

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



Efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico y
metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill.
"marco", Ayacucho 2012.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:
BACH. CUAREZVEGA, MARYZOL

AYACUCHO – PERÚ
2013

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D.N°164-2013-FCB-D



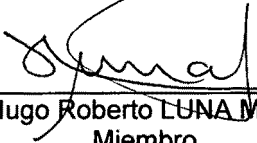

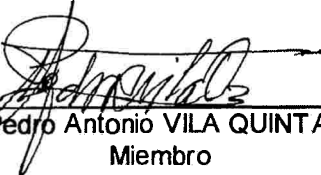

Bach. Maryzol CUAREZ VEGA

En la ciudad de Ayacucho a los once días del mes de octubre del año dos mil trece, siendo las cuatro y veinte minutos de la tarde, se reunieron en el Auditorio de Ciencias Biológicas, los miembros del Jurado Calificador bajo la presidencia del Dr. Tomás Castro Carranza, Mg. José Manuel Diez Macavilca, Mg. Hugo Roberto Luna Molero, Mg. Enrique Aguilar Felices, Blgo. Pedro Antonio Vila Quintanilla y actuando como secretaria docente la Blga. Rosa Cortez Saavedra. Se reunieron para recepcionar la sustentación de la tesis titulada: "Efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco", Ayacucho 2012, presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Maryzol CUAREZ VEGA, quien pretende obtener el título profesional de Químico Farmacéutico. Como primer acto el presidente del Jurado calificador invitó a la Sra. Secretaria a dar lectura a la Resolución Decanal que declara expedita la sustentación de la tesis y dio instrucciones a la Srta. sustentante para su exposición, la que no debe exceder de los cuarenticinco minutos. Culminada la sustentación, el Sr. Presidente del Jurado Calificador solicitó la participación de los miembros del Jurado Calificador, para realizar las observaciones, aclaraciones y/o preguntas que crean por conveniente para realizar la calificación correspondiente. Los miembros del Jurado Calificador participaron en el siguiente orden: Blgo. Pedro Antonio Vila Quintanilla, Mg. Hugo Roberto Luna Molero, Mg. José Manuel Diez Macavilca, Mg. Enrique Aguilar Felices en calidad de Asesor y finalmente el Sr. Decano de la Facultad. Culminada la fase de participación, el Sr. Presidente del Jurado Calificador invitó a la Srta. 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. Obteniendo la siguiente calificación:

Jurado Calificador	Exposición	Rpta. a preguntas	Promedio
Mg. José Manuel Diez Macavilca	17	17	17
Mg. Hugo Roberto Luna Molero	17	17	17
Mg. Enrique Javier Aguilar Felices	17	15	16
Blgo. Pedro Antonio Vila Quintanilla	17	15	16
		PROMEDIO:	17

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

 _____ Dr. Tomás CASTRO CARRANZA Presidente	 _____ Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA Miembro
 _____ Mg. Hugo Roberto LUNA MOLERO Miembro	 _____ Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES Miembro
 _____ Blgo. Pedro Antonio VILA QUINTANILLA Miembro	 _____ Blga. Rosa CORTÉZ SAAVEDRA Secretaria Docente

DEDICATORIA

A Dios, a mi madre Audelia, abuelitos
Martin y Celestina, tío Celestino y
hermanos.

AGRADECIMIENTO

A mi *alma mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme acogido en sus aulas, forjadora de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica; a sus docentes por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional.

Al Mg. Enrique Javier, Aguilar Felices y Dr. Aldo Johnny Tinco Jayo, asesores del presente trabajo de investigación, por su constante orientación profesional, cuyos esfuerzos se materializan en este informe.

Finalmente, mi sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra forma, permitieron la culminación del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
I. MARCOTEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco"	5
2.3. Metabolitos secundarios	8
2.4. Intestino delgado	10
2.5. Sistema nervioso entérico	11
2.6. Alteraciones de la motilidad intestinal	12
2.7. Fisiopatología del dolor abdominal	12
2.8. Sistema colinérgico o parasimpático	13
2.9. Antagonistas colinérgicos	14
II. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	17
3.2. Población y muestra	17
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	18
3.3.3. Diseño experimental	21
3.3.4. Análisis estadístico	23
III. RESULTADOS	24
IV. DISCUSIÓN	30
V. CONCLUSIONES	34
VI. RECOMENDACIONES	35
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
VIII. ANEXOS	39

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los extractos clorofórmico y metanólico de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco"	25

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Acetilcolina	14
Figura 2. Atropina	15
Figura 3. Cromatografía en capa fina del extracto metanólico y clorofórmico bajo la luz ultravioleta	26
Figura 4. Porcentaje del tránsito intestinal de los tratamientos del Extracto clorofórmico y metanólico de las hojas de <i>ambrosia arborescene</i> Mill. "marco"	27
Figura 5. Porcentaje de inhibición de la motilidad de los tratamientos del extracto clorofórmico y metanólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco"	28
Figura 6. Porcentaje de inhibición del enteroestancamiento de los tratamientos del extracto clorofórmico y metanólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco"	29

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo.1	Certificado de la clasificación taxonómica	40
Anexo.2.	Certificado sanitario de los animales de experimentación	41
Anexo.3.	Descripción botánica	42
Anexo 4.	Flujograma del diseño metodológico	43
Anexo.5.	Reacción de identificación de metabolitos secundarios,	44
Anexo.6.	Recolección de la muestra	45
Anexo.7.	Concentración de la muestra	46
Anexo.8.	Tubos de ensayo de la prueba fitoquímica del extracto metanólico	47
Anexo.9.	Tubos de ensayo de la prueba fitoquímica de extracto clorofórmico	48
Anexo.10.	Preparación y administración de los extractos a la dosis respectiva	49
Anexo.11.	Diseción, extracción del intestino de los ratones y medición del recorrido del carbón activado	50
Anexo.12.	Procedimiento para la determinación de enteroestancamiento	51
Anexo.13.	Curva espectral del extracto clorofórmico y metanólico	52
Anexo.14.	Porcentaje del tránsito intestinal	53
Anexo.15.	Porcentaje de la inhibición de la motilidad intestinal	54
Anexo.16.	Porcentaje de inhibición de enteroestancamiento	55
Anexo.17.	Análisis de varianza del porcentaje del tránsito intestinal del extracto clorofórmico y metanólico	56
Anexo.18.	Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de la motilidad del extracto clorofórmico y metanólico	57
Anexo.19.	Análisis de varianza del porcentaje de enteroestancamiento del extracto clorofórmico y metanólico	58
Anexo20	Matriz de consistencia	59

RESUMEN

El espasmo intestinal es un trastorno muy común en las poblaciones y es causado por desórdenes alimentarios o de etiología infecciosa y, su tratamiento a base de plantas medicinales, se encuentra muy difundido. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco". El tipo de investigación es básica descriptiva y se realizó en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de octubre de 2012 a febrero de 2013. Las muestras fueron recolectadas en la comunidad de Rayme Alto, distrito de Carhuanca, provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho. El estudio fitoquímico de los extractos se determinó mediante reacciones químicas y cromatografía en capa fina. El efecto antiespasmódico se determinó con las pruebas de motilidad intestinal y enteroestancamiento; empleándose 100 ratones albinos Balb/c divididos en cinco grupos de cinco animales cada uno, para cada ensayo y extracto. Las dosis ensayadas fueron de 100, 200 y 400 mg/kg de cada extracto y los controles, atropina y loperamida. Ambos extractos presentaron ligeras diferencias cualitativas en el contenido de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenoides, esteroides, taninos y principios amargos, corroborados por cromatografía en capa fina. La motilidad intestinal fue influenciada por las dosis ensayadas, pero no por el tipo de extracto; mientras que el enteroestancamiento fue influenciado sólo por el tipo de extracto. Se concluye que los extractos clorofórmico y metanólico muestran efecto antiespasmódico.

Palabras clave: *Ambrosia arborescens* Mill., extracto, efecto antiespasmódico, motilidad intestinal, enteroestancamiento.

INTRODUCCIÓN

A la fecha, el resurgimiento de la medicina natural a base de extractos de plantas medicinales utilizadas con el propósito de solucionar diferentes enfermedades, nos motiva a estudiar e investigar una variedad de especies nativas presentes en nuestro país, las cuales forman parte de la gran biodiversidad, favorecida por los diversos ecosistemas en las diferentes regiones del Perú. Muchas de estas especies vegetales han sido utilizadas por años como parte de la medicina tradicional sin mayor respaldo científico. Esta realidad nos impulsa a investigar sobre aquellos metabolitos secundarios responsables de las propiedades curativas de estas especies, para lo cual hacemos uso de disciplinas como la fitoquímica y farmacología, de esta manera podemos determinar los principios activos y las rutas metabólicas de biosíntesis. Obtenidos estos conocimientos queda abierta la posibilidad de industrialización de muchos de nuestros recursos naturales.¹

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 ileon aislado de cobayo (*in vitro*) y actividad sobre el tránsito intestinal en ratones y diarrea en rata (ambos *in vivo*), para lograr mejores resultados.²

Ambrosia arborescens Mill. "marco" es una Asteraceae que crece en los Andes sudamericanos³, conocida por sus propiedades analgésica, antiinflamatoria, digestiva y repelente contra insectos.³⁴ Conocido por contener sesquiterpenolactonas y compuestos fenólicos.³

Los solventes orgánicos tienen diferentes polaridades, permitiendo una extracción selectiva de los compuestos químicos presentes de la planta. Como los compuestos químicos presentes en las plantas medicinales son los responsables de su actividad, esto podría hacer pensar que los extractos clorofórmico y metanólico utilizados en la presente investigación podrían tener diferentes propiedades farmacológicas. Por tal motivo, se planteó el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Evaluar el efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico y metanólico de hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco"

Objetivos específicos:

- Realizar el tamizaje fitoquímico de los extractos clorofórmicos y metanólicos de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".
- Determinar el efecto sobre la motilidad intestinal por administración de diferentes concentraciones del extracto clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en los diferentes modelos experimentales *in vivo* (prueba de motilidad intestinal y enteroestancamiento inducido por aceite de ricino) frente al grupo control.
- Precisar la dosis efectiva a la que se presenta el efecto antiespasmódico esperado.

I. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Las plantas medicinales son frecuentemente utilizadas para tratar dolencias gastrointestinales, inflamaciones renales, afecciones broncopulmonares.²

En la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga se han realizado trabajos de investigación sobre el efecto antiespasmódico en varias especies como *Satureja breviculix* Epling, “wayra muña” en infusión acuosa,⁵ *Melissa officinalis* L. “toronjil” ,⁶ *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. “pampa salvia”⁷ en íleon aislado de cobayo y *Senecio nutans* “wiscataya” en intestino de ratones albinos.⁸ *Melissa officinalis* L. fue evaluada en tres modelos: *in vitro*, sobre íleon aislado de cobayo, e *in vivo*, sobre el tránsito intestinal en ratones y diarrea inducida en ratas.⁹

Se han llevado a cabo diversos estudios en especies del género *Ambrosia*. Por ejemplo, un estudio químico del aceite esencial de *Ambrosia trifida* de China, puso de manifiesto compuestos mayoritarios como el acetato de bornilo, borneol, óxido de cariofileno, α -pineno atribuyendo a estos la actividad antibacteriana.³ En el aceite esencial de otra especie del mismo género, *Ambrosia artemisiifolia*, recolectada en Belgrado, se identificaron 51 compuestos, principalmente D-gormareno (24,1%), limoneno (16,83%), α -pineno (8,0%) y mircineno (7,4%), y observó una importante actividad bactericida y fungicida.¹⁰ En general, se ha

afirma que el género *Ambrosia* posee propiedades antioxidantes por la presencia de flavonoides y glicósidos; y que son utilizados en el tratamiento de las infecciones por *Schistosoma mansoni*.¹¹ El extracto fluido de *Ambrosia arborescens* reportó la presencia de alcaloides, cardiotónicos, triterpenos y/o esteroides, taninos, flavonoides, azúcares reductores, saponinas, principios amargos y resinas.¹²

En cuanto al empleo del modelo experimental de la motilidad *in vivo*, se han llevado a cabo varios trabajos en vista de su sensibilidad y practicidad. Por ejemplo, en el estudio de la disminución del tránsito intestinal en ratones de la tintura de guayaba (*Psidium guajava* L.). Todos los tratamientos (atropina, papaverina y tintura de hojas *Psidium guajava* L.) disminuyeron significativamente y de manera dependiente de la dosis, el tránsito intestinal en los ratones.⁸ También se evaluó el efecto antidiarreico y antiespasmódico del extracto metanólico de *Punica granatum* L. (granadilla) en ratones. El tránsito intestinal obtenido en el grupo control positivo con loperamida fue bastante inferior al obtenido en el grupo control negativo. De igual forma, el porcentaje de tránsito intestinal del grupo con tratamiento de extracto metanólico de granada fue considerablemente menor que el grupo control. El grupo tratado con extracto metanólico mostró reducción significativa del tránsito intestinal con respecto al grupo control negativo.¹³ Del mismo modo, se estudió el efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lam.) "canchalagua" en ratas albinas, empleando extractos a dosis de 100 y 200 mg/kg, donde la distancia recorrida por el carbón activado fue mínima con la menor dosis experimental, lo que confirmó el efecto inhibitorio sobre la motilidad gástrintestinal del extracto.¹⁴

2.2. *Ambrosia arborescens* Mill. “marco”

2.2.1. Clasificación taxonómica

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SOLANALES
FAMILIA	:	SOLANACEAE
GÉNERO	:	AMBROSIA
ESPECIE	:	<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.
N. V.	:	“marco”

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

2.2.2. Descripción botánica

Es una planta arbustiva ramosa de 1 a 2 metros de alto, tallos y rama áspera en la base y piloso en la parte superior; hojas alternas bipinnadas, de 5 a 10 cm de largo, pubescente en ambas superficies siendo más densa en el envés; flores unisexuales; dispuestas en capítulos masculinos ubicados en la parte superior y femeninos en la parte inferior del mismo eje. Los capítulos a su vez se disponen en racimos terminales. Los capítulos masculinos cortamente pedicelados, el involucre de forma hemisférica, con brácteas soldadas, glanduloso pilosos, con pocas flores unisexuales masculinas anchamente tubulosas, glabras y de un color amarillento, páleas de los receptáculos lineal–tubuladas, hialinos. Los capítulos femeninos sésiles rodeados de brácteas involucrales foliáceos, desiguales cubiertos de pelos blancos y largos conteniendo numerosas flores

femeninas tubulosas. Fruto aquenio, ovoide rostrado con puntas prominentes y ganchudas hacia el ápice (Anexo 3).

2.2.3. Distribución de la familia Asteráceas

Las especies de la familia Asteráceas son tan numerosas que comprenden alrededor de la décima parte del total de fanerógamas conocidas. Sus especies se encuentran distribuidas por todo el mundo y adaptadas a las diversas condiciones de vida. Abarca aproximadamente más de 1 000 géneros y más de 20 000 especies.¹⁵

2.2.4. Descripción del género *Ambrosia arborescens*

Las plantas de este género son herbáceas o arbustivas pertenecientes a la familia Asteraceae, nativas de Norteamérica y Sudamérica, desde donde se han difundido por Europa. Comprende una treintena de especies de plantas anuales o perennes, que crecen en especial en regiones llanas, poco húmedas y arenosas.³

2.2.5. Hábitat

El género *Ambrosia* aparece a lo largo de las regiones templadas del hemisferio norte y la región norte de Sudamérica. Prefieren los suelos arenosos, poco fértiles, ligeramente alcalinos, y son fuertemente fotófilas. Se dan espontáneamente a la vera de los caminos, en ruderales y a la orilla de ríos de llanura.³

2.2.6. Propiedades y usos medicinales

Las especies de *Ambrosia* se caracterizan por ser plantas aromáticas, con propiedades medicinales muy difundidas entre los pobladores de nuestra región para aliviar dolor de cabeza, migraña, reumatismo, usadas en baños vaginales, fiebre estreñimiento, desórdenes de la próstata y en casos de fracturas y

lesiones; utilizadas también para atacar a organismos inferiores como pulgas, garrapatas, etc., así como para los herbívoros.³

El zumo es una sustancia que fue empleado por nuestros antepasados (Incas) para conservar cadáveres. El jugo de las ramas desinflan las hemorroides externas. El jugo frito en aceite de almendra calma los dolores de abdomen. El jugo mezclado con grasa de cerdo constituye una para desinflamar los pies, evitar los calambres y tratar el reumatismo. Las hojas trituradas se emplean para reducir las hinchazones. El cocimiento de las hojas es útil para los baños del pie (antisépticos).¹⁵

2.2.7. Composición química

Contiene alcaloides: encontrados principalmente en las flores femeninas. Damsina y coronofilina: en el extracto metanólico de las semillas. Shiramool, Damsina, coronofilina. Psilostachina: en el extracto hexánico de las hojas. Dióxido de bisaboleno, 1(10),4-germacradien-6-ol y varias sesquiterpenlactonas que pueden ser las responsables de la actividad atribuida al marco. Los aceites esenciales de *F. artemisoides* muestran la presencia de 3-careno, limoneno, p-cimeno, cariofileno, aloaromadendrano, humuleno, isoborneol, cariofileno-epóxido, carotol, germacranos.¹²

2.2.8. Estudio farmacológico

Presenta acción bactericida frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y sobre *Cándida albicans* a 1000 g/ml. De los compuestos del marco, el shiramool y la coronofilina exhiben una potente actividad antialimentaria contra plagas que infestan cereales. Por otro lado, la psilostachina es activa frente a ácaros (*Tetranychus urticae*), mientras que la damsina muestra actividad antitumoral y molusquicida. Damsina y psilostachina exhiben un efecto estimulante sobre la germinación de semillas.¹²

2.3. Metabolitos secundarios

2.3.1. Flavonoides

Los flavonoides químicamente, tienen como núcleo básico al 2-fenilcromano. Farmacológicamente son antioxidantes, antiespasmódicos, antiinflamatorios, anticoagulantes indirectos de la sangre, diuréticos, antiedematosos, hipocolesterolemiantes y factor P.⁷ La principal actividad atribuida a los flavonoides es la de ser “venoactivos”, es decir, ser capaces de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar su resistencia. Los flavonoides también pueden ser antialérgicos, hepatoprotectores, antibacterianos, antivirales *in vitro*, anticancerígenos *in vitro*.⁴

2.3.2. Alcaloides

Son aquellas sustancias que contienen uno o más átomos de nitrógeno como parte de un sistema cíclico, que manifiestan actividad farmacológica significativa y han sido biosintetizados de aminoácidos precursores. Los compuestos que llevan estas características se dice que son verdaderos alcaloides.¹⁶ Poseen especial interés por sus actividades farmacológicas que ejercen sobre los campos más variados. A nivel del sistema nervioso central pueden tener acciones depresora o estimulante; a nivel del sistema nervioso autónomo, pueden ser simpaticomiméticos o simpaticolíticos, parasimpaticomiméticos, anticolinérgicos o gangliopléjicos. Son importantes también la existencia de sus manifestaciones curarizantes, anestésicos locales, antifibrilantes, antitumorales, antipalúdicos, amebicidas. Estas diferentes actividades conducen a una importante utilización de las drogas con alcaloides.⁴

2.3.3. Triterpenos y esteroides

Son compuestos muy difundidos en la naturaleza, principalmente en el reino vegetal. Se han aislado también del reino animal, tal es el caso del escualeno obtenido del aceite del hígado de tiburón.¹⁶ El interés terapéutico y empleo industrial de triterpenos y esteroides hace de ellos un grupo de metabolitos secundarios de gran importancia: los heterósidos cardiotónicos por ejemplo, que no han sido sustituidos completamente por ningún producto sintético aun; las sapogeninas espiroctánicas, cubren las necesidades de la industria farmacéutica en medicamentos esteroidicos. En general las potencialidades terapéuticas en los campos más diversos ofrecen alternativas como citostáticos, antivirales, insecticidas, antiinflamatorios, molusquicidas, analgésicos.⁴

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.^{17,18}

2.3.4. Sesquiterpenlactonas

Las sesquiterpenlactonas, derivadas biogénicamente 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.^{19,20} Son sustancias amargas que se encuentran en todas las partes de la planta.²² Numerosas lactonas han demostrado ser antibacterianas, antifúngicas y antiparasitarias. Las posibilidades alquilantes de las lactonas sesquiterpénicas han llevado a estudiar su citotoxicidad. Aunque numerosas estructuras presentan una gran actividad, ninguna ha sido ensayada en clínica, en gran parte a causa de una toxicidad demasiado marcada.⁴

2.4. Intestino delgado

Es la parte de mayor longitud del sistema gastrointestinal (aproximadamente cinco metros), alrededor de 5 % de su longitud inicial corresponde al duodeno (caracterizado por la ausencia del mesenterio), enseguida se ubica el yeyuno, 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.²¹

Está formado por cuatro capas.

- 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.
- Capa muscular externa. Encontramos 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, es decir regula la motilidad muscular submucosa. Existen abundantes vasos sanguíneos; en ella se encuentra el plexo (red) submucoso de Meissner, este plexo es de carácter nervioso vegetativo, es el primer nivel de regulación digestiva. Va a formar parte del sistema neuroentérico intrínseco, tiene el papel principal de regular la secreción de las glándulas.
- Epitelio o mucosa digestiva. El epitelio presenta glándulas mucosas productoras de moco, con función protectora y lubricante.²³

2.5. Sistema nervioso entérico

El sistema nervioso entérico (SNE) posee autonomía propia e incluye circuitos neuronales encargados de regular la función motora gastrointestinal, el flujo sanguíneo local, la secreción y el transporte de sustancias a través de la mucosa y de modular funciones endocrinas e inmunológicas del tubo digestivo. Estos circuitos se componen de neuronas integradas en redes de ganglios entéricos conectados entre sí y se diferencian por la localización, la neuroquímica (en muchas neuronas entéricas coexisten dos o más neurotransmisores), las proyecciones, las conexiones y la función desempeñada. La mayoría de las neuronas entéricas involucradas en funciones motoras se localizan en el plexo mientérico, con algunas neuronas aferentes primarias situadas en el plexo submucoso destinadas a la inervación de la muscular. Tanto la corteza cerebral como el hipotálamo participan en respuestas excitadoras (vehiculizadas por el sistema parasimpático) e inhibitoras (ejercidas tanto por el sistema simpático como por el parasimpático) sobre el estómago, el intestino delgado y el colon. El tálamo regula estímulos excitadores e inhibidores sobre la motilidad gástrica mediante la activación de diversos núcleos troncoencefálicos y la mediación de la vía parasimpática; el cerebelo participa en la estimulación de la motilidad gástrica, intestinal y colónica probablemente mediante la supresión del tono inhibitor simpático; la médula espinal ejerce estímulos tanto excitadores como inhibidores de la motilidad por vía parasimpática. El nervio vago inerva el esófago, el estómago, el intestino delgado y el colon proximal. En general, el sistema parasimpático se encarga de estimular la motilidad del tubo digestivo, distribuyéndose a partir de la vía toracolumbar, atraviesa los ganglios paravertebrales y los ganglios celiaco y mesentéricos superior e inferior.²⁵

2.6. Alteraciones de la motilidad intestinal

El tubo digestivo es un sistema extremadamente sensible. Algunos factores como determinados alimentos, bacterias, estrés o excitación, pueden provocar la pérdida de control o el desequilibrio de esta concentración. Cuando esto sucede, los movimientos peristálticos, normalmente suaves y propagados en forma de ondas, pueden convertirse en espasmos fuertes y dolorosos, y su duración se puede alargar durante horas o incluso días, si no se consume medicamento.²²

2.6.1. Espasmos y cólicos intestinales

Es la contracción involuntaria, persistente de un músculo o grupo muscular, algunos reservan dicho nombre para la contracción tónica persistente de los músculos de fibra lisa. El dolor abdominal que se siente en el área entre el pecho y la ingle, a menudo denominado región estomacal o vientre.²³

Como una definición general se entiende por espasmos a aquella contracción súbita pero transitoria de un conducto u orificio.

Estos dolores aparecen a veces en determinadas enfermedades del intestino corrientemente son la consecuencia de intoxicaciones o fermentaciones.²³

2.6.2. Dolor

Es la experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada con una lesión tisular o potencial. También como conjunto de respuestas para proteger el organismo ante un daño. Estas respuestas pueden describirse con términos que reflejan conceptos neurológico y fisiológico, del comportamiento y afectivo. Se considera el dolor como un fenómeno psicológico con componentes físicos y emocionales.²³

2.7. Fisiopatología del dolor abdominal

El dolor abdominal puede tener diferentes desencadenantes y vías de propagación, así distinguimos:

- Dolor visceral: Originado en las vísceras y el peritoneo visceral; los estímulos dolorosos se transmiten por el sistema simpático hasta el ganglio raquídeo de aquí al asta posterior medular por donde llegan hasta el tálamo.
- Dolor parietal: Es la sensación dolorosa generada a través de la estimulación del peritoneo parietal por agentes nocivos, este dolor se transmite por los nervios aferentes cerebroespinales que inervan el peritoneo y se localiza directamente sobre el área inflamada. A nivel medular puede establecerse un reflejo autónomo a través de las vías simpáticas y también puede transmitirse impulsos al asta anterior dando lugar a un componente motor (reflejo espinal, contractura muscular). Es un dolor agudo, intenso y bien localizado.²⁴
- Dolor referido: Se percibe en regiones anatómicas diferentes a la zona de estimulación y se produce porque esta zona de estimulación comparte segmento neuronal sensorial con el área dolorosa.²⁴

2.8. Sistema colinérgico o parasimpático

El sistema nervioso parasimpático viene a ser una de las divisiones o ramas del sistema nervioso vegetativo. El sistema nervioso parasimpático se origina a partir del sistema nervioso central, por componentes preganglionares situados en el encéfalo o segmentos sacros (II, III y IV) de la medula espinal.

En términos generales frena la actividad y el consumo de materia, origina la incorporación y acumulación de principios nutritivos y genera energía potencial.

El neurotransmisor de las fibras del parasimpático, tanto en el ganglio como en el órgano efector es la acetilcolina (ACh).²⁵

2.8.1. Acetilcolina

Fue el primer neurotransmisor caracterizado en el sistema nervioso periférico (SNP) como en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos. Es sintetizada en el citoplasma neuronal a partir de la colina y de la acetilcoenzima

A, mediante la acción de la enzima colinoacetiltransferasa. Una vez sintetizado se almacena, fundamentalmente, en el terminal colinérgico pre-sináptico. Liberada al espacio intersináptico, la acetilcolina, interactúa con sus receptores para ejercer las acciones específicas en cada órgano y, es degradada inmediatamente. Los receptores de acetilcolina (nicotínicos y muscarínicos) se encuentran ampliamente distribuidos en diversas áreas del sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico. Los receptores muscarínicos están presentes en diversos órganos y tejidos en la periferia (tejido cardíaco, músculo liso y glándulas exocrinas) y dentro del sistema nervioso central.²⁵

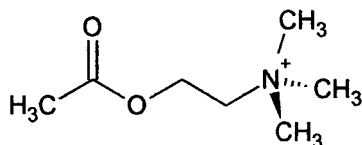


Figura 1. Acetilcolina.²⁵

2.8.2. Acción farmacológica 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.²⁵

2.9. Antagonistas colinérgicos

Los anticolinérgicos, fármacos capaces de bloquear la acción de la acetilcolina sobre sus efectores autónomos, pueden dividirse en antagonistas nicotínicos y muscarínicos.²⁵

2.9.1. Atropina

Es un fármaco anticolinérgico extraído de la belladona y otras plantas de la familia Solanaceae.¹⁷ 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.²⁶ El mecanismo de acción de la atropina, estimula el sistema nervioso central y después lo deprime; tiene acciones antiespasmódicas sobre músculo liso y reduce secreciones, especialmente salival y bronquial; reduce la transpiración. Deprime el vago e incrementa así la frecuencia cardíaca.^{24,27}

Los antimuscarínicos actúan antagonizando a la acetilcolina a nivel de los receptores muscarínicos que existen en los plexos entéricos y dan lugar a una relajación de la musculatura lisa gastrointestinal.²⁴

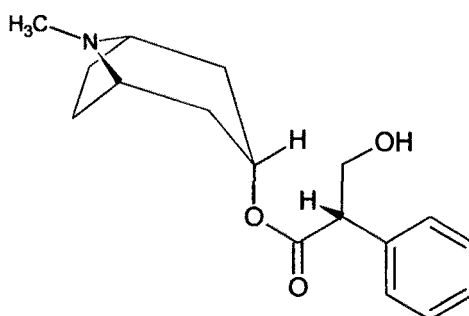


Figura 2. Atropina.²⁵

2.9.2. Acciones farmacológicas

La motilidad y el tono gastrointestinal son inhibidos por la Atropina y los agentes antimuscarínicos. El músculo liso se relaja y los movimientos propulsivos disminuyen o se anulan. El tiempo de vaciamiento gástrico se prolonga y el tránsito intestinal disminuye. Los efectos antiespasmódicos convenientes en la

terapéutica de los dolores cólico abdominales, se basan en la denominadas acciones antimuscarínicas. Las secreciones digestivas son también inhibidas o anuladas por la atropina. Con altas dosis, la secreción (ácido clorhídrico, pepsina y mucina) es eficientemente reducida.²⁷ Interfiere con la peristalsis mediante la acción directa sobre los músculos circulares e intestinales reduciendo su motilidad, y también actúa reduciendo la secreción de fluidos y de electrolitos y aumentando la absorción de agua.²⁴

2.10. Fármacos antiespasmódicos

Los antiespasmódicos son un grupo de agentes, que incluyen algunos compuestos de origen natural como los alcaloides de la especie vegetal *Atropa belladonna* (atropina, belladonna, hiosciamina, y escopolamina) o sus derivados sintéticos.²⁷ 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.²⁷

2.10.1. Loperamida

La Loperamida es un agonista opioide que actúa en el receptor periférico. Su mecanismo de acción consiste en interrumpir el avance de la motilidad intestinal, incrementar la capacidad intestinal y retrasar el paso de fluidos a través del intestino.²³

2.10.2. Aceite de ricino

Es un laxante eficaz, que reduce la absorción del fluido, aumenta la secreción del intestino delgado y el colon; y afecta a la contractilidad del músculo liso en el intestino. El aceite de ricino produce diarrea debido a su componente activo ácido ricinoleico.²³

II. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología del Área Académica de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de octubre 2012 a febrero 2013.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Las hojas de la especie de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco”, que crece en el Anexo de Rayme Alto, distrito de Carhuanca, provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

Fueron recolectados 2 kg de hojas del Anexo de Rayme Alto que se encuentra a 2 995 m.s.n.m., aproximadamente y una parte de la muestra recolectada se llevó al *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas para su identificación y su clasificación botánica. (Anexo 1)

3.2.3. Unidad experimental

100 ratones albinos Balb/c de ambos sexos con peso promedio entre 22 a 25 g, adquiridos del Instituto Nacional de Salud de la ciudad de Lima en buen estado de salud, con alimento balanceado y agua. De ellos 50 ratones fueron utilizados

para la determinación de la actividad antiespasmódica y otros 50 en enteroestancamiento inducido por aceite de ricino. (Anexo 2)

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

a. Recolección de muestra

Se recolectaron manualmente las partes aéreas (tallo, hojas, flores y frutos), en las horas de la mañana, en un clima templado, en el mes de julio del 2012 y durante su estadio de floración.

b. Secado y molienda

La planta se colocó sobre papeles para una mayor absorción de agua, el secado se realizó a temperatura de ambiente con ventilación necesaria, las hojas secas se seleccionaron y estas han sido reducidas de tamaño en un mortero.

c. Preparación del extracto clorofórmico y metanólico

Se maceró 500g de muestra para cada extracto, en un frasco de color ámbar con cloroformo y metanol por un periodo de 7 días, en ese proceso se agitó constantemente para que el solvente se distribuya uniformemente. Luego se procedió a filtrar y el filtrado se llevó para eliminar el solvente haciendo uso del evaporador rotatorio hasta una cantidad aproximada de 100 mL, el cual se llevó a la estufa a sequedad a una temperatura de 40°C del cual se obtuvo el extracto seco. Se conservó refrigerado el extracto seco.²⁸

d. Tamizaje fitoquímico

Las reacciones de identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto metanólico y clorofórmico se realizó siguiendo los procedimientos establecidos.²⁸

e. Cromatografía en Capa Fina (CCF)

Se realizó la siembra del extracto clorofórmico y metanólico, según las siguientes condiciones:

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: Luz Ultravioleta (UV).

La placa se evaluó a la luz visible y en una cámara UV a 365 nm. (Figura 3).

f. Determinación del efecto antiespasmódico

Para evaluar el efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" se emplearon dos modelos experimentales *in vivo*: prueba de motilidad intestinal²⁹ y enteroestancamiento inducido con aceite de ricino.³⁰

3.3.1 Prueba de motilidad intestinal

Fundamento: La motilidad intestinal se fundamenta en la medición de desplazamiento del carbón activado en el intestino delgado de los ratones luego de la administración del aceite de ricino. Mientras menor sea el recorrido del carbón mayor será la inhibición de la motilidad intestinal (actividad antiespasmódica).

Procedimiento

- Los animales fueron privados de alimento 6 horas antes del ensayo con agua *ad libitum*.
- Luego se distribuye al azar en 5 grupos para luego pesarlos.
- Los tratamientos (solución salina, atropina, extractos) fueron administrados por vía oral e intraperitoneal de acuerdo al peso de los ratones.
- Transcurrido 45 minutos se les administró 0,5 ml de aceite de ricino por vía oral a todos los grupos.
- Después de 20 minutos se les administró carbón activado al 10% en agua destilada por vía oral.

- Pasado 30 minutos se sacrificaron los ratones en una atmósfera de cloroformo y se les extrajo el tubo digestivo desde el esfínter pilórico hasta la válvula ileocecal.
- Los parámetros registrados fueron: Longitud total del intestino (cm) y la distancia recorrida por el carbón activado desde el esfínter pilórico hasta el lugar más distal donde llegó la sustancia como marcadora. A partir de este último se calcularon el porcentaje de tránsito intestinal y el porcentaje de inhibición de la motilidad de la siguiente manera:

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

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

Donde:

DRC: Distancia recorrida por el carbón

3.3.2. Enteroestancamiento inducido por aceite de ricino del extracto metanólico y clorofórmico

Fundamento: La prueba de enteroestancamiento inducido por aceite de ricino se fundamenta en registrar el peso en gramos del contenido intestinal (acumulación del líquido intraluminal) de los ratones luego de la administración de aceite de ricino. Mientras menor sea el peso, mayor será el efecto antidiarreico (disminución de la motilidad intestinal y secreciones).

Procedimiento

- Los animales fueron privados de alimento 6 horas antes del ensayo con agua *ad libitum*.

- Luego se distribuyeron en 5 grupos de 5 ratones albinos para luego ser pesados.
- Los tratamientos (solución salina, loperamida y extractos) fueron administrados por vía oral utilizando una sonda oral de acuerdo al peso de los ratones albinos.
- Transcurrido 45 minutos se les administra 0,5 ml de aceite ricino a todos los grupos.
- Pasado 30 minutos se sacrificaron los ratones en una atmósfera de cloroformo y se les extrajo el tubo digestivo desde el esfínter pilórico hasta la válvula ileocecal.
- Los parámetros registrados fueron: Peso del intestino con contenido, peso del intestino vacío y mediante la diferencia entre los pesos llenos y vacíos se calculó el porcentaje del contenido intestinal; éste último dato se usó para hallar el porcentaje de inhibiciones de enteroestancamiento de la siguiente manera.

$$\% \text{ Inhibición de enteroestancamiento} = \frac{\text{PCI g} - \text{PCI prueba g}}{\text{PCI blanco (g)}} \times 100$$

Donde:

PCI: Peso del contenido intestinal

3.3.3. Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó fue completamente aleatorio. Los animales de experimentación fueron divididos de manera aleatoria en cinco grupos con cinco repeticiones cada grupo.

a. Prueba de motilidad intestinal (extracto clorofórmico)

Grupo	(SSF) 0,1 ml/g	Atropina 5 mg/kg	Extracto		
			Clorofórmico 100 mg/kg	Clorofórmico 200 mg/kg	Clorofórmico 400 mg/kg
I	x				
II		x			
III			x		
IV				x	
V					x

b. Prueba de motilidad intestinal (extracto metanólico)

Grupo	(SSF) 0,1 ml/g	Atropina 5 mg/kg	Extracto		
			Metanólico 100 mg/kg	Metanólico 200 mg/kg	Metanólico 400 mg/kg
I	x				
II		x			
III			x		
IV				x	
V					x

c. Enteroestancamiento inducido por aceite de ricino (extracto clorofórmico)

Grupo	(SSF) 0,1 ml/g	Loperamida 5 mg/kg	Extracto		
			Clorofórmico 100 mg/kg	Clorofórmico 200 mg/kg	Clorofórmico 400 mg/kg
I	x				
II		x			
III			x		
IV				x	
V					x

d. Enteroestancamiento inducido por aceite ricino (extracto metanólico)

Grupo	(SSF) 0,1 ml/g	Loperamida 5 mg/kg	Extracto		
			Metanólico 100 mg/kg	Metanólico 200 mg/kg	Metanólico 400 mg/kg
I	x				
II		x			
III			x		
IV				x	
V					x

3.3.4. Análisis estadístico

Los resultados se expresan en cuadros y gráficos. La diferencia entre los extractos y los tratamientos fueron evaluados a través de Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05, utilizando el programa SPSS, versión 19.

III.RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en los extractos clorofórmico y metanólico de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Metabolito secundario	Extracto	
	clorofórmico	metanólico
Fenoles y/o taninos	++	+++
Flavonoides	++	+++
Lactonas	++	++
Saponinas	+++	+++
Triterpenoides- esteroides	++	+++
Catequinas	++	++
	Dragendö rff	+++
Alcaloides	Wägner	++
	Mayer	+++
Aminoácidos libres	++	++
Quinonas	+	++
Azúcares reductores	+	+
Principios amargos	+++	+++

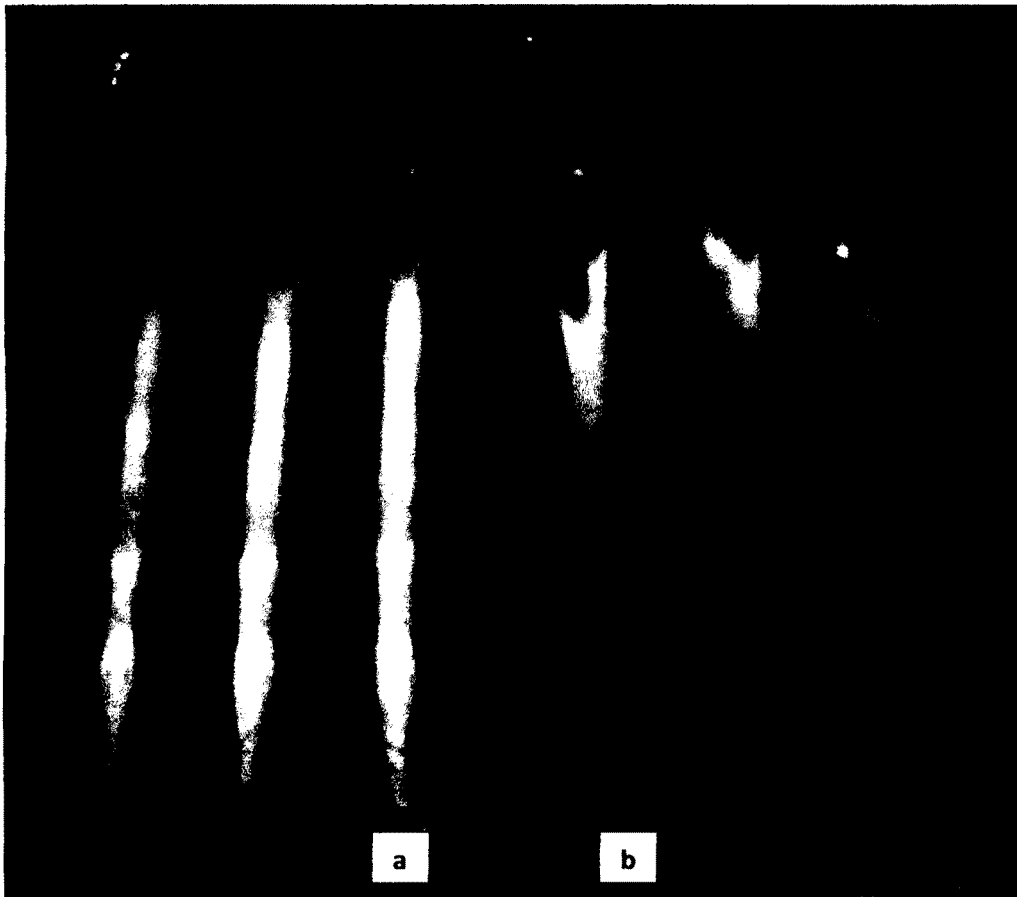


Figura 3. Cromatografía en capa fina de los extractos metanólico (a) y clorofórmico (b) bajo luz ultravioleta.

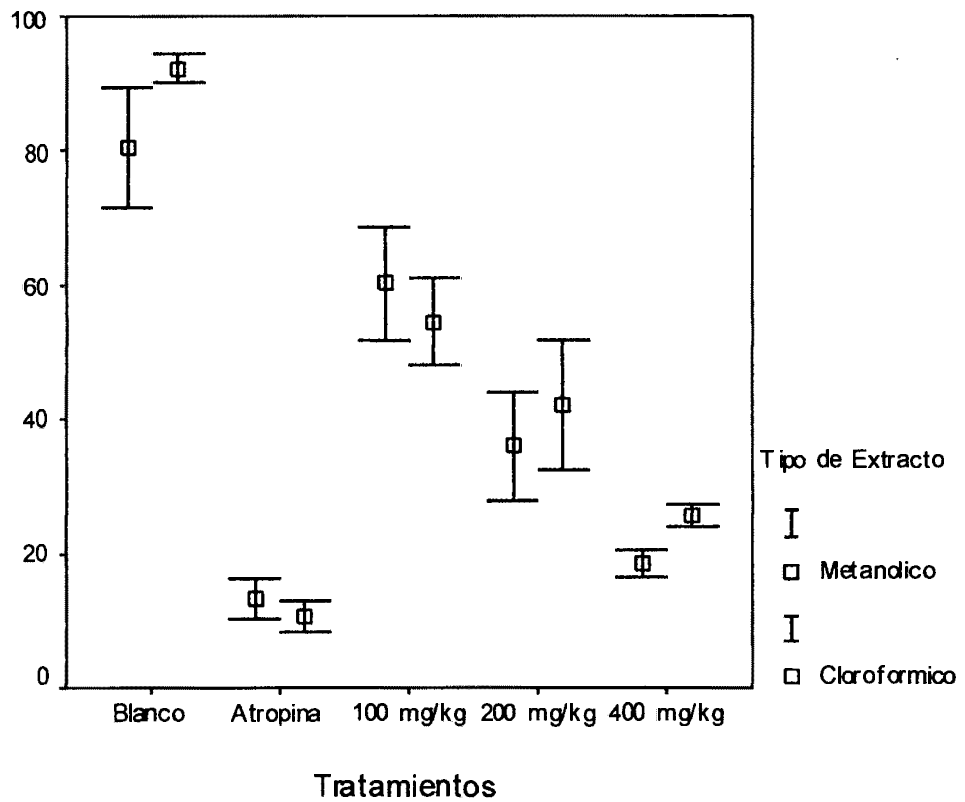


Figura 4. Porcentaje de tránsito intestinal por efecto de los extractos clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco"

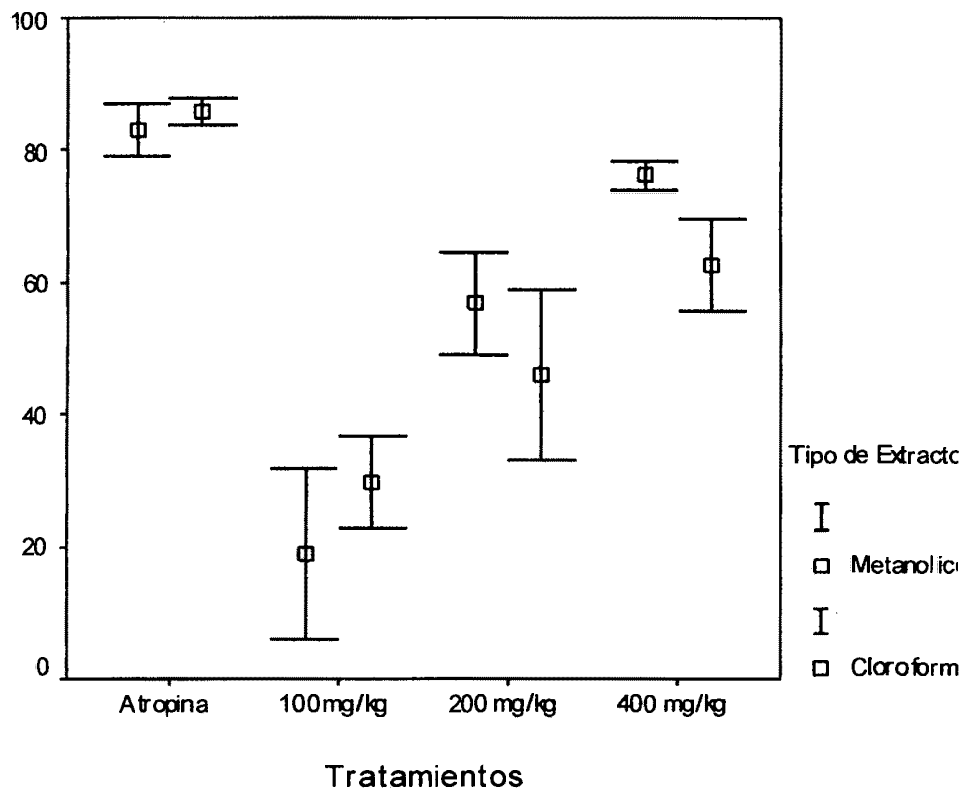


Figura 5. Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal por efecto de los extractos clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mili. "marco"

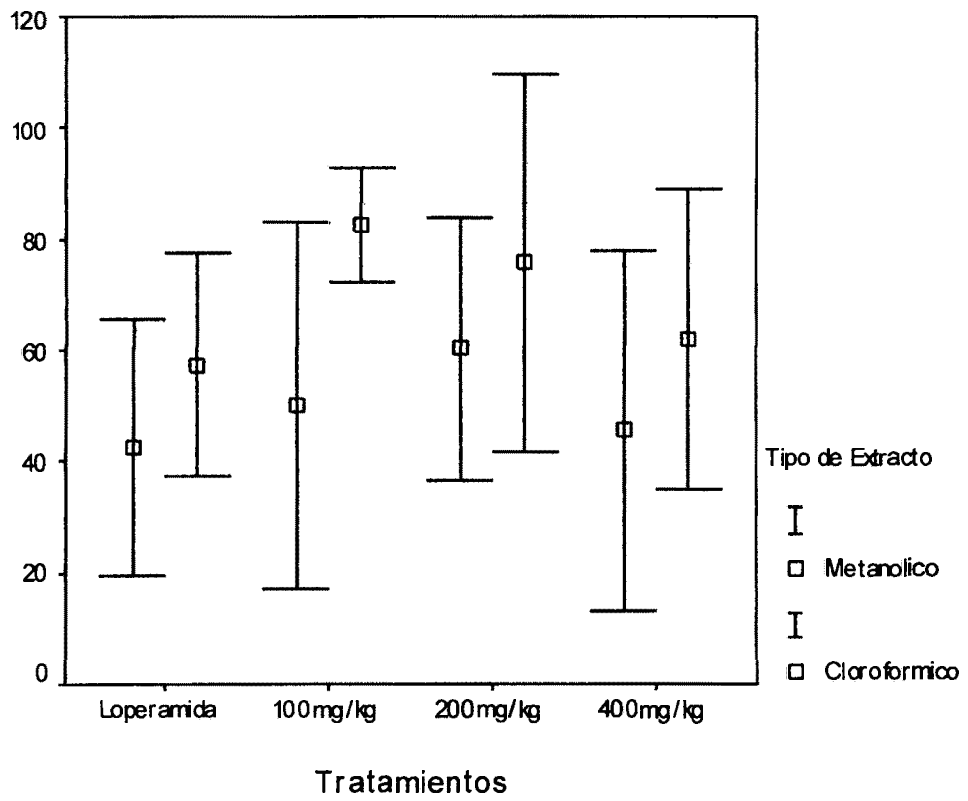


Figura 6. Porcentaje de inhibición de enteroestancamiento de los tratamientos del extracto cloroformico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

IV. DISCUSIÓN

Ambrosia arborescens Mill. "marco" es una planta utilizada en la medicina tradicional por amplios sectores de la población peruana y de otros países, entre ellas el Anexo de Rayme Alto, distrito de Carhuanca, provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho, que mediante una información etnobotánica las hojas son utilizadas como analgésico, antidiarreico y antiespasmódico.

La tabla 1 muestra el tamizaje fitoquímico de los extractos clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco", observándose la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, saponinas, triterpenoides y esteroides, catequinas, alcaloides, aminoácidos libres, quinonas, azúcares reductores y principios amargos. No se pueden establecer diferencias entre ambos extractos porque es una prueba cualitativa. En un estudio sobre la composición química de *Ambrosia peruviana* Will. se reportó hallazgos similares.¹²

Para evidenciar de una mejor manera las diferencias entre los extractos, se realizó la cromatografía en capa fina (Figura 3), observándose diferencias marcadas entre ambos. En la parte que corresponde al extracto metanólico, se observó un mayor número de compuestos con fluorescencia de colores azul, celeste y verde. Mientras que en el extracto clorofórmico solamente se resalta un compuesto con fluorescencia azul que coincide con la fracción metanólica y la

fluorescencia roja corresponde a la clorofila. La fluorescencia azul podría corresponder a un flavonoide metoxilado y compuestos terpénicos que son solubles en cloroformo, entre los que destacan las lactonas sesquiterpénicas. Los compuestos químicos que tienen fluorescencia son aquellos que tienen anillos aromáticos o compuestos alifáticos con insaturaciones. La presencia de diferentes sustituyentes en los núcleos contribuyen a la variabilidad de la fluorescencia, tal como sucede en los fenoles, flavonoides, cumarinas y antraquinonas.⁴ Por tanto, se puede afirmar que el metanol extrajo la mayor cantidad de compuestos entre polares y apolares; mientras que el cloroformo extrajo solamente compuestos apolares o de baja polaridad.

Existen reportes de la composición química de especies medicinales con actividad antidiarreica, como es el caso del extracto metanólico de *Punica granatum* L. "granada", atribuyéndosele el efecto al alto contenido de taninos, antocianinas y polifenoles cuyas propiedades antisecretoras, antiespasmódicas y antiinflamatorias fueron las responsables de su efecto antidiarreico y antiespasmódico.¹³

El efecto antiespasmódico es influenciado por la inhibición competitiva de los receptores de la acetilcolina y el movimiento del calcio y magnesio; asimismo, sobre el sistema nervioso entérico.²⁷ El movimiento de los músculos intestinales circulares y longitudinales del intestino, constituyen la respuesta contráctil ante factores como la alimentación y frente a patologías, variando en su intensidad según sea el caso. La administración por vía oral de sustancias sólidas o líquidas, automáticamente estimulan los movimientos contráctiles, aumentando su intensidad y la administración de los antiespasmódicos disminuyen su intensidad. En la Figura 4 y Anexo 14, se observa el porcentaje del tránsito intestinal, donde a mayor dosis disminuye el tránsito, manifestándose un efecto dosis respuesta, pero que no se diferencian entre los extractos metabólico y

clorofórmico. En ambos extractos existen compuestos químicos que tienen influencia sobre la musculatura lisa intestinal o sobre el plexo entérico. Las diferencias entre ambos extractos fueron contrastados con el análisis de varianza, existiendo solamente diferencias en las concentraciones ensayadas, mas no en el tipo de extracto (Anexo 17). Lo mismo se puede corroborar con el porcentaje de la inhibición de la motilidad intestinal de ambos extractos (Figura 5), donde, con el extracto metanólico se obtuvo 18,84; 56,86 y 76,04 % y con el clorofórmico, 29,81; 45,99 y 62,61 %, a las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg, respectivamente, frente al fármaco de referencia atropina, que mostró un 84,59% de inhibición de la motilidad intestinal (Anexo 15).

En la Figura 6, se muestra el porcentaje de inhibición de enteroestancamiento. Se puede evidenciar que existe diferencia entre los extractos clorofórmico y metanólico; sin embargo, las dosis experimentales son similares; tal es así que a las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg el enteroestancamiento con el extracto clorofórmico fue de 82,74; 75,74 y 61,87 %, frente a su respectivo control loperamida, con un 57,38 %; mientras que con el extracto metanólico fue de 50,18; 60,21 y 45,58 % frente a su control respectivo con un 42,37 % (Anexo 16).

La motilidad gastrointestinal está regulada por numerosos mediadores, principalmente acetilcolina, que logra sus efectos contráctiles a través de un aumento de Ca^{2+} citosólico³² y que media su acción por la estimulación de receptores muscarínicos M_3 .³³ Precisamente los trastornos de la motilidad se tratan mediante fármacos anticolinérgicos.³⁴

En otro trabajo de investigación similar con la misma especie, se observó que el extracto hidroalcohólico a una dosis de 400 mg/kg mostró mejor efecto.³⁵

Muchas especies de la familia Asteraceae comparten los mismos metabolitos secundarios. Tal es así que *Marrubium vulgare* L., en un modelo *in vitro*, sobre la

actividad antiespasmódica, mostró mejor actividad dosis dependiente con 500 mg/kg.³⁶

Se ha descrito lactonas sesquiterpénicas con actividad antiespasmódica en algunas fracciones aisladas a partir de *Cynarascolimus* en íleon de cobayo. La fracción de diclorometano mostró los efectos biológicos más prometedores con una concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) a 0,93 mg/ml. Su principal componente activo, la sesquiterpenlactona cinaropicrina, exhibió una potente actividad.¹⁸

Siendo los alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas y principios amargos con mayor presencia en ambos extractos, se puede atribuir que la actividad antiespasmódica posiblemente se deba al sinergismo de todos estos, principalmente, flavonoides, taninos, alcaloides y lactonas.³⁷

Probablemente, al igual que la atropina, los alcaloides presentes en los extractos ensayados posean en su estructura química nitrógeno y un puente éster por ello se comporta como antagonista competitivo de la acetilcolina y otros estimulantes muscarínicos.³⁸

No se podría esclarecer exactamente el sitio de acción de los extractos clorofórmico y metanólico por el cual ejercen su efecto biológico, si no que podrían actuar interfiriendo varios sitios correspondientes a la cascada intracelular que se desencadenaría por activación de los receptores muscarínicos. O por contracciones mediadas por canales dependientes del Ca⁺², ya sea actuando sobre canales iónicos que modifiquen la polaridad de la membrana o alterando la función de los componentes intracelulares implicados en la contracción del músculo liso intestinal.³⁹

Así, nuestros resultados confirman la actividad antiespasmódica del extracto clorofórmico y metanólico de *Ambrosia arborescens* Mili. "marco", apoyando y justificando su uso popular como remedio para tratar problemas gastrointestinales.

V. CONCLUSIONES

1. Los extractos clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" presentan actividad antiespasmódica, por disminuir la motilidad intestinal.
2. El tamizaje fitoquímico de los extractos clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" presentan principalmente alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenoides-esteroides y principios amargos seguidos de compuestos fenólicos, taninos.
3. Los extractos clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" a las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg, poseen efecto antiespasmódico similar a la atropina con el ensayo *in vivo* de motilidad intestinal y del mismo modo, similar a la loperamida en el ensayo *in vivo* de enteroestancamiento inducido por aceite de ricino.
4. La dosis de los extractos clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" con mayor eficacia sobre la motilidad intestinal y enteroestancamiento inducido por aceite de ricino, fue 400 mg/kg, en ambos casos.

VI. RECOMENDACIONES

1. Continuar con el estudio fitoquímico y farmacológico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" ya que constituye una alternativa terapéutica para trastornos gastrointestinales.
2. Se deben realizar estudios con el fin de aislar, elucidar y proponer el mecanismo de acción de los compuestos responsables de la actividad antiespasmódica.
3. Realizar estudios más minuciosos sobre la toxicidad de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kvist L, Oré I, Gonzales A, Llapapasca C. Estudio de plantas medicinales en la amazonía peruana: una evaluación de ocho métodos etnobotánicos. *Folia amazónica*. 2001; 12:1-2.
2. García M, Martínez T, Morón R. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper aurintum* en intestino. *Rev Cubana Plant Med [revista en internet]* 2001 [acceso junio 2012], (1):19-22. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S10287962001000100005&script=sci_arttext
3. Vera M. Estudio fotoquímico de la flora del Ecuador: *Ambrosia arborescens*. [Tesis]. Ecuador: ESPE. Facultad de Ingeniería en Biotecnología; 2008. Disponible en: repositorio.Espe.edu.cc/bitstream/21000/820/1/-ESP019541.pdf.
4. Bruneton J. Elementos de fitoquímica y farmacognosia. Zaragoza: Editorial Acriba S.A.; 1991.
5. Diez J. Efecto antiespasmódico de *Satureja brevicalyx* Epl "wayra muña" sobre íleon aislado de cobayo. Área de Investigación Bioquímica; Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho–Perú. 2002.
6. Espinoza P. Efecto antiespasmódico de los extractos de *Melissa officinalis* L. "toronjil". [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas; 2004.
7. Yuncacallo L. Efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. "pampa salvia" en el íleon aislado de cuy. [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas; 2005.
8. Camasca A. efecto antiespasmódico del extracto acuoso de la hojas de *Senecio nutans* "wiscataya" en intestino de ratones albinos [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas; 2010.
9. 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
10. Chalchat C, Maksimovic A, Petrovic D, Gorrunovic S, Dodervic S, Mraovic M. Chemical composition and antimicrobial activity of *Ambrosia artemisiifolia* L. essential oil. *Journal of essential oil research. [Revista en internet]* 2004 [acceso junio 2012]. 16: 270–273. Disponible en: http://www.academia.edu/3255621/Chemical_composition_and_antimicrobial_activity_of_Ambrosia_artemisiifolia_L_Essential_Oil
11. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Editorial Omega; 2003.
12. Cruz P. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de "manzanilla" *Matricaria chamomilla*, "matico" *Aristiguetia glutinosa* y "marco" *Ambrosia arborescens* para neofármaco. [Tesis] Riobamba–Ecuador. 2009. Disponible en: <http://www.losmedicamentos.net/articulo/tesis-de-grado>
13. Ochoa C, Chapoñan M, Granda C, Quintana W, Chaquillo X, Puerta E, Gutiérrez G. Efecto antidiarreico y antiespasmódico del extracto metanólico de *Punica granatum* L. (granada) en ratones. Departamento de farmacología, Facultad de Medicina San Fernando Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2008. [Tesis]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/Anales/v69_sup/pdf/a05v69sup.pdf

14. Ramírez F. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lam.) Kuntse "canchalagua" en ratas albinas. Unidad de Post Grado; Facultad de Farmacia y Bioquímica; Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. 2010
15. Dupuy O, Murillo, R. y Bonilla, J. Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Virguiera sylvatica* y *Decachaeta thieleana* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos. *Rev. Biol. Trop.*; 56(3). [revista en internet]. 2008 [acceso junio 2012] Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X08001007>
16. Evans W. Farmacognosia. México:Edit. Interamericana Mc Graw Hill.; 1991.
17. Arroyo J, Rojas J, Changueen. Manual de Modelos Experimentales de Farmacología. Primera Edición. Lima-Perú. Publicaciones ASDIMOR. 2004.
18. Emendorfer F, Bellato F, Floriani V, Cechinel V, Yunes R, Delle F, Maia A. Antiespasmódic activity of fractions and cynaropicrin from *Cynara scolymus* on guinea-pig ileum. *Notes Biol. Pharm. Bull.* [revista en internet] 2005; [acceso junio 2012] 28(5):902-904. Disponible en: http://bpb.pharm.or.jp/bpb/200505/b05_0902.pdf
19. Mostacero J, Mejía F. Taxonomía de fanerógamas peruanas. Lima: CONCYTEC; 1993.
20. Cotillo P. Farmacología Mecanismo de acción y Glosario. Edit. UNSCH. Ayacucho – Perú.1998.
21. Berne R, Levy M. Fisiología. Madrid. Mosby/Doyma; 1995.
22. 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_orfo2009-externo.pdf
23. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Farmacología. 4ª edición. Barcelona: Editorial Harcourt S.A; 2000.
24. Litter M. Farmacología experimental y clínica. 7ª edición. Buenos Aires: Editorial El Ateneo; 1992.
25. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. México: Edit. Mc Graw Hill Interamericana; 1996.
26. Foye W. Principios de Química Farmacéutica. Barcelona: Edit. Reverté S.A.; 1992.
27. Serrano L. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de íleon de cobayo [Tesis doctoral]. España: Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2005.
28. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales. Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos; 2000.
29. Morón F, Martínez M, Morón D. Disminución del tránsito intestinal en ratones por tintura de guayaba (*Psidium guajava* L.) oral. *Rev. Cubana Plant. Med.* [revista en internet] 1999 [acceso junio 2012]; 3(2):54-56.
30. Ukwuani AN, Salihu S, Anyanwu FC, Yanah YM, Samuel R. Antidiarrhoeal activity of aqueous leaves extract of *Vitex donian*. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research.* [revista en internet]. 2012. [acceso junio 2012]; (483):40 Disponible en: <http://www.academicjournals.org/jmpr/pdf/pdf2008/October/Naveen%20et%20al.pdf>.
31. Bigovic D. Relaxant effect of ethanol extract of *Helichrysum plicatum* (Asteraceae) on isolated rat ileum contraction. *Molecules* [revisita en internet]. 2010 [acceso junio 2012]; 15:3391-3401. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1420-3049/15/5/3391>
32. Gilani A, Bashir S, Janbaz K, Shah A. Presence of cholinergic and calcium channel blocking activities explains the traditional use of *Hibiscus*

- rosasinensis* in constipation and diarrhoea. *Journal of ethnopharmacology* [revisita en internet].2005 [acceso junio 2012]; (102):289-294. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16182481>.
33. Hardman H, Limbird L. Las bases farmacológicas de la terapéutica. México, McGraw Hill Interamericana. 2003, pp 163-181.
 34. 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.
 35. Tapahuasco L. Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de *Ambrosia arborescens* Mill." en intestino de ratones albinos. [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas; 2012.
 36. Espinoza A. Efecto antiespasmódico de *Marrubium vulgare* L. "oje jora" en íleon aislado del cuy. [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas; 2006.
 37. 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
 38. Flórez J. Farmacología humana. 2da ed.; Barcelona: Editorial Científicas y técnicas S.A.; 1992.
 39. 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.

VIII.ANEXOS

Anexo 1

Tabla 2. Certificado de la clasificación taxonómica



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. **Maryzol, CUAREZ VEGA**, 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
SUBCLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Ambrosia
ESPECIE	:	<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.
N.V.	:	"marco"

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

Ayacucho, 15 de Agosto del 2012

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

Dña. Laura Hernández

Anexo 2

Tabla 3. Certificado sanitario de los animales de experimentación.



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 277-2012

Producto	: Ratón albino	Cepa	: Balb/c/CNPB
Especie	: <u>Mus musculus</u>		
Lote N°	: M-42-2012		
Peso	: 20 a 24 gr. (31 a 34 días)	Cantidad	: 40 (machos y hembras)
Producto	: Ratón albino	Cepa	: Balb/c/CNPB
Especie	: <u>Mus musculus</u>		
Lote N°	: M-42-2012		
Peso	: Mayores de 25 gr. (1 mês 1/2)	Cantidad	: 70 (hembras)
G.R.	: 026610		
Fecha	: 17.10.2012	Destino	: Cuarez Vega, MARYZOL Ayacucho.

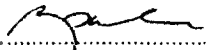
El Médico Veterinario que suscribe, Arturo Rosales Fernández, Coordinador de Bioterio, **CERTIFICA**, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

- * Referencia : P.R.T-CNPB-153, Procedimiento para el Ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para animales de experimentación.

Chorrillos, 17 de Octubre del 2012

(fecha de entrega)

NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.


M. V. Arturo Rosales Fernández
C.M.V.P. 1586

Anexo 3

Tabla 4. Descripción botánica.

Ambrosia arborescens Mill "marco"

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Planta arbustiva ramosa de 1 a 2 metros de alto, tallos y ramas ásperas en la base y piloso en la parte superior; hojas alternas bipinnadas, de 5 a 10 cm de largo, pubescente en ambas superficies siendo más densa en el envés, flores unisexuales, dispuestas en capítulos masculinos ubicados en la parte superior y femeninos en la parte inferior del mismo eje. Los capítulos a su vez se disponen en racimos terminales. Los capítulos masculinos coramente pedicelados, el involucre de forma hemisférica, con brácteas soldadas, glanduloso – pilosas, con pocas flores unisexuales masculinas anchamente tubulosas, glabras y de un color amarillento, páleas del receptáculo lineal – subuladas, hialinas. Los capítulos femeninos sésiles rodeados de brácteas involucrales foliáceos, desiguales cubiertos de pelos blancos y largos conteniendo numerosas flores femeninas tubulosas. Fruto aquenio, ovoide rostrado con cuatro puntas prominentes y ganchudas hacia el ápice.

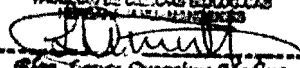
HABITAT

Crece al borde de caminos, cercos, borde de las casas, se propagan mediante semillas.

USOS

El marco es muy conocido en la zona y usado como planta medicinal, los lugareños la utilizan en medicinas populares como antirreumático, antihemorroidal, para diarreas y cólicas, tomando en cocimiento las ramas y las hojas, la infusión de las inflorescencias como vermífugo y el cocimiento de la raíz en neuralgias e histerismo.

Ayacucho, 15 de agosto del 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL
SAN CRISTÓBAL DE HUACAYBANDA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Rosa Lourdes Quispe Medina
JEFE

Anexo4

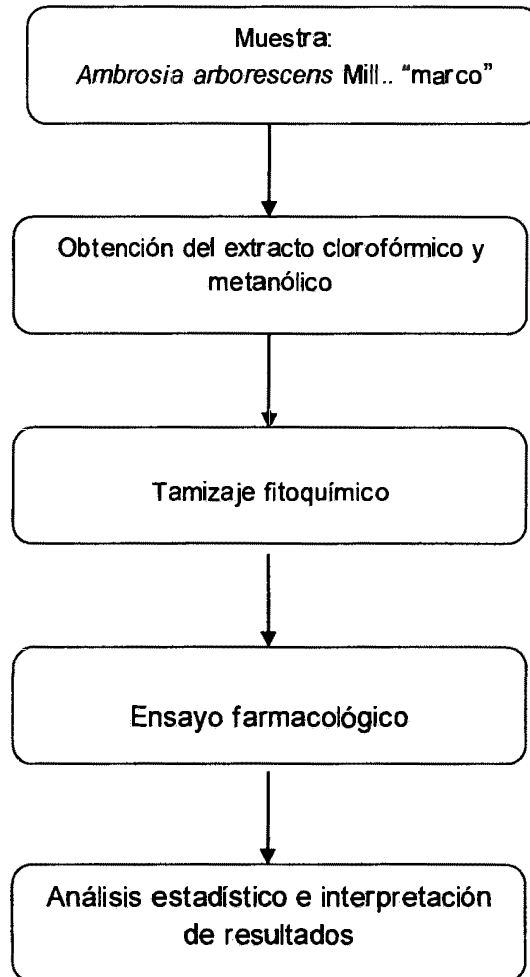


Figura 7. Flujograma del diseño metodológico.

Anexo 5

Tabla 5. Reacción de identificación de metabolitos secundarios.

Metabolito secundario	Ensayo	Observación
Fenoles y/o taninos	Tricloruro férrico	Coloración verde intenso
Flavonoides	Shinoda	Coloración amarilla
Lactonas	Baljet	precipitado marrón
Saponinas	Espuma	Formación de espuma
Triterpenoides- esteroides	Lieberman-Buchard	Coloración verde intenso
Catequinas	Catequinas	Fluorescencia verde carmelita
	Dragendörff	Precipitado naranja
Alcaloides	Wägner	Precipitado verde claro
	Mayer	Precipitado blanco
Aminoácidos libres	Ninhidrina	Coloración azul violáceo
Quinonas	Börntrager	Color rojo
Azúcares reductores	Benedict	coloración rojo claro

Anexo 6



Figura 8. Recolección de la muestra.

Anexo 7



Figura 9. Concentración de la muestra

Anexo 8

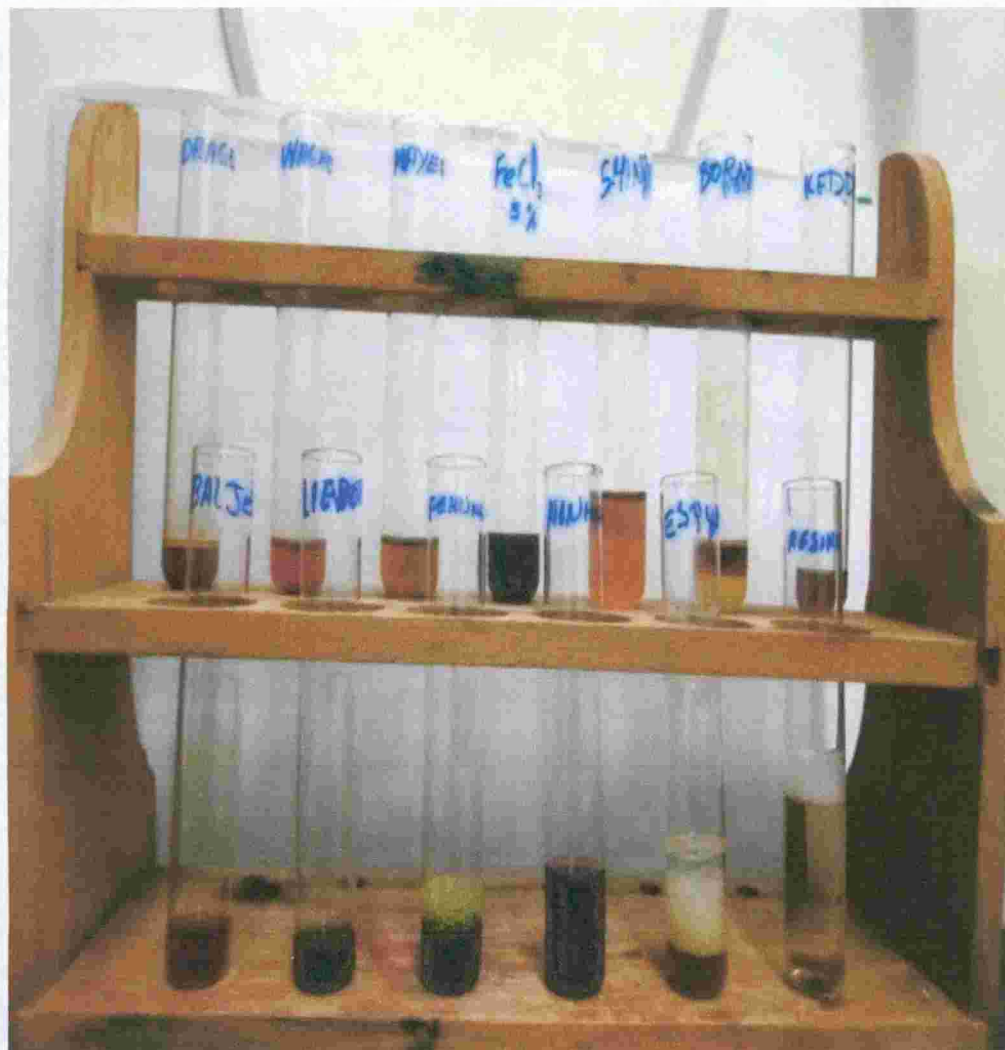


Figura 10. Tubos de ensayo de la prueba fitoquímica del extracto metanólico.

Anexo 9



Figura 11. Tubos de ensayo de la prueba fitoquímica del extracto clorofórmico.

Anexo 10



Figura 12. Preparación y administración de los extractos a la dosis respectiva

Anexo 11

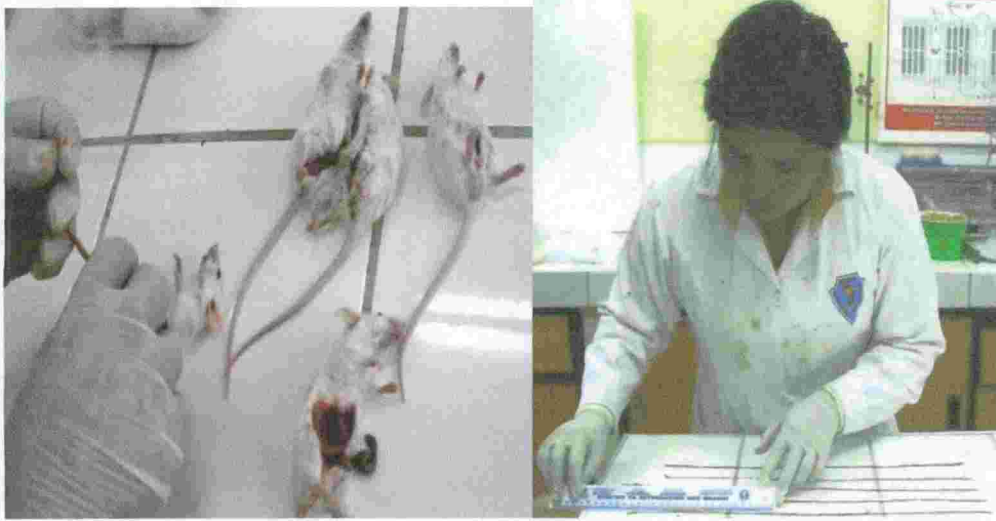


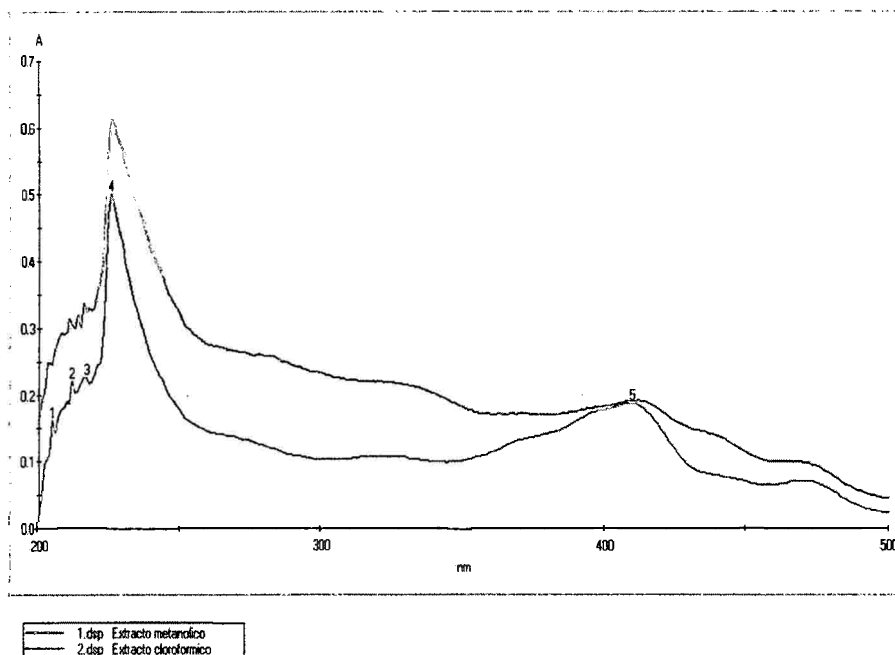
Figura 13. Disección y extracción del intestino de los ratones y medición del recorrido del carbón activado.

Anexo 12



Figura 14. Procedimiento para la determinación de enteroestancamiento.

Anexo 13



.dsp Extracto metanolico					
Maxima		Threshold: 0.01 A			
1	211 nm;	0.314 A	2	214 nm;	0.319 A
3	216 nm;	0.337 A	4	226 nm;	0.613 A
5	412 nm;	0.192 A			
.dsp Extracto cloroformico					
Maxima		Threshold: 0.01 A			
1	205 nm;	0.161 A	2	212 nm;	0.220 A
3	217 nm;	0.227 A	4	226 nm;	0.500 A
5	410 nm;	0.187 A			

Figura 15. Curva espectral del extracto clorofórmico y metanólico.

Anexo 14

Tabla 6. Porcentaje del tránsito intestinal

Extracto	Tratamientos				
	Blanco	Atropina	100mg/kg	200mg/kg	400mg/kg
Metanólico	80,56 ± 7,26	13,36 ± 2,39	60,19 ± 6,77	36,02 ± 6,55	18,70 ± 1,59
Clorofórmico	92,18 ± 1,64	10,62 ± 1,88	54,38 ± 5,20	42,10 ± 7,69	25,43 ± 1,26

Anexo 15

Tabla 7. Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal

Extracto	Tratamientos			
	Atropina	100mg/kg	200mg/kg	400mg/kg
Metanólico	84,59 ± 3,14	18,84 ± 10,30	56,86 ± 6,32	76,04 ± 1,82
Clorofórmico	85,77 ± 1,66	29,81 ± 5,63	45,99 ± 10,50	62,61 ± 5,56

Anexo16

Tabla 8. Porcentaje de la inhibición del enteroestancamiento.

Extracto	Tratamientos			
	Loperamida	100mg/kg	200mg/kg	400mg/kg
Metanólico	42,37±18,57	50,18±26,61	60,21±19,02	45,58±26,09
Clorofórmico	57,38 ± 16,20	82,74 ± 8,36	75,74 ± 27,42	61,87 ± 21,75

Anexo 17

Tabla 9. Análisis de varianza del porcentaje de tránsito intestinal de los extractos clorofórmico y metanólico.

			Suma de Cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Tránsito intestinal (%)	Covariables	Tratamientos	6202,594	1	6202,594	173,094	0,00
	Efectos principales	Tipo de Extracto	40,903	1	40,903	1,141	0,295
		Modelo	6243,498	2	3121,749	87,118	0,00
		Residual	967,510	27	35,834		
		Total	7211,007	29	248,655		

Anexo 18

Tabla 10. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal de los extractos clorofórmico y metanólico.

			Suma de Cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Inhibición de la motilidad intestinal (%)	Covariables	Tratamientos	10,127,250	1	10121,250	117,412	0,00
	Efectos principales	Tipo de Extracto	148,163	1	148,163	1,718	0,201
	Modelo		10275,413	2	5137,707	59,565	0,00
	Residual		2328,852	27	86,254		
	Total		12604,265	29	434,630		

Anexo 19

Tabla 11. Análisis de varianza de porcentaje de inhibición de enteroestancamiento de los extractos clorofórmico y metanólico.

			Suma de Cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Inhibición del enteroestancamiento (%)	Covariables	Tratamientos	811,028	1	811,028	1,677	0,206
	Efectos principales	Tipo de Extracto	3,455,489	1	3,455,489	7,144	0,013
		Modelo	4,266,518	2	2,133,259	4,411	0,022
		Residual	13,058,983	27	483,666		
		Total	17,325,501	29	597,431		