previas.

3.3.5. Diseño experimental

Las diferentes concentraciones del extracto clorofórmico fueron sometidas a la evaluación del efecto antiespasmódico. Los animales de experimentación se dividieron utilizando un diseño completamente aleatorizado en cinco grupos y se realizaron cinco repeticiones por grupo; procediéndose de la siguiente manera:

	Acetilcolina $2 \times 10^{-1}M$ 0,5 ml	Atropina 1 mg/ml 0,5 ml	Extracto Clorofórmico 3 % 0,5 ml	Extracto Clorofórmico 6% 0,5 ml	Extracto Clorofórmico 12% 0,5 ml
Grupo I	X				
Grupo II	X	X			
Grupo III	X		X		
Grupo IV	X			X	
Grupo V	X				X

3.3.6. Análisis de datos

Se determinó el promedio de las diferencias de tensión generada entre las normales y las generadas con acetilcolina, atropina y extracto clorofórmico (3%, 6% y 12%). También se calculó el promedio y los valores de dispersión del número de las contracciones y las alturas alcanzadas (mm) por éstas para cada uno de los tratamientos. Los resultados se presentaron comparativamente en cuadros y gráficos estadísticos y fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95%. Se evaluó la existencia de diferencias estadísticamente significativas con la prueba de Tukey.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios del extracto clorofórmico.

Metabolito Secundario	Reacción	Extracto clorofórmico	
		Resultado	Observación
Terpenos	Liebermann – Burchard	++	Verde
Flavonoides	Shinoda	+	Rosado
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	++	Verde

Leyenda:

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



Figura 4. Cromatografía en capa fina del extracto clorofórmico; vainillina ácido sulfúrico (A) y el reactivo de Liebermann – Burchard (B), a la luz visible.

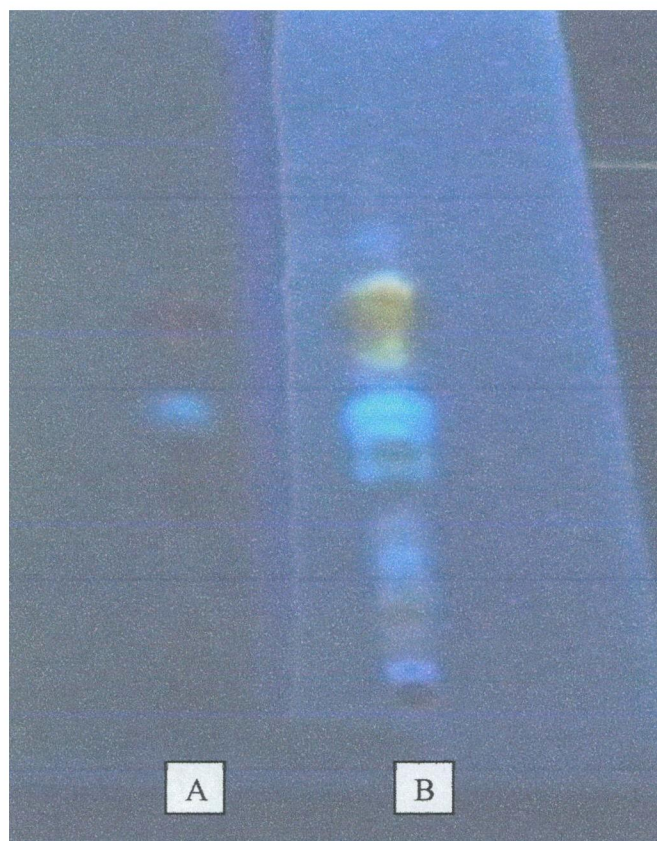
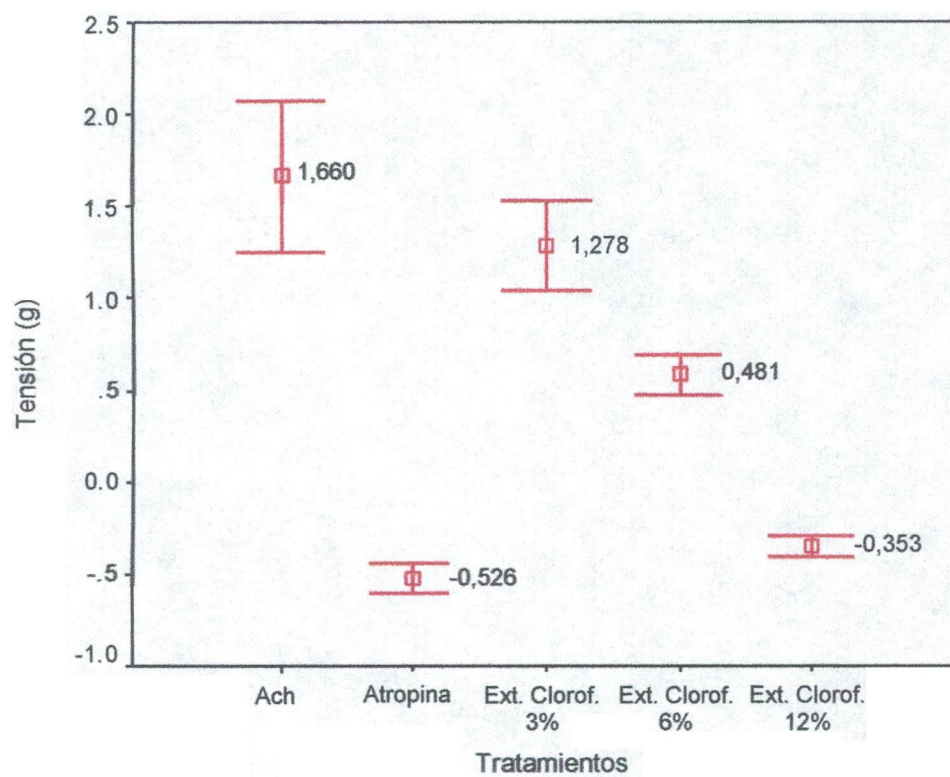


Figura 5. Cromatografía en capa fina del extracto clorofórmico; vainillina ácido sulfúrico (A) y el reactivo de Liebermann – Burchard (B), a la luz ultravioleta.

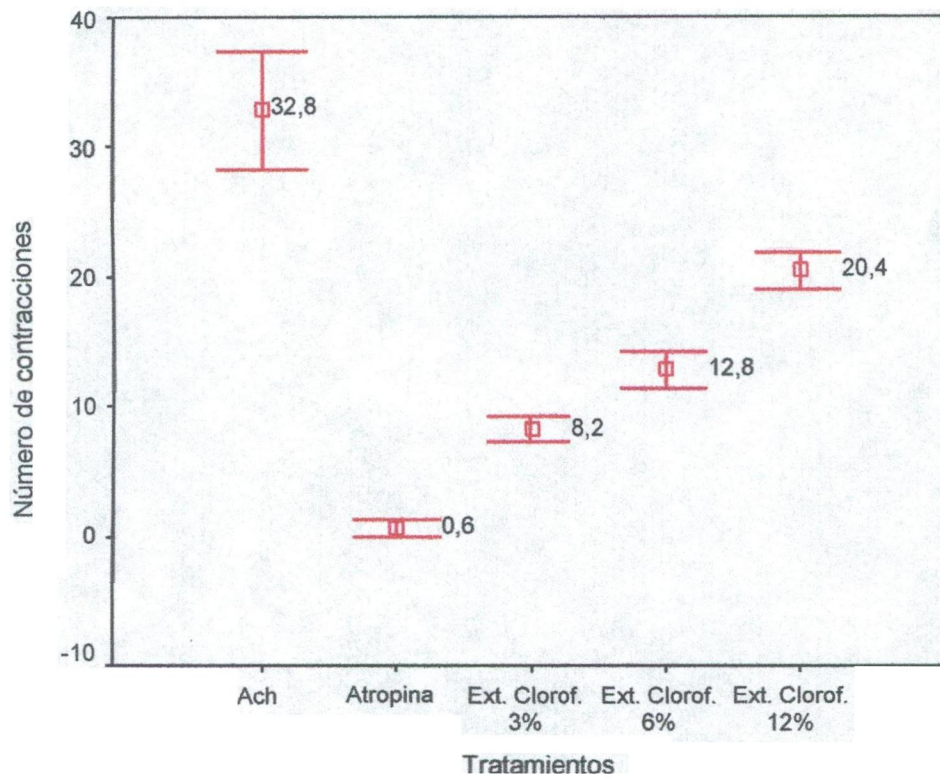


Leyenda:

Ach : acetilcolina

Ext. Clorof. : extracto clorofórmico

Figura 6. Tensión (g) de la contracción del íleon según tratamientos.

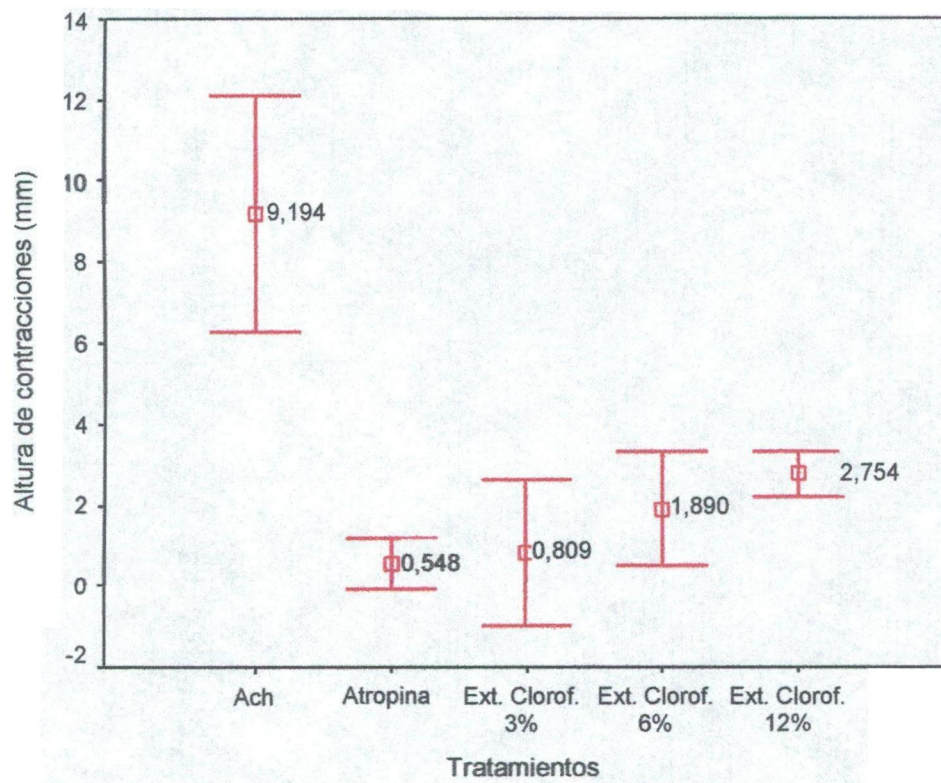


Leyenda:

Ach : acetilcolina

Ext. Clorof. : extracto clorofómicc

Figura 7. Número de contracciones del íleon según tratamientos.



Leyenda:

Ach : acetilcolina

Ext. Clorof. : extracto clorofórmico

Figura 8. Altura de contrações del íleon según tratamientos.

V. DISCUSIÓN

Con la finalidad de evaluar el efecto antiespasmódico de la fracción clorofórmica de la *Satureja breviculix* Epling objeto del presente estudio, se procedió a realizar una extracción primero con etanol 80% luego con éter de petróleo, para eliminar las grasas y finalmente con cloroformo (Anexo 2 y 3).

La extracción con etanol al 80% se hizo teniendo en cuenta que los compuestos con esta actividad son generalmente terpenos y flavonoides³, que son más solubles en solventes de menor polaridad como alcohol, éter, cloroformo, benceno, bencina de petróleo, etc.⁴¹ Para el aislamiento de terpenos superiores (di y triterpenos) es aconsejable desengrasar previamente el material biológico y sobre la fracción de "grasas" comprobar la ausencia de terpenoides antes de desecharla,⁴² en el presente trabajo no se realizó la verificación de terpenoides en la fracción de éter de petróleo, debido a que nuestro objetivo está enfocado en el estudio de la fracción clorofórmica.

A los extractos obtenidos se realizaron las pruebas de Liebermann – Burchard, Shinoda y de cloruro férrico (Tabla 1), con la finalidad de confirmar la presencia de terpenos, observándose coloraciones positivas en los tres ensayos, tanto en el extracto hidroalcohólico como en el clorofórmico, con pocas diferencias en la intensidad de coloración lo que indica que la fracción clorofórmica no solo contiene terpenos sino también flavonoides y compuestos fenólicos. La reacción

de Liebermann – Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, produciendo coloraciones azul a azul verdoso y rojo, rosado o púrpura respectivamente³⁹; en el presente trabajo se pudo observar una coloración azul verdosa en el extracto hidroalcohólico; es decir que existen estructuras esteroidales, confirmando lo descrito por Soto⁵; mientras que la fracción clorofórmica tiende a una coloración rojiza, lo que nos podría indicar la presencia de estructuras triterpenoides.³⁹

Por otra parte en la cromatografía en capa fina (Figura 4) se observó coloraciones similares a las obtenidas con anisaldehído – ácido sulfúrico, con mayor intensidad en la corrida revelada con vainillina ácido sulfúrico (A), observándose manchas violáceas, lo que indica que podría tratarse de esteroides, esteroides y glicósidos triterpénicos⁴⁰, mientras que al evaluarlas a la luz ultravioleta (365 nm) (Figura 5) se observa manchas fluorescentes, siendo más notorias e intensas en la corrida revelada con el reactivo Liebermann – Burchard (B) observándose cinco manchas fluorescentes en esta corrida y solo una en la primera (A), pudiéndose tratar de terpenoides, derivados de fenilpropano o posiblemente fenoles.⁴⁰

Berardi evidenció mediante ensayos cromatográficos (CCF) la presencia del monoterpeno α -carvona, usando como fase móvil tolueno/acetato de etilo y revelador anisaldehído sulfúrico y calor 100°C por cinco minutos; luego evaluó las placas en una cámara UV, a 254 nm observando bandas violáceas y a 366 nm bandas de fluorescencia celeste muy similares al patrón de referencia.¹⁴ Las coloraciones observadas en estas placas cromatográficas son muy parecidas a las que observamos en el presente trabajo (Figuras 4 y 5), lo que confirma la presencia de sustancias de naturaleza terpénica en el extracto clorofórmico. En estudios previos, Carhuapoma identificó la composición química del aceite esencial de *Satureja breviculix* Epling donde destacan los monoterpenos y otras

sustancias terpénicas como la pulegona (27,2%), linalol (20,3%), mentona (11,1%), isomentona (8,3%), cisisopulegona (2,7%), trans-isopulegona (0,9%), α -carvacrol (0,6%), timol (0,6%) y α -terpineol (0,5%); y en menor porcentaje el β -bicyclogermacreno, β -cariofileno, p-cimeno, limoneno, γ -terpineno y espatulenol.²¹ En la placa cromatográfica (Figuras 4 y 5) observamos varias manchas tanto a la luz visible como a la luz ultravioleta por lo que nos atreveríamos a afirmar que muchos de los compuestos identificados en su aceite esencial se encuentran presentes en el extracto clorofórmico.

Las plantas medicinales con aceites esenciales, son muy usadas para el tratamiento de los cólicos, porque en su composición química presentan generalmente monoterpenos, sesquiterpenos y terpenos funcionalizados con función alcohol, fenol entre otros.²⁷ Los anisetes cuyo principio activo, el anetol, tiene propiedades carminativas; la manzanilla, cuyo aceite esencial contiene abundante α -bisabolol; menta, que contiene mentona, cineol, α -pineno, limoneno; y otras como la melisa, hinojo, regaliz, orégano, hierba buena, romero, ruda, salvia, tomillo, etc.^{14,26,27} son especies con efecto antiespasmódico comprobado.

El ensayo farmacológico se realiza teniendo en cuenta que los segmentos aislados de intestino de cualquier especie animal menor mantiene la función de contracción y relajación durante horas incluso a temperatura ambiente, a condición de mantenerlos inmersos en solución adecuada.¹⁶ Por tales razones, las fracciones del órgano aislado se mantuvieron todo el tiempo inmersos en la solución Tyrode a 37°C además se mantuvieron con oxigenación constante en todo momento desde que fueron aislados.

Los resultados se observan en la computadora gracias a que la contracción y relajación del órgano aislado modifica la tensión mecánica que ejerce, la que es

convertida en señal eléctrica mediante un transductor de tensión, esta señal es amplificada y registrada para cuantificar los cambios en la tensión.

En la Figura 6, se observó que el extracto clorofórmico a la concentración de 12% redujo a -0,353 g la tensión generada por la acetilcolina presentando un efecto similar al patrón de referencia, atropina (-0,526 g), a diferencia de las que presentaron las concentraciones al 3% y 6%, que redujeron la tensión a 1,278 y 0,481 g respectivamente. Se estableció así una relación dosis – respuesta, puesto que a mayor dosis se obtuvo una mayor disminución de la tensión generada. La prueba de Tukey (Anexo 14) corrobora lo mencionado, donde el extracto clorofórmico al 12% y la atropina poseen el mismo efecto farmacológico con respecto al grado de tensión.

Lo contrario ocurre con el número de contracciones y las alturas alcanzadas que presentaron menor número de contracciones y alturas (mm) a concentraciones de 3% y 6%. Como se muestra en la Figura 7, con la atropina presenta el menor número de contracciones con 0,6 en promedio seguida del extracto clorofórmico al 3% con 8,2 y de las concentraciones de 6% y 12% con 12,8 y 20,4 respectivamente. La prueba de Tukey (Anexo 16) demuestra que ninguna de las concentraciones del extracto clorofórmico se asemeja estadísticamente al estándar (atropina).

En la Figura 8, se observa que las alturas alcanzadas por las contracciones son más pequeñas en los tratamientos con atropina (0,55 mm) y las concentraciones al 3%, 6% y 12%, que muestran alturas de 0,81; 1,89 y 2,75 mm respectivamente, a comparación de la tratada solo con acetilcolina que alcanzó una altura de 9,19 mm. En este caso, la prueba de Tukey (Anexo 18) muestra que la atropina y las tres concentraciones del extracto clorofórmico tienen respuestas estadísticamente semejantes.

El análisis de varianza del grado de tensión, el número y altura de las contracciones (Anexos 13, 15 y 17) muestran que existen diferencias significativas en los diferentes tratamientos, mostrando que las tres concentraciones trabajadas tienen efecto antiespasmódico.

Espinoza determinó el efecto de *Melissa officinalis* L. y reportó que el extracto acuoso presentó mejor efecto antiespasmódico que el metanólico generando una disminución de la contracción en 64.66% y 49.85% respectivamente, mejores que la atropina que solo tuvo 42,58% de efecto.¹⁰ En el presente trabajo el mejor efecto lo presentó la atropina como se observa en las Figuras 6, 7 y 8; al igual que en el estudio realizado por Yuncacallo, con *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl., donde la atropina inhibe por completo la respuesta contráctil de la acetilcolina y el extracto hidroalcohólico lo hace en un 85%, mientras que el extracto acuoso no presentó efecto.⁹ Esto nos permite corroborar lo ya mencionado, que los metabolitos secundarios responsables de este efecto se encuentran en mayor cantidad en solventes de menor polaridad. También determinaron la presencia de estos compuestos en el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii*, atribuyéndole el efecto antiespasmódico principalmente a los triterpenos.⁹

Alba *et al.*² observaron que algunas sustancias compartidas por el hinojo y la albahaca tenían efecto sobre el músculo liso, como el linalol, que parece tener un efecto espasmolítico claro mediado por AMPc sobre el íleon de cobayo y el útero de rata; el cineol es capaz de disminuir la contracción del músculo liso de la tráquea del cobayo, al igual que el eugenol y el metileugenol, parece ser el responsable del efecto relajante de la albahaca sobre el íleon aislado de cobayo; el alfa pineno también mostró un descenso significativo del tono basal en íleon del cobayo precontraído previamente con KCl y acetilcolina.

También podemos mencionar a las especies *Thymus vulgaris* L. y *Thymus zygis* L. cuyo efecto antiespasmódico se debe al timol y al carvacrol del aceite esencial, que se cree tienen la capacidad de inhibir la disponibilidad del calcio, con lo que podrían bloquear la conducción nerviosa.⁴³ La actividad de los terpenos podría deberse a la liposolubilidad que presenta el intestino, haciendo que estos atraviesen con facilidad las membranas y puedan ejercer su acción.

Los flavonoides presentes también cumplen un papel importante como antiespasmódicos, porque tienen comprobada actividad como relajante del músculo liso, inhibiendo el influjo de Ca^{+2} , disminuyen el tono del íleon aislado de cobayo, además antagonizan las contracciones inducidas en preparaciones de órgano aislado intestinal por varios agentes, entre ellos prostaglandinas E_2 , $BaCl_2$ y acetilcolina.³

En estudios previos Diez demostró una ligera actividad antiespasmódica de la infusión de *S. brevicalex* Epl., frente al N-butilbromuro de hioscina¹³; esto podría deberse al medio usado para la extracción de principios activos responsables de esta actividad, así como Berardi observó en otras especies donde los extractos metanólicos y hexánicos tuvieron mejores respuestas antiespasmódicas frente al extracto acuoso.¹⁴ Además Gonzales encontró que los flavonoides aislados de las hojas de *S. brevicalex* Epl. tenían un efecto antiespasmódico similar al del estándar¹, que se corroboran en el presente trabajo, donde las diferentes concentraciones del extracto clorofórmico manifestaron tener efecto antiespasmódico en diferente grado, siendo la concentración al 12% la que presenta un efecto similar al de la atropina, pero con un inconveniente, que este efecto es temporal, ya que con el tiempo se observa incremento del número y altura de las contracciones, que podría deberse a que no presenta mucha afinidad a los receptores muscarínicos y es desplazado por la acetilcolina.

La presencia de un nitrógeno cuaternario o terciario permite a la acetilcolina fijarse al grupo aniónico de su receptor, además la fijación al grupo esterofílico se realiza por uniones dipolo del enlace éster. La atropina en su estructura química presenta nitrógeno y un puente éster por ello se comporta como antagonista competitivo de la acetilcolina y otros estimulantes muscarínicos.³⁴

No podría descartarse que tengan otro mecanismo de acción por el cual ejerce su acción y que por ello presente reacciones tan contradictorias, como por ejemplo un antagonismo no competitivo con la acetilcolina como lo observó Berardi con los extractos acuosos y las tinturas de las especies de *Aloysia spp*, que al parecer no bloquean el receptor muscarínico en el que actúa la acetilcolina, sino que interfieren en otro sitio correspondiente a la cascada intracelular que se desencadena por activación de dicho receptor.¹⁴ Alba *et al.*² usaron KCl como inductor de las contracciones, encontraron que las contracciones mediadas por canales dependientes del voltaje, actúan sobre canales iónicos que modifican la polaridad de la membrana o alteran la función de los componentes intracelulares implicados en la contracción del músculo liso intestinal.

Finalmente podemos afirmar que el extracto clorofórmico de las hojas de *Satureja breviculix* Epling tiene efecto antiespasmódico, siendo la concentración al 12% la que presenta un efecto similar al de la atropina; considerando que se incrementa las contracciones con el tiempo.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto clorofórmico de las hojas de *Satureja brevicalex* Epling "wayra muña" tiene efecto antiespasmódico, por disminuir la tensión, número y altura de las contracciones generadas tras la aplicación de acetilcolina.
2. El extracto clorofórmico de las hojas de *Satureja brevicalex* Epling "wayra muña" tiene efecto antiespasmódico similar a la atropina con respecto al grado de tensión y las alturas alcanzadas por las contracciones; pero diferente con respecto al número de contracciones generadas tras la aplicación de acetilcolina.
3. El extracto clorofórmico de *Satureja brevicalex* Epling "wayra muña" al 12% presenta mayor efecto antiespasmódico.

VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar y elucidar las estructuras de los terpenos presentes en *Satureja breviculix* Epling "wayra muña".
2. Trabajar con concentraciones más elevadas para evaluar si el efecto antiespasmódico es más estable.
3. Evaluar el posible mecanismo de acción.
4. Realizar estudios de toxicidad de las hojas de *Satureja breviculix* Epling "wayra muña".
5. Elaborar formulaciones farmacéuticas (cápsulas, tabletas) para su empleo como antiespasmódicos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gonzales AG. Actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalex* Epl. "wayra muña" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2011.
2. Alba RC, Camacho R, Polanco M, Gómez S. Efecto relajante de las hojas de *Ocimum basilicum* y *Foeniculum vulgare* colombianas en ileon aislado de rata. Univ. Med. Bogotá [revista en internet] enero – marzo 2009. [acceso en noviembre de 2012]; 50 (1). Disponible en: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v50n1/pdf/Efecto%20relajante.pdf>
3. Astudillo VA, Mata R, Navarrete A. El reino vegetal, fuentes de agentes antiespasmódicos gastrointestinales y antidiarreicos. Rev. Latinoamer. Quim. [revista en internet] abril 2009. [acceso en junio 2012]; 37(1). Disponible en: <http://www.relaquim.com/archive/2009/p2009371-7.pdf>
4. García M, Martínez T, Morón R. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. REV CUBANA PLANT MED [revista en internet] enero - abril 2001. [acceso en julio de 2012]; 6(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962001000100005&script=sci_arttext
5. Soto M. Estudio fitoquímico y determinación de la actividad analgésica en diferentes extractos de la *Satureja brevicalex* Epl. "wayra muña" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 1999.
6. Aguilar FE. Actividad antioxidante y antiinflamatoria de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalex* Epl. "wayra muña" [Informe de investigación]. Ayacucho: Instituto de investigación de Ciencias Biológicas. UNSCH; 2010.
7. Arias R, Toma Z, Aguilar F, Ramírez R, Shimabuku A, Suárez C. Neuroprotección del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalex* Epl. "wayra muña" en un modelo animal de hiperoxia e hipoxia isquemia. An. Fac. Med. [revista en internet] julio – setiembre 2012. [acceso en noviembre de 2012]; 73(3). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832012000300008&script=sci_arttext
8. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R, Paz E, Ananya N, Callalli M, Pallqui N, Coasaca H. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco. Rev. Perú. Biol. [revista en internet] diciembre 2011. [acceso noviembre de 2012] 18(3): 283 – 291. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v18n3/pdf/a04v18n3.pdf>
9. Yuncacallo HL. Efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pampa salvia" en el ileon aislado de "cuy" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2005.
10. Espinoza CP. Efecto antiespasmódico de los extractos de *Melissa officinalis* L. "toronjil" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2004.
11. Sosa PK. Efecto antiespasmódico de la infusión de *Rosmarinus officinalis* L. "romero" en ileon aislado de cobayo [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2004.
12. Malpartida GK. Evaluación del efecto antiespasmódico del extracto fluido de las hojas de *Foeniculum vulgare* Will. "hinojo" en ileon aislado de cuy [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2006.
13. Díez MJ. Efecto antiespasmódico de la *Satureja brevicalex* Epl. "wayra muña" sobre ileo aislado de rata [Instituto de Investigación]. Ayacucho: Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH; 2002.

14. Berardi A. Etnofarmacología gastrointestinal de plantas medicinales argentinas del género *Aloysia*, familia Verbenaceae: mecanismos de acción y relación con los principios activos [Tesis de maestría]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2012.
15. Ruiz SA, De la Paz NJ, García MA, Sebazco PC, Carrazana LA, Pereira RE. Actividad espasmolítica de una tintura de *Melissa officinalis* L. en modelos experimentales. Rev Cubana Plant Med. [revista en internet] 2004. [acceso noviembre de 2012]; 9(3). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9_3_04/pla03304.htm
16. Serrano, L. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de ileon de cobayo [Tesis doctoral]. España: Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2005.
17. Vargas SR, Pérez GR y Figueroa TG. Efecto de la actividad antiespasmódica del extracto metanólico, del alga *Oedogonium capillare* (Linn) Kuetz sobre ileon de rata Wistar. Rev. Salud Pública y Nutrición [revista en internet] abril – junio 2011. [acceso octubre 2012]; 12(2). Disponible en: <http://www.respyn.uanl.mx/xii/2/articulos/Actividadnuevaantiespasmodica.htm>
18. Chumacero A. Iparraguirre D, Riofrio O, Salas E. El género *Satureja* (Lamiaceae) en la etnomedicina andina. Lima: Facultad de Biología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1996.
19. Carhuapoma YM. Taxonomía de las plantas medicinales Aromáticas Nativas de la Provincia de Huamanga y sus Perspectivas Económicas [Tesis de pregrado]. UNSCH. Ayacucho; 2002.
20. Mostaceros J; Mejía F. Taxonomía de Fanerógamas Peruanas. Lima: CONCYTEC; 2002.
21. Carhuapoma YM. Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling "urqu muña" [Tesis doctoral]. Lima: UNMSM; 2007.
22. Palomino R. Efecto antioxidante del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2005.
23. Mendoza J. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" en ratas [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2007.
24. Pariona PY. Actividad hepatoprotectora de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" en ratas albinas [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2010.
25. León GL. Actividad antioxidante de los ácidos fenólicos aislados de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling [Tesis de pregrado]. Ayacucho: UNSCH; 2012.
26. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica. Terpenos y esteroides. 2ªed. España: Editorial Acribia; 2001.
27. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Edit. Omega; 2003.
28. Ávalos GA. Metabolismo secundario de plantas. Madrid: Reduca [revista en internet] 2009 [acceso junio 2012]; 2 (3). Disponible en: http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
29. Rosellón A. Nuevas estrategias sintéticas hacia triterpenos irregulares y cromano derivados [Tesis doctoral]. Granada: Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Orgánica; 2005.
30. Berne R, Levy M. Fisiología. Madrid. Mosby/Doyma; 1995.

31. Almagia A, Lizana P. Anatomía del aparato digestivo, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Ciencias – Instituto de Biología. Chile; 2009. Disponible en:
http://biblioceop.files.wordpress.com/2011/02/digestivo_morfo2009-externo.pdf
32. Flores J. Farmacología humana 3ª ed. Barcelona: Editorial Masson S.A.; 1997.
33. Flores SM, Segura TJ. Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. Rev. Mex. Neuroci. [revista en internet] 2005. [acceso mayo 2013]; 6(4). Disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/revmexneu/rmn-2005/rmn054f.pdf>
34. Velasco Martín A, Lorenzo Fernández P, Serrano Molina J, Andrés-Trelles F. Velázquez Farmacología. 16ª ed. España: McGraw-Hill – Interamericana de España; 1993.
35. Calvo RC. Aspectos actuales en nutrición infantil. La prevención y el tratamiento del cólico del lactante. BOL. PEDIATR. [revista en internet] 2010 [acceso mayo 2013]; 50(213). Disponible en:
http://www.sccalp.org/documents/0000/1634/BolPediatr2010_50_197-202.pdf
36. Diccionario Mosby. Ediciones Harcourt S.A.; 2000.
37. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman GA. Goodman&Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 2003.
38. OMS. 2004, Fármacos en patología gastrointestinal. Antiespasmódicos. [sede Web]. who.int/es/; 2013- [actualizada el 3 de mayo de 2013; acceso 5 de junio de 2013]. Disponible en:
<http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/21.5.htm#Js5422s.21.5>
39. Miranda MM, Cuellar CA. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Habana: Instituto de farmacia y alimentos; 2000.
40. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
41. Remington Farmacia. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 2003.
42. Marcano D, Hasagawa M. Fitoquímica orgánica. Caracas: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela; 1991.
43. López LT. Tomillo. Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. Revista de fitoterapia [revista en internet] enero 2006. [acceso noviembre de 2012]; 25(1). Disponible en:
http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13083626&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v25n01a13083626pdf001.pdf&ty=74&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 2. Certificado de identificación botánica.



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

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. **Cyndy Cristal, PALOMINO MEDINA**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de CRONQUIST. A. (1988), y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	LAMIALES
FAMILIA	:	LAMIACEAE
GENERO	:	Satureja
ESPECIE	:	Satureja brevicalex Epling
Nombre vulgar.	:	"inca muña", "wayra muña"

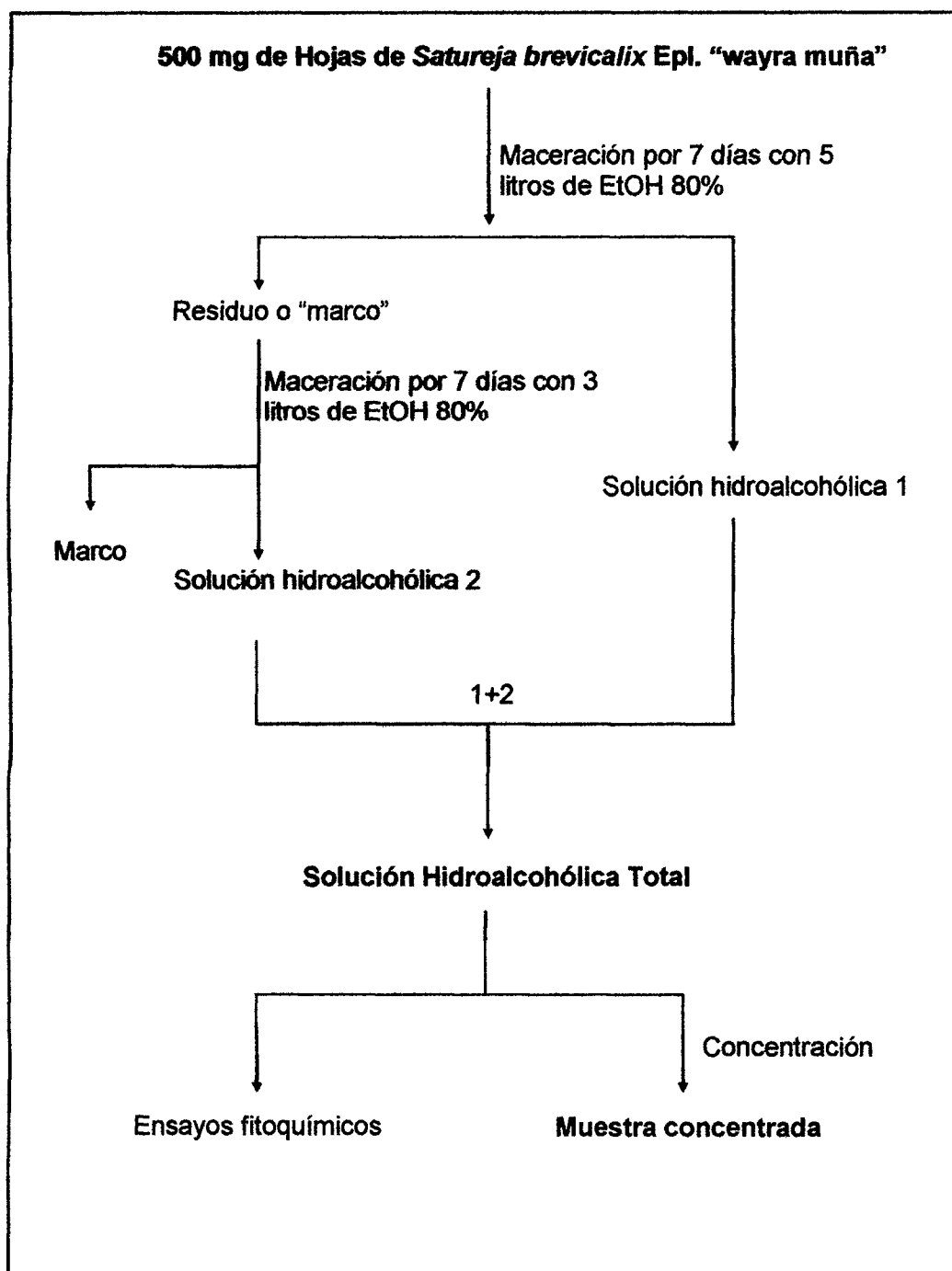
Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 12 de Julio del 2012

Dra. Laura Mercedes Medina

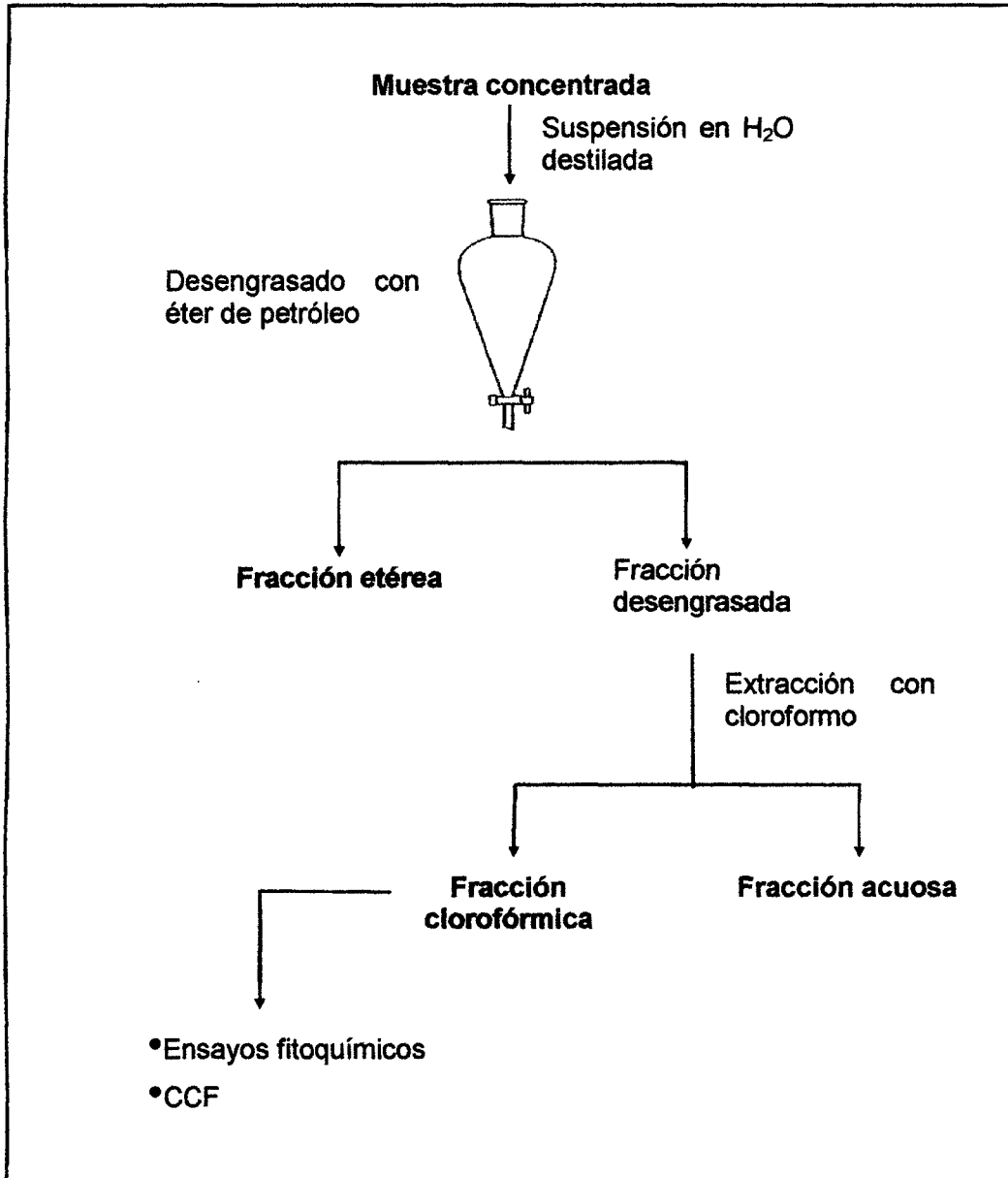
Anexo 2

Tabla 3. Flujoograma de obtención del extracto hidroalcohólico.



Anexo 3

Tabla 4. Flujo de obtención del extracto clorofórmico.



Anexo 4

Tabla 5. Composición del medio nutritivo Tyrode.⁸

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

Anexo 5

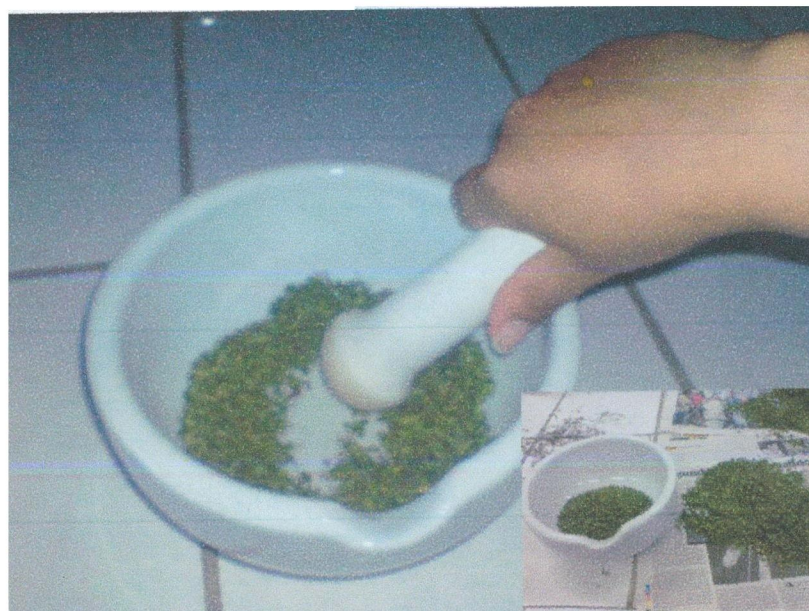


Figura 9. Pulverización de las hojas.

Anexo 6

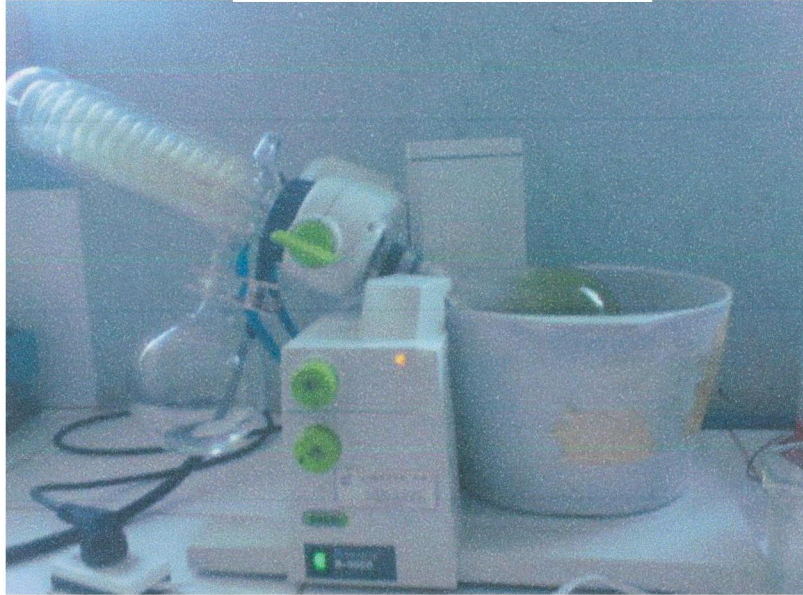


Figura 10. Equipo de evaporador rotatorio BUCHI 3000.

Anexo 7

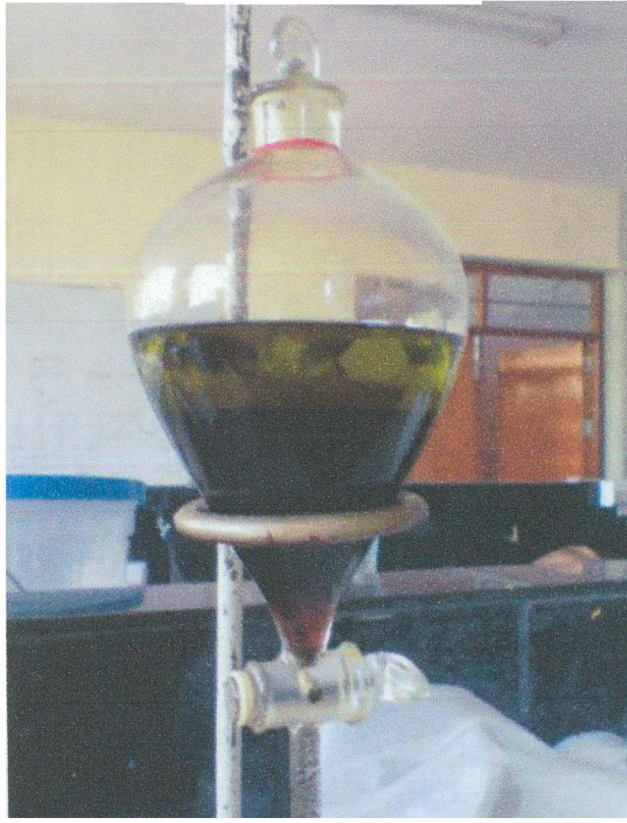


Figura 11. Pera de bromo para separación por fases.

Anexo 8

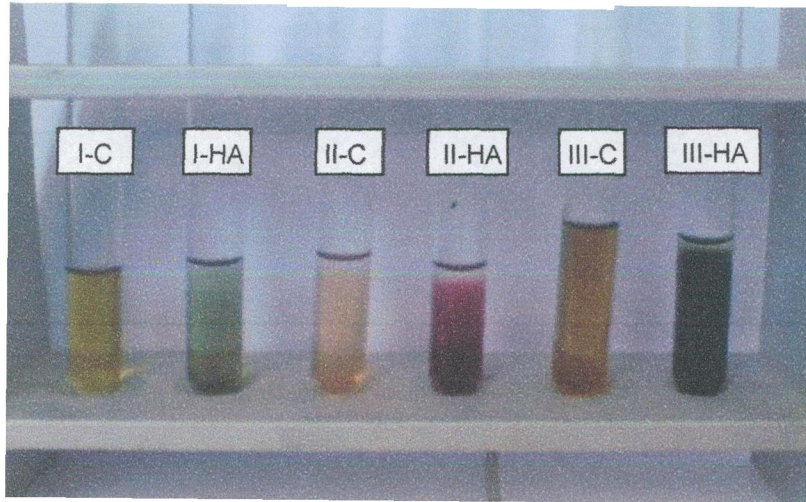


Figura 12. Tubos de prueba con reacciones de coloración; Liebermann – Burchard (I), Shinoda (II), cloruro férrico (III); fracción clorofórmica (C) e hidroalcohólica (HA).

Anexo 9

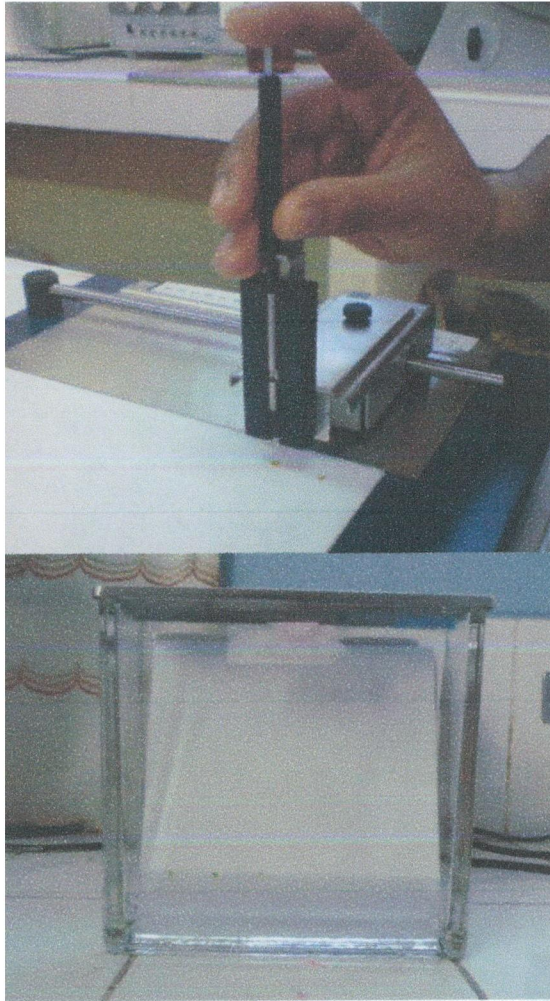


Figura 13. Sembrado y desarrollo de la cromatografía de capa fina.

Anexo 10



Figura 14. Quimógrafo automatizado Panlab Harvard.

Anexo 11



Figura 15. Lavado del íleon aislado de cobayo.

Anexo 12

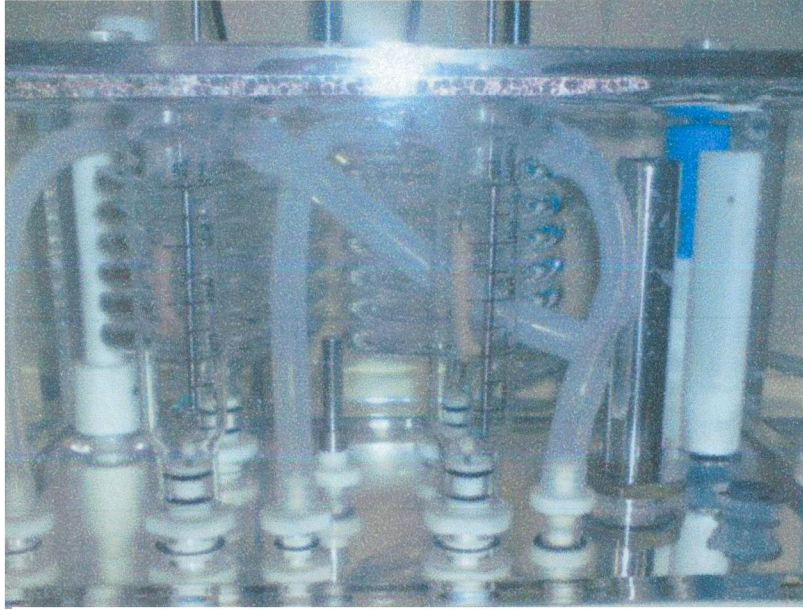


Figura 16. Baño de órganos aislados.

Anexo 13

Tabla 6. Análisis de varianza de la tensión (g) de la contracción del íleon.

		Suma de		Media		
		Cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Tensión (g)	Inter-grupos	18,738	4	4,685	146,344	,000
	Intra-grupos	,640	20	3,201 E-02		
	Total	19,379	24			

Anexo 14

Tabla 7. Prueba de Tukey de la tensión (g) de la contracción del íleon.

HSD de Tukey^a

Tratamientos	N	Subset for alpha = ,05			
		1	2	3	4
Atropina	5	-,5260			
12%	5	-,3531			
6%	5		,5820		
3%	5			1,2872	
Ach	5				1,6599
Sig.		,558	1,000	1,000	1,000

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000

Anexo 15

Tabla 8. Análisis de varianza del número de contracciones.

		Suma de		Media		
		Cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Número de contracciones	Inter-grupos	3022,160	4	755,540	219,634	,000
	Intra-grupos	68,800	20	3,440		
	Total	3090,960	24			

Anexo 16

Tabla 9. Prueba de Tukey del número de contracciones.

HSD de Tukey^a

Tratamientos	N	Subset for alpha = ,05				
		1	2	3	4	5
Atropina	5	,6000				
3%	5		8,2000			
6%	5			12,8000		
12%	5				20,4000	
Ach	5					32,8000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000

Anexo 17

Tabla 10. Análisis de varianza de la altura de las contracciones.

		Suma de		Media		
		Cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Altura de las contracciones (mm)	Inter-grupos	252,350	4	63,087	33,846	,000
	Intra-grupos	37,279	20	1,864		
	Total	289,629	24			

Anexo 18

Tabla 11. Prueba de Tukey de la altura de las contracciones.

HSD de Tukey^a

Tratamientos	N	Subset for alpha = ,05	
		1	2
Atropina	5	,5480	
3%	5	,8087	
6%	5	1,8896	
12%	5	2,7540	
Ach	5		9,1943
Sig.		,118	1,000

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000

Anexo 19

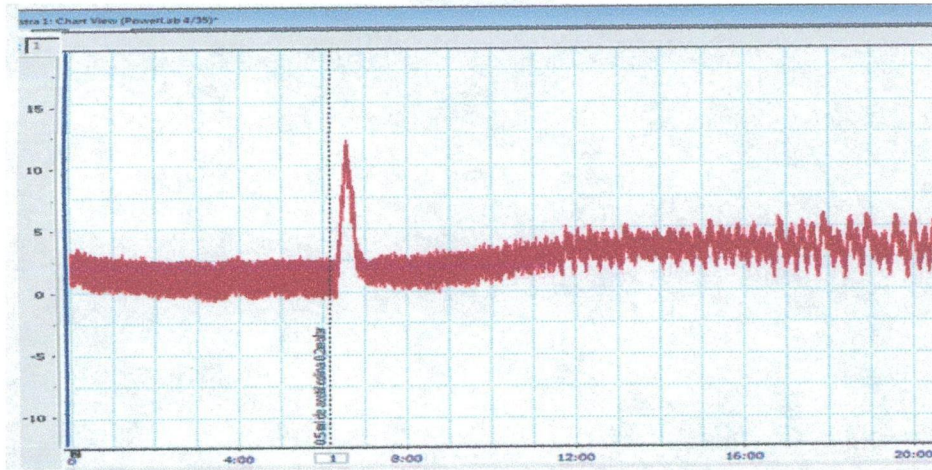


Figura 17. Respuesta gráfica del íleon con aplicación de acetilcolina.

Anexo 20

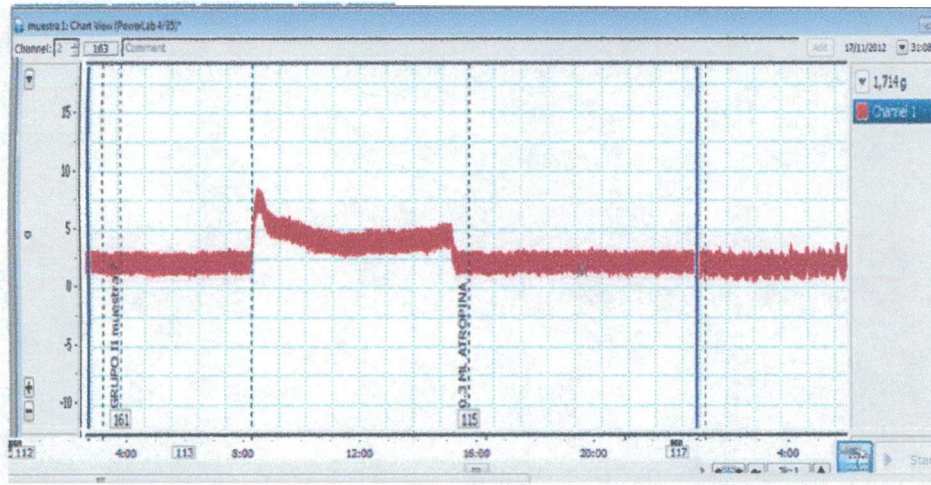


Figura 18. Respuesta gráfica del íleon con aplicación de acetilcolina y atropina.

Anexo 21

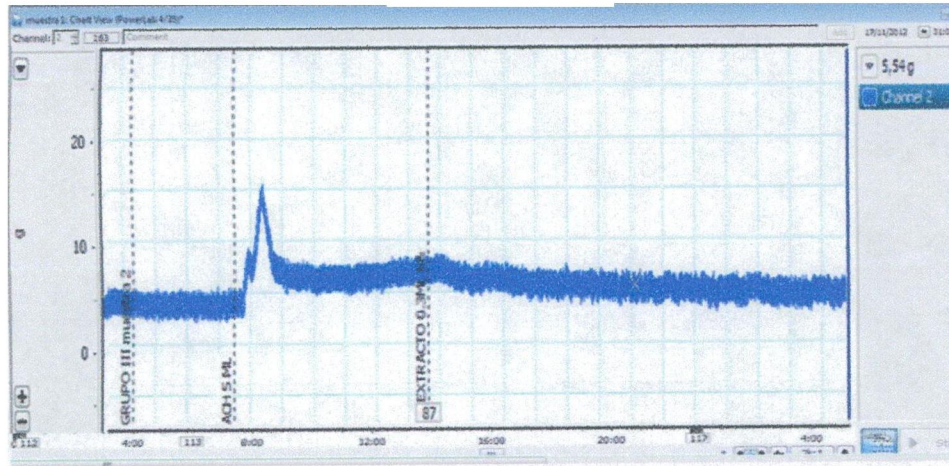


Figura 19. Respuesta gráfica del ileon con aplicación de acetilcolina y extracto clorofórmico al 3%.

Anexo 22

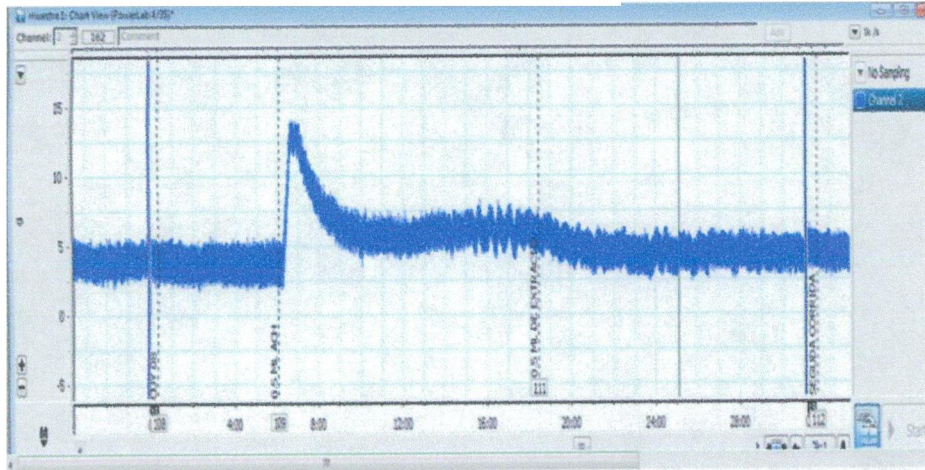


Figura 20. Respuesta gráfica del íleon con aplicación de acetilcolina y extracto clorofórmico al 6%.

Anexo 23

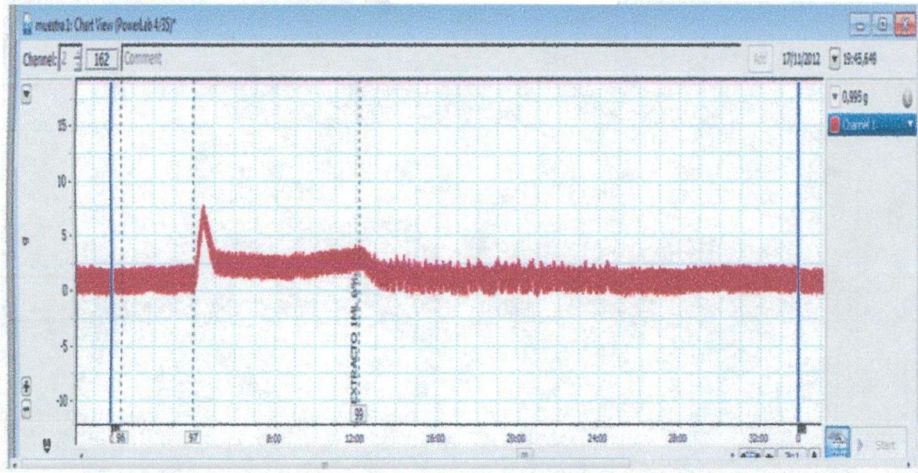


Figura 21. Respuesta gráfica del íleon con aplicación de acetilcolina y extracto clorofórmico al 12%.

Anexo 24
Tabla 12. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico de las hojas de <i>Satureja brevicalex</i> Epling "wayra muña" en ileon aislado de cobayo. Ayacucho, 2012.	¿Tendrá efecto antiespasmódico el extracto clorofórmico de las hojas de <i>Satureja brevicalex</i> Epling "wayra muña" en ileon aislado de cobayo?	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Determinar el efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico de las hojas de <i>Satureja brevicalex</i> Epling "wayra muña" en ileon aislado de cobayo. <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Comparar el efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico de las hojas de <i>Satureja brevicalex</i> Epling "wayra muña" con la atropina en ileon aislado de cobayo. ✓ Determinar la concentración del extracto clorofórmico de <i>Satureja brevicalex</i> Epling "wayra muña" que muestra mejor efecto antiespasmódico. 	<p>El cólico puede ser definido como la aparición de un dolor agudo, intenso y agotador cuyo origen se encuentra en el aparato gastrointestinal (Genoud, 2002).</p> <p>Los antiespasmódicos son un grupo de agentes, que incluyen algunos compuestos de origen natural como los alcaloides de la especie vegetal <i>Atropa belladonna</i> o sus derivados sintéticos (Bowman y Rand, 1984).</p> <p>Disminuyen el tono y la motilidad intestinal, debido a lo cual se utilizan para aliviar el dolor tipo cólico del tracto gastrointestinal y otras vísceras con músculo liso. <i>Satureja brevicalex</i> Epling "wayra muña", una especie nativa que crece de manera silvestre en los andes peruanos, es utilizado tradicionalmente para aliviar dolores de cabeza, cólicos intestinales, entre otros usos, por su contenido de aceites esenciales (Aguilar, 2010).</p>	El extracto clorofórmico de las hojas de <i>Satureja brevicalex</i> Epling "wayra muña" tiene efecto antiespasmódico en ileon aislado de cobayo.	<p>Variable Independiente: Extracto clorofórmico de las hojas de <i>Satureja brevicalex</i> Epling "wayra muña".</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Extracto clorofórmico 0.5%. ✓ Extracto clorofórmico 1% ✓ Extracto clorofórmico 1.5% <p>Variable dependiente: Efecto antiespasmódico</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Altura de las contracciones. ✓ Número de contracciones. 	<p>Tipo de estudio: Básico – experimental.</p> <p>Población: <i>Satureja brevicalex</i> Epling "wayra muña", que crece en el distrito de Quinua.</p> <p>Muestra: 1 Kg de hojas.</p> <p>Unidad Experimental: Ileon aislado de cobayos con pesos comprendidos entre 450 – 650g, que serán adquiridos en el INIA – Ayacucho.</p> <p>El efecto antiespasmódico será determinado según el método propuesto por Magnus (1968), que consiste en la inducción de espasmos en fracciones de ileon aislado de cobayo.</p> <p>Análisis de datos: Se evaluará la existencia de diferencias estadísticamente significativas de los diferentes tratamientos usando el análisis de varianza y la prueba de Tukey, con un nivel de confianza del 95%.</p>