

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



**Actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados
de las hojas de *Satureja brevicalix* Epi. "wayra muña".
Ayacucho - 2011.**

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

**PRESENTADO POR
Bach. GONZALES ATAQ, Gerardo**

AYACUCHO-PERÚ

2011

*A mis hermanos; por su cariño, sus
constantes estímulos y comprensión
de siempre, que comparten la alegría
de mi logro profesional.*

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a la Facultad de Ciencias Biológicas y a todos los docentes de la E.F.P. de Farmacia y Bioquímica que laboran en ella por su invaluable apoyo académico y presentar ante la sociedad 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 cristalización de los objetivos de la presente tesis.

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

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	04
2.1. Descripción botánica de la familia Lamiaceae.	04
2.2. Descripción del género <i>Satureja</i> .	04
2.3. Distribución geográfica del género <i>Satureja</i>	05
2.4. <i>Satureja brevicalyx</i> Epl.	05
2.5. Flavonoides	08
2.6. Flavonoides en el Género <i>Satureja</i>	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1. Lugar de Ejecución.	14
3.2. Materiales	14
3.3. Diseño metodológico	15
3.4. Diseño Experimental	16
3.5. Análisis Estadístico	16
IV. RESULTADOS	17
V. DISCUSIÓN	20
VI. CONCLUSIONES	24
VII. RECOMENDACIONES	25
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
ANEXO	29

Actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalex* Epi. "wayra muña" Ayacucho - 2011

Autor: Gonzales Atao, Gerardo

Asesores: Mg. Enrique AGUILAR FELICES

Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Farmacología del EFP de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga entre enero a junio del 2011, con el objetivo de determinar la actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalex* Epl. "wayra muña" y comparar esta actividad con la atropina.

El estudio farmacológico *In Vitro* se realizó con el método de órganos aislados en íleon de ratas (Magnus). se empleó los flavonoides aislados a concentraciones de 0.5%, 1.0% y 1.5 %. Para el ensayo se empleó 5 lotes de 5 unidades cada una a las que se les sacrificó y se extrajo el íleon, el cual se colocó y lavó en el líquido nutricio de Tyrode, seguidamente se añadió Acetilcolina, y luego a los Flavonoides extraídos en diferentes concentraciones y se comparó con la atropina para medir el efecto antiespasmódico empleando un Quimógrafo.

Los flavonoides aislados fueron caracterizados como la apigenina y la naringenina, siendo la apigenina el flavonoide más importante. Así mismo demostraron tener actividad antiespasmódica similar a la atropina a una concentración de 1.0 %. Las concentraciones de 0.5 y 1.5 % demostraron tener menor actividad.

Palabras clave: *Satureja brevicalex* Epi. "wayra muña", actividad antiespasmódica, Flavonoides.

I. INTRODUCCIÓN

La región andina se caracteriza por tener una flora muy particular por la naturaleza del terreno (Brack, 1999), que se manifiesta por ser árido la mayor parte del año, pedregoso, no apto para las actividades agrícolas. Sin embargo, a través del tiempo ha permitido la supervivencia de especies que se adaptan fácilmente a estas condiciones, proveyendo al hombre de especies que han sido utilizadas como forraje, combustible, material de construcción y medicinales.

Satureja breviculix Epling, es una especie medicinal nativa de los andes sudamericanos ampliamente conocida por sus propiedades analgésicas y digestivas (Mostacero y Mejía, 2002) (Carhuapoma, 2002).

El interés por estudiar esta especie es iniciado por Soto (1999), quién evalúa su actividad analgésica y reporta por primera vez en su composición química la presencia de flavonoides. Sin embargo, hasta ahora ha despertado mayor interés, más por sus propiedades aromáticas por su contenido de aceites esenciales, llegándose a determinar exactamente su composición, el porcentaje de cada uno de sus componentes y algunas propiedades biológicas (Carhuapoma, 2007).

Los flavonoides son un grupo muy grande de metabolitos secundarios que provienen del metabolismo del ácido shikimico. Se caracterizan por ser polifenoles y hasta la fecha se conocen hasta catorce clases de flavonoides.

Todos tienen en una u otra manera cierto interés biológico, sin embargo, las flavonas y los flavonoles tienen gran interés por sus propiedades antioxidantes y por ende antiinflamatorias (López-Lázaro, 2009).

En varias especies del género *Satureja* se han estudiado sus flavonoides, destacándose la presencia de flavonas y flavonoles (Lizárraga y Abdala, 2004) (Moghaddam y col., 2007) (Alonso, 2009); siendo una flavona, la luteolina la que se presencia con mucha frecuencia en diferentes especies de éste género (López – Lázaro, 2009).

Siendo *Satureja brevicalex* Epling, una especie ampliamente utilizada en nuestra región y conociéndose la presencia de flavonoides, en el presente trabajo de investigación se ha propuesto aislarlos mediante técnicas cromatográficas, proponer su estructura química, utilizando técnicas espectrales, ultravioleta e infrarrojo y determinar su actividad antiespasmódica, relacionándolo con su estructura química.

Por estas consideraciones, nos propusimos los siguientes objetivos:

Objetivo General

- Determinar la actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalex* Epi. "wayra muña". Ayacucho - 2011.

Objetivos específicos.

- Comparar la actividad antiespasmódica con la atropina y Acetilcolina.
- Determinar la concentración de los Flavonoides con mejor actividad antiespasmódica.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Descripción botánica de la familia Lamiaceae

Familia compuesta con 224 Géneros y 5600 especies, se caracterizan por ser plantas herbáceas (anuales o perennes), los tallos y las ramas cuadrangulares o tetragonal generalmente con aceite esencial, aromático, hojas opuestas enteras, simples, pinnati-partidas o raramente compuestas, peciolados o sésiles, sin estipulas, mayormente pinnatinervias. Inflorescencia cimosa, pocas o muchas flores que se reúnen en pseudo espigas o capítulos. Flores hermafroditas solitarias a menudo sésiles, zigomorfas o raramente actinomorfas, con o sin bracteolas, Cáliz con 5 sépalos soldados, corola con 5 pétalos generalmente bilabiados, 2-4 estambres libres, gineceo con ovario súpero bicarpelar, 1 estilo y 2 estigmas, fruto tetraquenio, descompuestos en 4 núculas (muy raramente carnosas), semillas con endospermo escasa (Brack, 1993) (Font Quer, 1988) (Mostaceros y Mejía, 2002).

2.2. Descripción del género *Satureja*.

Son plantas herbáceas anuales o permanentes de unos 70 a 90 cm de altura, algo tiesos y un tanto ásperos al tacto, solo leñosas en la base. Son plantas con hojas enfrentadas, estrechas y agudas, con los bordes enteros y ciliados. Las flores son blancas o rosadas y nacen de las axilas de las hojas superiores para formar ramilletes terminales con las flores echadas todas a un lado, las flores

son muy pequeñas de 3,5 a 8 mm. Se encuentran divididos en 5 dientes puntiagudos con quince nervios muy realzados y cinco dientes triangulares de 0,5 mm. En las hojas de alguna de las especies de *Satureja* se distinguen numerosos hoyitos, en cada uno de los cuales se aloja una glándula repleta de esencia, la cual comunica a la *Satureja* el intenso aroma que despide (Font Quer, 1988) (Mostaceros y Mejía, 2002).

2.3. Distribución geográfica del género *Satureja*

El género *Satureja* se desarrolla especialmente en las montañas secas pedregosas, en las laderas o colladas y toda suerte de matorrales de los terrenos calcáreos de gran parte de España (Font Quer, 1988). Cuenta con unas 200 especies en el mundo, todas estas especies son de regiones templadas y tropicales de ambos hemisferios de la Tierra. En el Perú se han identificado unas 26 especies, de las cuales 20 son endémicas. La *Satureja brevicalyx* Epling es una especie endémica de las regiones altoandinas sureñas del Perú. (Brako y Zarucchi, 1993 citado por Carhuapoma, 2007) (Chumacero y col., 2003) (Mostaceros y Mejía, 2002).

2. 4. *Satureja brevicalyx* Epl.

2.4.1. Taxonomía

Según el sistema de clasificación de A. Cronquist (1981), la especie se ubica en la siguiente categoría taxonómica:

DIVISIÓN : Magnoliophyta
CLASE : Magnoliopsida
Sub- CLASE : Asteridae
ORDEN : Lamiales
FAMILIA : Lamiaceae
GÉNERO : *Satureja*
ESPECIE : *Satureja brevicalyx* Epling

Fuente: Cronquist (1988) y Brako y Zarucchi (1993) citado por Carhuapoma (2007).

Sinonimia vulgar: “urqu muña”, “wayra muña”, “sacha muña”, “muña”, “inca muña”, “salqa muña” “cjunumuña”, “cjuña”, “konoc” y “orégano de los incas”. (Chumacero y col., 2003) (Carhuapoma, 2002).

2.4.2. Descripción botánica

Es de porte arbustiva perennifolio, erguido de 1.0, 1.5 m 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 (Chumacero y col., 2003) (Carhuapoma, 2002).

2.4.3. Distribución geográfica

En el Perú *Satureja brevicalyx Epi.* crece en territorios alto andinos mayormente entre los 3500 y 3800 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. Los lugares peruanos donde esta planta se desarrolla se encuentra en Cuzco, Apurímac, Huancavelica, Junín y en mayor cantidad y siendo vernácula y aborigen del departamento de Ayacucho (Magallanes y col., 1994) (Brako y Zarucchi, 1993; citado por Carhuapoma, 2007) (Carhuapoma, 2002) (Chumacero y col., 2003) (Mostacero y col., 2002).

2.4.4. 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. (Soto, 1999) (Chumacero y col., 2003) (Carhuapoma, 2002).

2.4.5. Composición química

El extracto hidroalcohólico evidencia los siguientes metabolitos: resinas, azúcares reductores, catequinas, lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, flavonoides y aceite esencial. (Soto, 1999) Carhuapoma (2002), realizó un estudio detallado de la composición química del aceite esencial reportando la presencia de pulegona (27.2%), linalol (20.3%), mentona (11.1%), isomentona (8.3%), β -cariofileno (6.5%) y otros compuestos en menor proporción.

2.4.6. Propiedades farmacológicas

Soto (1999), determinó la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *S. brevicalyx* Epling a 400 mg/kg de peso, aproximando tal actividad a la del ácido acetilsalicílico, pero de menor actividad que el ketorolaco. Díez (2003), estudió la actividad antiespasmódica sobre intestino aislado de cobayo, de una infusión acuosa al 5% de hojas y sumidades floridas de *S. brevicalyx* Epling, mostrando una ligera acción antiespasmódica frente al N-butilbromuro de hioscina. Palomino (2005), demostró que el extracto acuoso liofilizado de las hojas de *S. brevicalyx* Epling posee capacidad de captación de radicales libres, en relación a la vitamina C. Además no halló diferencia estadísticamente significativa en los niveles de lipoperoxidación, glutatión y proteínas hepáticas, utilizados como medida de estrés oxidativo. Carhuapoma (2007), estudió la actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante de su aceite esencial y Mendoza (2007), demostró la actividad hepatoprotectora del extracto acuoso de sus hojas, atribuyéndole dicha actividad a los flavonoides, por su capacidad antioxidante, es decir, como agente neutralizador de los radicales libres, generadores del daño hepático.

2.5. Flavonoides

2.5.1. Propiedades químicas (Bruneton, 2001) (Lock de Ugaz, 1994) (Kuklinski, 2003)

Constituyen uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de metabolitos secundarios. Los flavonoides son polifenoles de tipo diaril-propano ($Ar-C_3-Ar$) unidos, la mayoría, a una cadena de azúcar: constituidos por un anillo bencénico condensado a una γ -pirona (o sus derivados) sustituida en posición 2 por un radical fenilo.

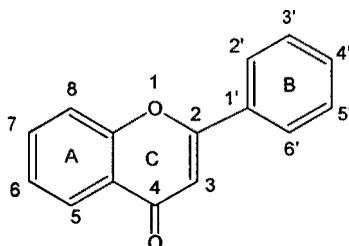
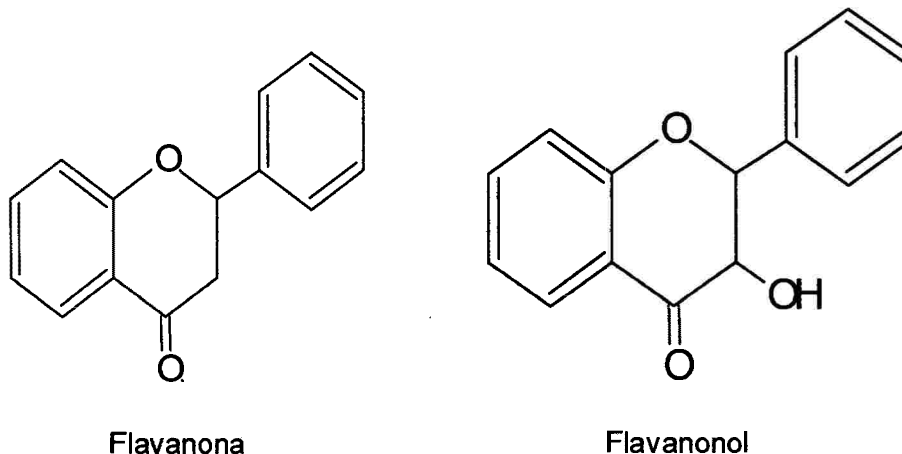
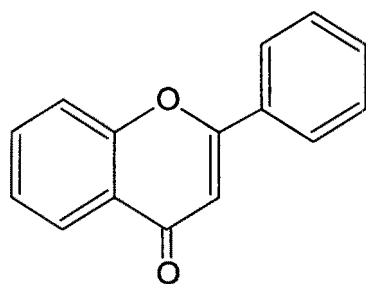


Figura N° 1. 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides

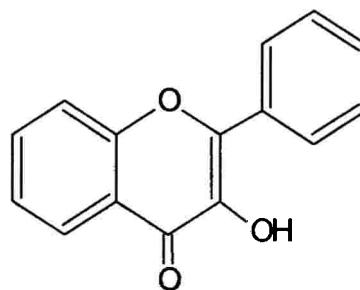
En todas las clases de flavonoides, la biosíntesis justifica la frecuente presencia de al menos tres hidróxilos fenólicos en C-5, C-7 y C-4' de la genina, aunque algunos de ellos puede faltar.

De acuerdo al grado de oxidación los flavonoides pueden ser: auronas, chalconas, flavanonas, flavanonoles, flavonas, flavonoles, antocianinas, antocianidinas, catequinas y biflavonoides.





Flavona



Flavonol

FIGURA Nº 2. Algunos núcleos básicos de los flavonoides (Bruneton,2001).

Algunos núcleos básicos de los flavonoides (Bruneton, 2001) Lock de Ugaz (1994) y Villar del Fresno (1999), refieren que las flavonas y flavanoles dan coloraciones de amarillo a rojo, flavanonoles de rojo a magenta, flavanonas de rojo a magenta inclusive hasta violeta con la prueba de Shinoda, fluorescencia púrpura, celeste fluorescente a la luz ultravioleta y tienen absorbancias al ultravioleta entre 250 a 280 nm y 310 a 350 nm para las flavonas y 250 a 280 nm 380 a 385 nm los flavonoles.

2.5.2. Propiedades Biológicas (Bruneton, 2001; Villar del Fresno, 1999)

La acción antiinflamatoria que poseen muchos flavonoides se relaciona en parte con su interacción con diversas enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico. *In vitro*, los flavonoides polihidroxiados actúan preferentemente por la vía de 5-lipooxigenasa, mientras que los menos hidroxiados inhiben fundamentalmente la vía de ciclooxigenasa. *In vivo*, sin embargo, parecen comportarse como inhibidores duales. Esta diferencia de comportamiento, no exclusiva de flavonoides, se debe a la biotransformación que sufren en el organismo.

Los flavonoides, en general, poseen capacidad para neutralizar radicales libres, responsables cuando están dotados de un alto grado de reactividad, de la aparición de determinadas patologías o del agravamiento de las mismas. Esta acción antirradicalaria es, en algunos casos, heterogénea en relación a los

distintos tipos de radicales libres (anión superóxido, radical hidróxilo, etc.). Diferentes grupos de flavonoides interaccionan *in vitro* con el radical libre estable 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), que es utilizado para poner de manifiesto de manera general, su actividad antirradicalaria.

La capacidad de los flavonoides para prevenir la oxidación del ácido ascórbico es un hecho reconocido en la protección de esta vitamina en los zumos frescos de frutas. Es obvio que tal propiedad provee a los flavonoides de una actividad protectora de los sustratos oxidables (por ejemplo, membranas lipídicas).

Las investigaciones recientes inducen a pensar que existe una base común que explicaría los efectos farmacológicos de los flavonoides, considerándose la actividad antioxidante como la más probable para jugar este papel.

Martínez – Flores y col. (2002), resumieron las condicionantes estructurales que favorecen la actividad antirradicalaria, de la siguiente manera:

- Agrupamiento O-hidroxi en el anillo B. (La actividad aumenta con el número de hidroxilos sustituidos.)
- Doble enlace 2-3, en conjugación con una función oxo en 4.
- Presencia adicional de grupos hidroxilos en 3, 5 y 7 del núcleo A.

Esto hace que flavonas y, sobre todo, flavonoles se muestren como los más activos; sin embargo, otros flavonoides como los flavononoles también poseen actividad antirradicalaria.

2.6. Flavonoides en el Género *Satureja*

Escudero y col. (1985), describen la presencia de naringenin 7-O-rutinosido y eriodictol 7-O-rutinosido en las hojas de *Satureja acinos* y *Satureja montana*; y Sánchez de Rojas y col. (1996), la presencia de naringenina, eriodictol y luteolina en las hojas de *Satureja obovata*.

Lizarraga y Abdala (2004), reportan el aislamiento de flavonoides de las partes aéreas de *Satureja boliviana* (Benth.) Briq. siendo identificados como el

kaemferol 7-O-glucosido, kaemferol 3-O-xilitol glucósido, kaemferol 7-rhamnosido y quercetin 3-O-soforosido. El kaemferol y la quercetina son flavonoles que se diferencian por el grado de oxidación en el anillo B. (Figura Nº 3).

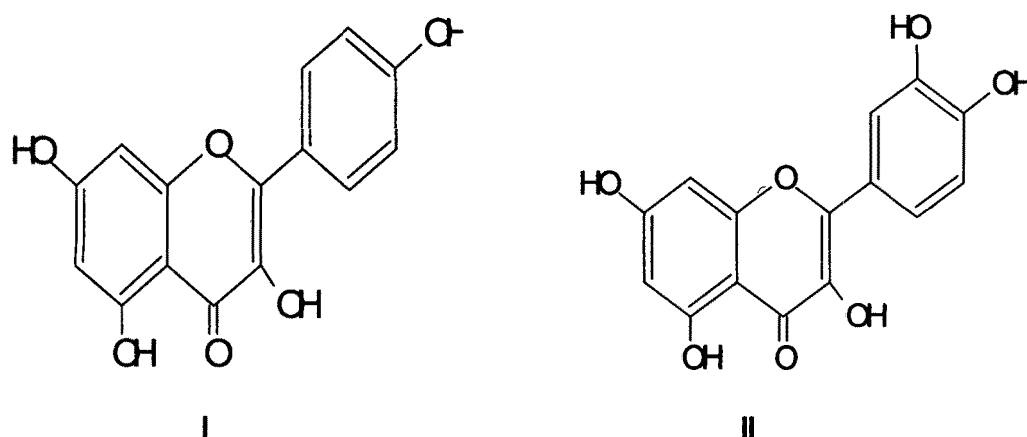


Figura Nº 3. Representación de (I) kaemferol y (II) quercetina

Moghaddam y col. (2006), aislaron un flavonoide de un extracto diclorometano de las partes aéreas de *Satureja khuzistanica* cultivada. Esta especie es utilizada como analgésico y antiséptico por la población del sur de Irán. El flavonoide fue identificado como 4', 5, 6-trihydroxy-3', 7-dimethoxyflavone.

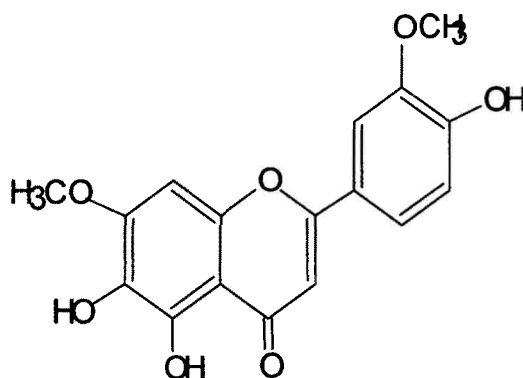


Figura Nº 4. Flavona aislada de *Satureja khuzistanica*.

Alonso (2009), investigando moléculas con actividad antioxidante aisló tres flavonoides de *Satureja macrostema*, siendo caracterizados por RMN ^{13}C y RMN ^1H . Los compuestos fueron identificados como la 5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona,

5-hidroxi-3, 6, 4'-trimetoxiflavona y la 5,4'-dimetoxi-7,3',5'-trihidroxi-flavanona.
(Figura Nº 4).

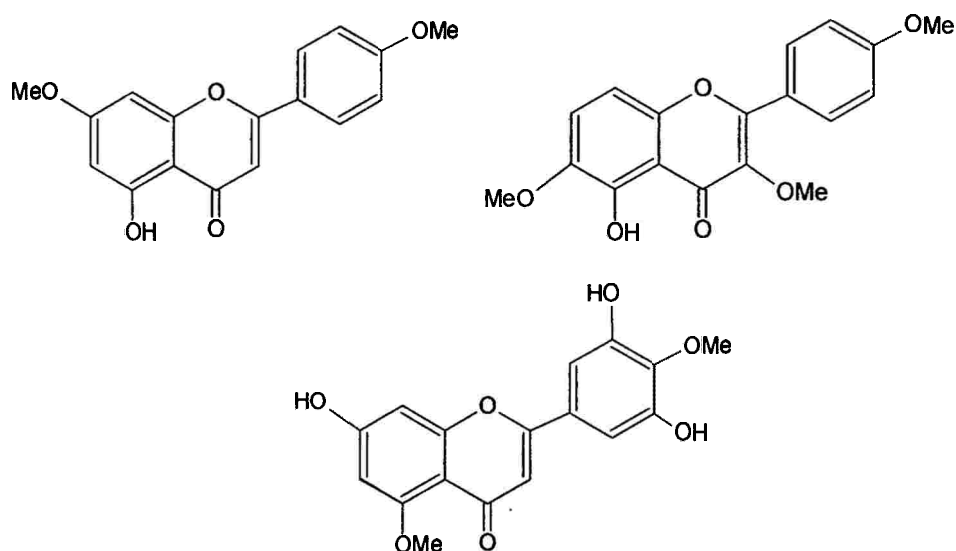


Figura Nº 5. Flavonas aisladas de *Satureja macrostema*

López – Lázaro (2009), en una revisión sobre sobre la distribución y propiedades biológicas del flavonoide luteolina, refiere que esta se encuentra presente en *Satureja obovata* y *Satureja parvifolia* (Figura Nº 6).

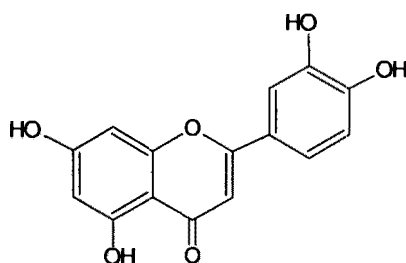


Figura Nº 6. Flavona luteolina

Gohari y col. (2009), estudiaron los flavonoides de *Satureja atropatana* Bonge a partir de un extracto de acetato de etilo y metanólico de las partes aéreas, logrando aislar e identificar cuatro flavonoides: 5, 6, 3'-trihidroxi-7, 8, 4'-trimetoxiflavona, 5, 6 – dihidroxi- 7, 8, 3', 4'- tetrametoxiflavona, 5, 6, 4' – trihidroxi- 7, 8, 3' –trimetoxiflavona y la luteolina (Figura Nº 7).

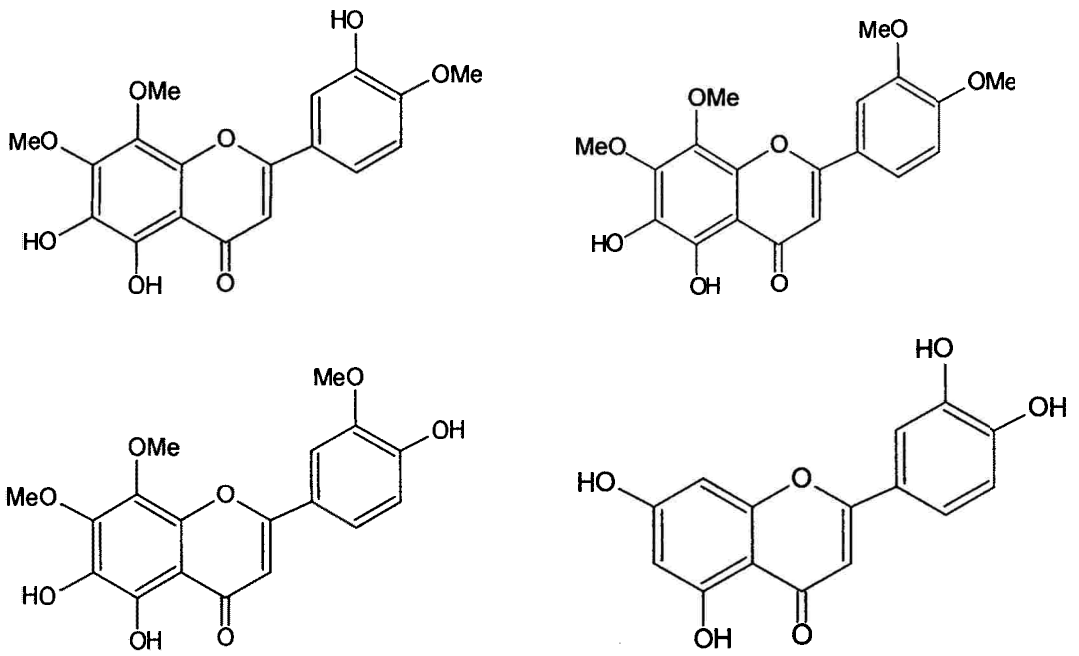


Figura N° 7. Flavonas aisladas de *Satureja atropatana*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de Ejecución

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Farmacología del Área de Farmacia, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de enero a junio de 2011.

3.1. Materiales

3.1.1. Flavonoides

Los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* Epl. Fueron gentilmente facilitados por el Profesor Enrique Aguilar Felices del Laboratorio de Farmacognosia, del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. (Aguilar, 2010)

3.1.2. Material Biológico

15 ratas albinas machos con peso entre 180 a 250 gramos de peso, en buen estado de salud, adquiridas en el Bioterio del Instituto Nacional de Salud (Chorrillos – Lima), con una semana de anticipación para su adecuación a las condiciones de laboratorio, con alimento pelletizado estándar y agua a voluntad.

3.3. Diseño metodológico

3.3.1. Determinación de la actividad antiespasmódica (Método de Magnus, 1968)

Fundamento

Consiste en la inducción de espasmos en fracciones de íleon aislado de rata (Acetilcolina) y evaluación del efecto antiespasmódico con la sustancia a evaluar, utilizando como patrón de referencia atropina.

Materiales

- Acetilcolina (Merck), se disolvió en agua destilada a una concentración de 5×10^{-4} (Anexo N° 1).
- Atropina 1 mg (Laboratorios Farminustria), se diluyó en agua destilada a una concentración de 5×10^{-5} (Anexo N° 2).
- Los flavonoides de *Satureja breviculix* Epl. se disolvieron en agua destilada a concentraciones de 0.5%, 1.0% y 1.5% respectivamente.

Procedimiento

- Se sacrificó las ratas con el peso de 180 a 250 gramos.
- Se obtuvo el íleon de las ratas.
- Los fragmentos de íleo de 3 a 4 cm. fueron colocados en placas petri
- Se agregó el líquido nutritivo de tyrode.
- Se observó la frecuencia de la contracción muscular con la ayuda del Quimógrafo.
- Se conservó a las celulares vivas de íleon con la ayuda del equipo de oxigenador.
- Se usó el intestino aislado de rata ya que las respuestas contráctiles expuestas son más notorias, lo que facilitó el trabajo, tal como recomienda Magnus.

- Después de encender el equipo Quimógrafo de 1 m. ha sido agregado 0.5 ml de Acetilcolina.
- 1 ½ min Detener el quimógrafo y lava la preparación y adicionar 0.5 ml de flavonoide.

La variable analizada fue el tamaño de la respuesta contráctil (mm) que producen los flavonoides, comparada a la respuesta contráctil con solución de acetilcolina. La concentración de los flavonoides fueron de 0.5%, 1.0%, 1.5%, y la solución de acetilcolina de $5 \times 10^{-4} M$. La respuesta contráctil de los Flavonoides se comparó con la respuesta contráctil frente a la atropina $5 \times 10^{-5} M$.

3.4. Diseño experimental

Se emplearon 5 lotes de ratas wistar de 5 unidades cada una y se procedió de la siguiente manera:

	ACh $5 \times 10^{-4} M$	Flavonoides 0.5%	Flavonoides 1 %	Flavonoides 1.5%	Atropina $5 \times 10^{-5} M$
Lote I	X				
Lote II	X	X			
Lote III	X		X		
Lote VI	X			X	
Lote V	X				X

3.5. Análisis Estadístico

Se determinó los valores estadísticos de tendencia central y de dispersión, la normalidad de los datos y la homogeneidad de sus varianzas. Se evaluó el efecto antiespasmódico por la variación de la respuesta contráctil inducida por la Acetilcolina previo tratamiento con la muestra problema, la cual se comparó con la respuesta contráctil inducida sólo con acetilcolina y de esta manera se evaluó la existencia de diferencias estadísticamente significativas de los diferentes tratamientos usando el análisis de varianza, a un nivel de confianza del 95%.

IV. RESULTADOS

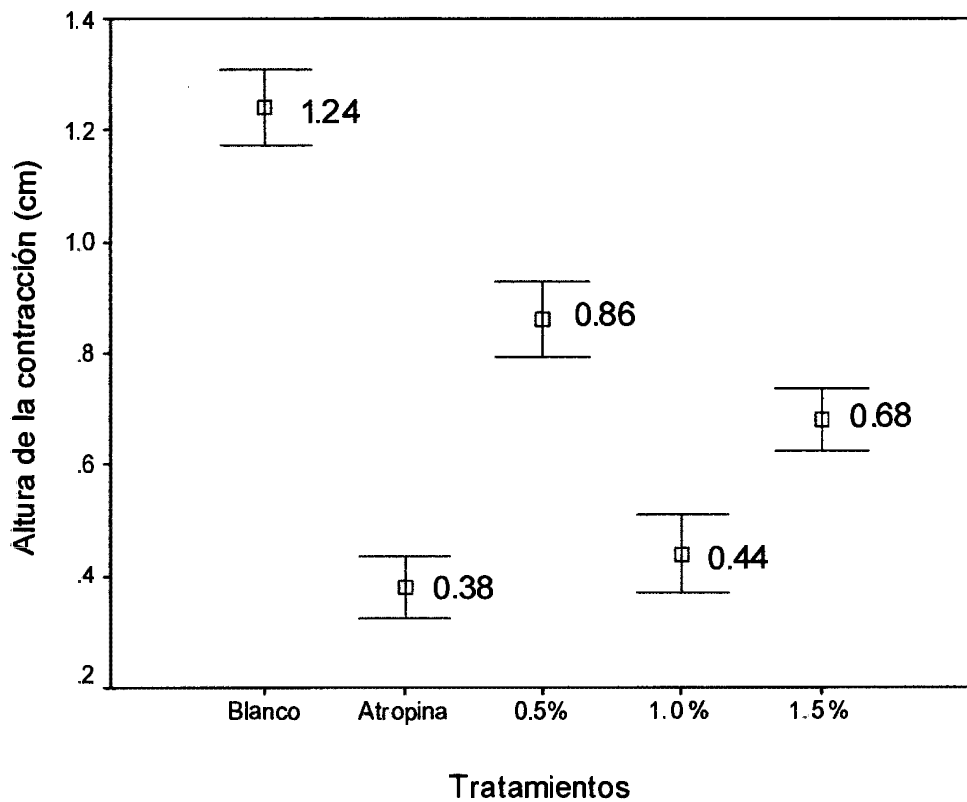


GRÁFICO Nº 1: Altura de la concentración del íleo aislado por efecto de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* “wayra muña” a diferentes concentraciones. Ayacucho- 2011.

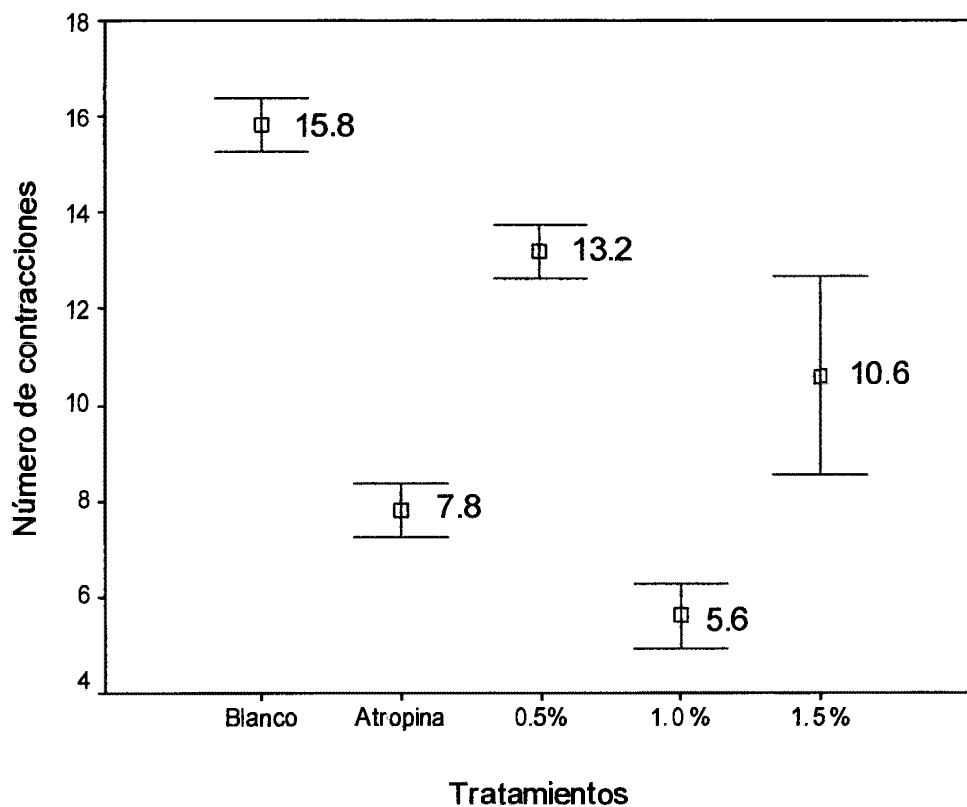


GRÁFICO Nº 2: Número de contracciones del íleo aislado por efecto de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* Epling “wayra muña” a diferentes concentraciones. Ayacucho – 2011.

V. DISCUSIÓN

Aguilar (2010), aisló dos flavonoides de las hojas de *Satureja breviculix* Epl., los mismos que fueron caracterizados mediante pruebas cromatográficas y espectrales como apigenina, que es el flavonoide principal y la naringenina (Anexo N° 4), el primero químicamente es una flavona y el segundo una flavanona. Con ambos flavonoides demostró que tenían actividad antiinflamatoria y antioxidante.

En el Gráfico N° 1, se observa la altura de las contracciones del íleo aislado de las ratas, con acetilcolina 5×10^{-4} M se alcanzó una altura de 1.24 cm en promedio y con atropina a 5×10^{-5} M una altura de 0.38 cm. Por lo tanto, la altura de las contracciones producto de los espasmos disminuyeron cuando se adicionó atropina a 5×10^{-5} M.

Esto significa que el método de Magnus funciona correctamente para evaluar la actividad antiespasmódica de una sustancia química.

Cuando se adiciona los flavonoides a las concentraciones de 0.5%, 1.0% y 1.5% respectivamente dentro del medio nutricio de Tyrode, se observa que la altura de las contracciones fueron 0.86 cm, 0.44 cm y 0.68 cm respectivamente.

Podemos afirmar que la concentración de 1.0% tiene una respuesta farmacológica cercana al patrón. Del mismo modo, no se pudo establecer una

relación dosis – respuesta, puesto que a mayor dosis no se obtuvo una mayor disminución de la altura de las contracciones.

Las diferencias entre la altura de las contracciones fueron contrastadas mediante el análisis de varianza (Tabla N° 1 y 2, ver Anexos) y observamos que existen diferencias farmacológicas entre los tratamientos ensayados. La prueba complementaria de Tukey corrobora que la atropina y los flavonoides al 1% tienen la misma respuesta farmacológica.

Por tanto, podemos afirmar que los flavonoides tienen la propiedad de modificar la altura de las contracciones inducidas por la acetilcolina 5×10^{-4} M.

El Gráfico N° 2, muestra el número de contracciones inducidas después de la adición de la acetilcolina 5×10^{-4} M al medio nutritivo de Tyrode, la respuesta antiespasmódica de la atropina 5×10^{-5} M. Después de la adición de los flavonoides, el número de las contracciones disminuye, al 0.5% produjo 13.2 contracciones, al 1.0% produjo 5.6 contracciones y al 1.5% 10.6 contracciones respectivamente. Aquí también no se manifiesta una dosis respuesta.

Las diferencias entre el número de contracciones fueron contrastadas mediante el análisis de varianza (Tablas N° 3 y 4, ver Anexos) y se demostró que existen diferencias entre los tratamientos ensayados. La prueba complementaria de Tukey precisa que la atropina y los flavonoides al 1% tienen respuestas farmacológicas similares.

Ghayur y col. (2007), exploraron las bases biológicas para el uso medicinal del flavonoide catequina, investigando si exhibe alguna actividad farmacológica sobre preparaciones de musculatura lisa. Hallaron que la catequina relaja de manera dosis dependiente el yeyuno de conejo, produciendo cambios de forma calcio-dependiente, bloqueando los canales de calcio y actividad sobre los receptores colinérgicos similares a la atropina. Concluyeron que la catequina, podría tener una actividad calcio antagonista, además la capacidad de producir

relajación del endotelio vascular, proveyendo una base farmacológica para la eficacia de la catequina en desordenes de hiperexcitabilidad del musculatura gastrointestinal, respiratorio y vasos sanguíneos de los tejidos blandos.

Heinrich y col. (2005), aislaron ocho flavonoides polimetoxilados y cuatro glicósidos flavónicos de las hojas de *Casimiroa tetrameria* utilizada tradicionalmente para tratar desórdenes gastrrointestinales. Evaluaron el efecto modulador sobre las contracciones en íleo aislado de cobayo inducidas por la histamina, reportando que mostraron un fuerte efecto inhibitorio sobre las contracciones.

Mohammad y col. (2008), evaluaron la actividad antiespasmódica de un extracto hidroalcohólico al 70% del bulbo deshidratado de *Allium cepa*, concluyeron que la actividad antiespasmódica no se debe a una acción sobre los β -adrenorreceptores, receptores opioides, producción de óxido nítrico o la activación de los canales de potasio; sino más bien, el flavonoide quercetina presente en el bulbo induce un efecto antiespasmódico vía los canales de calcio.

Aguilar (2010), identificó en las hojas de *Satura je brevicalex* la presencia de los flavonoides, caracterizados mediante pruebas espectrales como Epigenina que es el principal y naringenina (Anexo N° 4) el primero químicamente es una flavona y el segundo una flavonona.

En el gráfico N° 1 se observa la altura de las contracciones del íleo aislado de las ratas, con acetilcolina 5×10^{-4} M. se alcanzó una altura de 1.24 en promedio, y con atropina a 5×10^{-5} M una altura de 0.38 cm.

Esto significa que el método de Magnus funciona correctamente para evaluar la actividad antiespasmódica de una sustancia química.

Cuando se administra los flavonoides a los concentraciones de 0.5%, 1.0% y 1.5% respectivamente, se observa que la altura de los contracciones fueron, 0.86 cm, 0.44 cm y 0.68 cm respectivamente.

Podemos afirmar que la concentración de 1.0%, tiene una respuesta farmacológica cercana al patrón.

Las diferencias fueron contrastadas mediante el análisis de varianza (ANEXO N° 5 y 6) y observamos que existe diferencia entre los tratamientos ensayados.

La prueba complementaria de Tukey corrobora que la atropina y los flavonoides al 1% tienen la misma respuesta farmacológica.

Por tanto podemos afirmar que los flavonoides tienen la capacidad (propiedad) de modificar las concentraciones inducidos por la acetilcolina.

El presente estudio muestra que los Flavonoides aislados de la *Satureja breviculix* Epling “wayra muña” tiene efectos relajantes significativos ($p < 0.05$) y antiespasmódicos para la acetilcolina ($p < 0.05$), reversibles y dosis dependiente sobre el íleon de rata Wistar, por lo que es necesario continuar con los estudios fitoquímicos y farmacológicos para aislar el o los flavonoides responsables de los efectos antes mencionados.

V. CONCLUSIONES

1. Los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* Epl. "wayra muña" demostraron tener actividad antiespasmódica a las dosis ensayadas.
2. Los flavonoides a la concentración de 1.0% redujeron la altura y el número de las contracciones. Estadísticamente fue similar a la atropina 5×10^{-6} M tal como quedó demostrado con la prueba de Tukey.
3. Los flavonoides aislados demostraron tener una mejor actividad antiespasmódica a una concentración de 1.0 %. Las concentraciones de 0.5% y 1.5 % demostraron tener menor actividad.

VI. RECOMENDACIONES

1. Determinar de manera independiente cuál de los flavonoides es el responsable de la actividad antiespasmódica.
2. Precisar cuál es el mecanismo de acción antiespasmódico.
3. Evaluar la actividad antiespasmódica utilizando otros modelos farmacológicos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aderogba, M. y col.** 2006. Isolation of two flavonoids from *Bauhinia monandra* (Kurz) and their antioxidative effects. *Afr. J. Trad. CAM.* 3 (4): 59 – 65.
2. **Aguilar, E.** 2007. Estudio de los flavonoides aislados de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* “yacon” y determinación de su actividad antioxidante e inmunológica. Tesis para optar el Grado de Magíster. UNMSM. Lima.
3. **Aguilar, E.** 2010. Actividad antioxidante y antiinflamatorio de los flavonoides aislados de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epi. “Wayra Muña” Ayacucho – Informe de Investigación. FCB - UNSCH.
4. **Alonso, N.** 2009. Actividad antioxidante de *Satureja macrostema*. Tesis para optar el Grado Maestro en Ciencias en Alimentos. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México DF. Septiembre – 2009.
5. **Brack, A.** 1999. Diccionario Enciclopédico de Plantas útiles del Perú. Centro de Estudios Regionales Andinos “Bartolomé de Las Casas”. Cusco. 1999.
6. **Bruneton, J.** 2001. Farmacognosia, Fitoquímica y Plantas Medicinales. Tercera Edición. Editorial Acribia. Zaragoza. .
7. **Carhuapoma, M.** 2002. Taxonomía de las plantas medicinales Aromáticas Nativas de la Provincia de Huamanga y sus Perspectivas Económicas. UNSCH. Ayacucho – Perú.
8. **Carhuapoma, M.** 2007. Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling “urqu muña”. Tesis para optar el Grado Doctor en Farmacia y Bioquímica. UNMSM. Lima.
9. **Chumacero, A. y col.** 2003. Género *Satureja* (Lamiaceae) en la etnomedicina andina. Facultad de Biología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima; 2003.
10. **Diez, J.** 2003. Efecto antiespasmódico de la wayra muña “*Satureja brevicalyx* Ep^l” sobre íleo aislado de rata. Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH. Ayacucho.
11. **Escudero, J. y col.** 1985. Secondary Metabolites from *Satureja* species. *Journal of Natural Products.* 48:128-131.

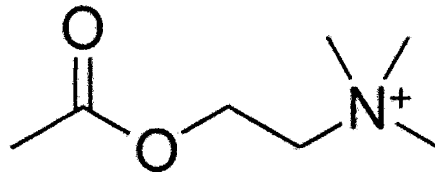
12. **Font Quer.** 1988. Plantas medicinales. 7ma. edición. Editorial Labor S.A. España.
13. **Ghayur MN, Khan H, Gilani AH. (2007).** Antispasmodic, bronchodilator and vasodilator activities of (+)- catechin, a naturally occurring flavonoid. Arch. Pharm. Res. Aug; 30(8):970 -5.
14. **Heinrich M, Heneka B, Rimpler H, Ankli A, Sticher O, Postiza T. (2005).** Spasmolytic and antidiarrhoeal properties of the Yucated Mayan medicinal plant *Casimiroa tetrameria*. Journal of Pharmacy and Pharmacology. Volume 57, Issue 9, pages: 1081-1085. September.
15. **Kuklinski, C.** 2003. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Edit. Omega. Barcelona.
16. **Lizarraga, E; Abdala, L.** Compuestos fenólicos mayoritarios en *Satureja boliviana* (Benth.) Briq. (Lamiaceae). Acta Farm. Bonaerense. 2004; 23 (2):198-200.
17. **Lock de Ugaz, O.** 1994. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. 1994.
18. **López-Lázaro, M.** 2009. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 9:31-59.
19. **Magallanes C. y col.** 1994. Estudio ecológico y etnobotánica de las plantas medicinales y altoandinas de Quinua y Chiara. Facultad de Ciencias Biológicas. Área de Botánica. UNSCH. Ayacucho – Perú.
20. **Mohammad K, Hoda Y, Maedeh A. (2008).** Antispasmodic activity of onion (*Allium cepa* L.) peel extract on rat ileum. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 7(2): 155–159.
21. **Martínez, S. y col.** 2002. Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. 17(6): 271–278.
22. **Mendoza, J.** 2007. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epi. “wayra muña” en ratas. Tesis para optar Título de Químico Farmacéutico. UNSCH. Ayacucho – Perú.
23. **Moghaddam, F. y col.** 2007. Chemical Constituents of Dichloromethane Extract of Cultivated *Satureja kuzhistanica*. Complementary and Alternative Medicine. 4 (1):95-98.
24. **Mostaceros, J; Mejía, F.** 2002. Taxonomía de Fanerógamas Peruanas. CONCYTEC. Lima.

25. **Palomino, R.** 2005. Efecto antioxidante del extracto acuoso liofilizado de las hojas de las *Satureja brevicalyx Epl.* "wayra muña". Tesis para optar título de Químico Farmacéutico. UNSCH. Ayacucho – Perú.
26. **Soto, M.** 1999. Estudio fitoquímico y determinación de la actividad analgésica en diferentes extractos de la *Satureja brevicalyx Epl.* "wayra muña". Tesis para optar Título de Químico Farmacéutica. UNSCH. Ayacucho – Perú. 1999.
27. **Villar del Fresno, M.** 1999. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. Madrid.

ANEXO

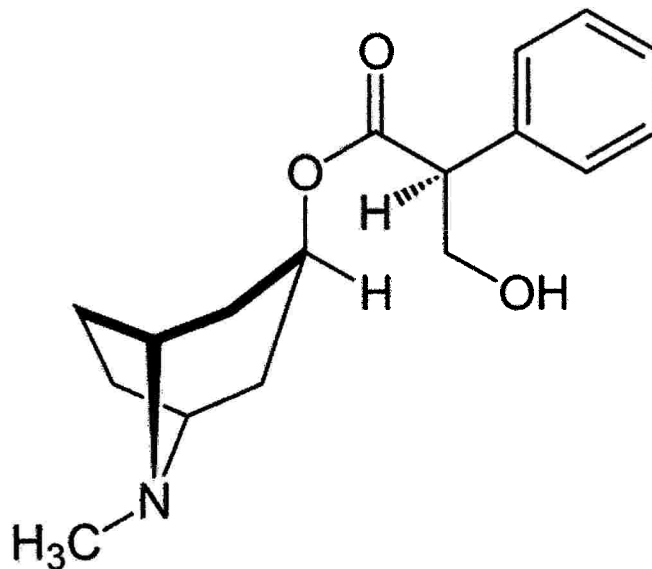
ANEXO N° 1

Fórmula y su peso molecular de la Acetilcolina



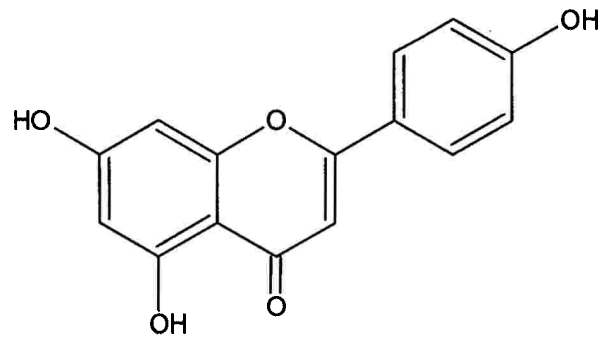
$C_7H_{16}NO_2$ (PM 146.21 g/mol)

Fórmula y peso molecular de la Atropina

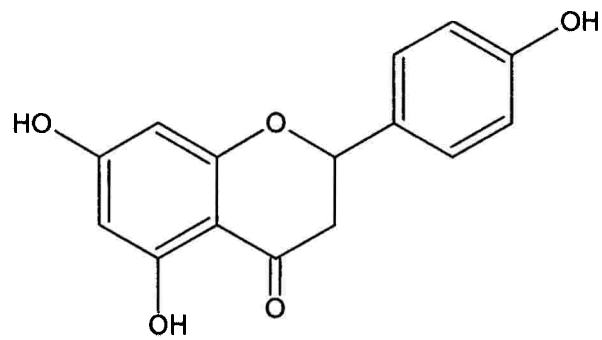


$C_{17}H_{27}NO$ (PM 275.41 g/mol)

ANEXON°2



APIGENINA



NARIGENINA

Flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* Epl. "wayra muña"
(Aguilar, 2011)

ANEXO N° 3

Fórmula de la solución de Tyrode

-NaCl	8.0 g
-KCl	0.2 g
-CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.2-0.1 g
-CO ₃ HNa	1.0 g
-PO ₄ H ₂ Na	0.05 g
-MgCl ₂	0.1 g

ANEXO N°4

TABLA N° 1. Prueba de Tukey de la Actividad antiespasmódica de los Flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* "wayra muña" a diferentes concentraciones en comparación con la con la atropina. Ayacucho – 2011.

Altura (cm)

HSD de Tukey ^a

Tratamientos	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Atropina	5	.3800			
1%	5	.4400			
1.5	5		.6800		
0.5%	5			.8600	
Blanco	5				1.2400
Sig.		.369	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 N° 5

TABLA N° 2. Prueba de ANVA de la Actividad antiespasmódica de los Flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* "wayra muña" a diferentes concentraciones en comparación con la con la atropina. Ayacucho – 2011.

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Altura (cm)	Inter-grupos	2.428	4	.607	233.462	.000
	Intra-grupos	5.200E-02	20	2.600E-03		
	Total	2.480	24			

ANEXO N°6

TABLA N° 3. Prueba de Tukey Numero de contracciones a diferentes concentraciones por efecto de los Flavonoides aislados de las hojas de *Satureja breviculix* Epling “wayra muña”. Ayacucho – 2011

Número de contracciones

HSD de Tukey^a

Tratamientos	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
1%	5	5.6000				
Atropina	5		7.8000			
1.5	5			10.6000		
0.5%	5				13.2000	
Blanco	5					15.8000
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 N°7



Fotografía: Equipo de químógrafo.

ANEXON°8



Fotografía: Calibrando el quimógrafo.

ANEXON°9



Fotografía: Sacrificio del animal de investigación.

ANEXO Nº 10



Fotografía. Extrayendo el íleon de la rata.

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Satureja brevicallix</i> Epl. "wayra muña" tendrán actividad antiespasmódica?	¿Los flavonoides aislados de las hojas de <i>Satureja brevicallix</i> Epl. "wayra muña" tendrán actividad antiespasmódica?	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar la actividad antiespasmódica de los flavonoides aislados de las hojas de <i>Satureja brevicallix</i> Epl. "wayra muña". <p>Objetivos específicos.</p> <ul style="list-style-type: none"> Comparar la actividad antiespasmódica con la atropina. Determinar la concentración de los Flavonoides con mejor actividad antiespasmódica 	<p><i>Satureja brevicallix</i> Epl. "wayra muña" es una especie medicinal nativa utilizado tradicionalmente para aliviar dolores de cabeza por la "enfermedad del aire" y tiene además propiedades aromáticas. Posee propiedades antioxidantes (Toma, 2005) (Palomino, 2004), hepatoprotectoras (Mendoza, 2007) y Soto (1999), reporta la presencia de flavonoides por lo que es menester caracterizarlos químicamente y evaluar sus propiedades biológicas. Los flavonoides son un grupo muy grande de metabolitos secundarios que pertenecen al grupo de los polifenoles y que poseen gran actividad biológica. Existen 14 tipos de flavonoides que se diferencian por el grado de oxidación y por la presencia de radicales en su estructura básica. Sus propiedades biológicas están en relación directa con su estructura química. Las flavonas y flavonoles son antioxidantes, antiinflamatorias. (Bruneton, 2001), (Lock de Ugaz, 1994) (Kukinski, 2000) (Villar del Fresno, 1999) (Middleton y col. 2000)</p>	<p>Los flavonoides aislados de las hojas de <i>Satureja brevicallix</i> "wayra muña" tienen actividad antiespasmódica.</p>	<p>Variable independiente: Los flavonoides</p> <p>Indicadores: 0.5%, 1.0% y 1.5%.</p> <p>Variable dependiente: Actividad antiespasmódica</p> <p>Indicadores: Frecuencia de contracciones de las contracciones</p>	<p>Tipo: Experimental</p> <p>Nivel: Analítico</p> <p>Población: <i>Satureja brevicallix</i> que crece en el distrito de Quinua</p> <p>Muestra: 1 Kg de Hojas</p> <p>Unidad Experimental: Ratas Wistar macho que crece entre los 180 - 220 g de peso del INS (Chorrillos Lima)</p> <p>Los flavonoides serán aislados y su estructura química elucidada siguiendo la metodología descrita por Aguilar y Bonilla (2005). La actividad antiespasmódica será determinada según el método de Magnus (1968).</p>

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N° 452-2011-FCB-D

Bach. Gerardo Gonzales Atao.

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día jueves veintinueve de diciembre dos mil once, reunidos en el auditorio del departamento Académico de Ciencias Biológicas, bajo la presentación del Decano (e) de la facultad, actúan además como miembro: Mg. Enrique Aguilar Felices (Asesor) y Mg. Maricela López Sierralta quien además actuará como secretaria docente encargada, para recepcionar el trabajo de tesis: "**Actividad antiespasmódica de las flavonoides aislados de las hojas de *Satureja Brevicalix Epi.* "Wayra Muña" Ayacucho 2011**, presentado por el bachiller Gerardo Gonzales Atao, quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

El presidente (e) inicia el acto de sustentación, solicitando a la secretaria docente (e) la revisión de documentos en mesa y lectura de RDN° 452-2011 – FCB – D para luego autorizar al sustentante la exposición en el tiempo correspondiente.


Culminado la exposición se inicia la segunda etapa en la cual los miembros del jurado calificador realizan las observaciones y evaluación correspondiente para emitir su calificación.


El presidente (e) solicita al sustentante y público en general que abandonen el auditorio para que el jurado calificador pueda deliberar y emitir su calificación pertinente como sigue:

Jurado Calificador	Exposición	Rta a Pregunta	Promedio
Mg Emilio Ramírez Roca	17	17	17
Mg Enrique Aguilar Felices	16	16	16
Mg. Maricela López Sierralta	16	16	16
		Promedio:	16

De la evaluación realizada el sustentante obtiene una calificación promedio de **DIECISEIS (16) DE LO CUAL** dan fe los miembros estampando su firma al pie de la presente. Culmina el acto de sustentación las seis de la noche.


.....
Mg Emilio Ramírez Roca
Presidente (e) - Miembro


.....
Mg Enrique Aguilar Felices
Asesor - Miembro


.....
Mg. Maricela López Sierralta
Secretaria Docente (e) - Miembro