

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Evaluación de la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de hojas de *Porophyllum ruderale* (Jac.) cassini “rupay wachi”, sobre el íleon aislado de *Cavia porcellus* “cobayo”, Ayacucho 2016.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

Presentado por el:

Bach. VILLAVICENCIO ARAUJO, Nils Yonatan

AYACUCHO - PERÚ

2017

El presente trabajo de investigación está dedicado en primer lugar a Dios, a mi madre la cual nunca se dio por vencida en su lucha de hacer de mí un profesional, a mi hermano Robert por ser la luz de mi horizonte y a mi querida abuelita Isidora por su vida.

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que hicieron posible mi formación profesional.

Al Dr. Q.F. Edwin C. ENCISO ROCA, asesor del presente trabajo de investigación, por el apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Q.F. Aldo TINCO JAYO por su apoyo en la conducción de los procesos a seguir en el manejo adecuado del equipo de baño de órganos aislados.

A todas las personas que me brindaron su apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación, cuyos esfuerzos se materializan en este informe.

ÍNDICE GENERAL

| | Pág. |
|--|------|
| DEDICATORIA | iii |
| AGRADECIMIENTO | v |
| ÍNDICE GENERAL | vii |
| ÍNDICE DE TABLAS | ix |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xi |
| ÍNDICE DE ANEXOS | xiii |
| RESUMEN | xv |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. MARCO TEÓRICO | 3 |
| 2.1. Antecedentes | 3 |
| 2.2. <i>Porophyllum ruderale</i> (Jac.) Cassini. “rupay wachi” | 5 |
| 2.3. Espasmo | 7 |
| 2.4. Dolor | 7 |
| 2.5. Sistema nervioso | 9 |
| 2.6. Fármacos colinérgicos o parasimpaticomiméticos | 11 |
| 2.7. Atropina | 12 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 15 |
| 3.1. Ubicación | 15 |
| 3.2. Población y muestra | 15 |
| 3.3. Unidad experimental | 15 |
| 3.4. Procedimiento metodológico y recolección de datos | 15 |
| 3.5. Diseño de investigación | 18 |
| 3.6. Análisis de datos | 19 |
| IV. RESULTADOS | 21 |
| V. DISCUSIÓN | 27 |
| VI. CONCLUSIONES | 31 |
| VII. RECOMENDACIONES | 33 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 35 |
| ANEXOS | 39 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | Pág. |
|---------|---|------|
| Tabla 1 | Diseño experimental | 19 |
| Tabla 2 | Identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jac.) Cassini. Ayacucho 2016 | 23 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|------|
| Figura 1 | 24 |
| Variación de las contracciones (mm) generadas tras la administración de la acetilcolina, atropina y de los extractos hidroalcohólico de las hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> “rupay wachi”, sobre íleon aislado de cobayo. Ayacucho 2016. | |
| Figura 2 | 25 |
| Porcentaje de inhibición de las contracciones por efecto de los extractos hidroalcohólico de las hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> “rupay wachi” y la atropina sobre íleon aislado de cobayo. Ayacucho 2016. | |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | | Pág. |
|----------|---|------|
| Anexo 1 | Certificado de clasificación taxonómica del “rupay wachi” <i>Porophyllum ruderale</i> (Jac.) Cassini. | 41 |
| Anexo 2 | Ficha etnobotánica del “rupay wachi” <i>Porophyllum ruderale</i> (Jac.) Cassini. | 42 |
| Anexo 3 | Flujograma de obtención del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jac.) Cassini. “rupay wachi”. Ayacucho 2016. | 43 |
| Anexo 4 | Extracto hidroalcohólico concentrado de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jac.) Cassini. “rupay wachi”. Laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016. | 44 |
| Anexo 5 | Identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jac.) Cassini. “rupay wachi”. Laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016. | 45 |
| Anexo 6 | Análisis de parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de <i>Porophyllum ruderale</i> (Jac.) Cassini. “rupay wachi”. Ayacucho 2016. | 46 |
| Anexo 7 | Composición del medio nutricio Tyrode. | 47 |
| Anexo 8 | Extracción de intestino de <i>Cavia porcellus</i> “cobayo”. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016. | 48 |
| Anexo 9 | Colocación del intestino de <i>Cavia porcellus</i> “cobayo” en el quimógrafo automatizado de Panlab Harvard. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016. | 49 |
| Anexo 10 | Administración de las drogas en el líquido nutricio Tyrode del quimógrafo automatizado de Panlab Harvard. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016. | 50 |
| Anexo 11 | Respuesta del órgano aislado tras la aplicación de acetilcolina y atropina (fármaco de referencia) en íleon aislado de <i>Cavia porcellus</i> “cobayo”. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica Ayacucho 2016. | 51 |

| | | |
|----------|---|----|
| Anexo 12 | Respuesta del órgano aislado tras la aplicación de acetilcolina y el extracto 1%. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica Ayacucho 2016. | 52 |
| Anexo 13 | Respuesta del órgano aislado tras la aplicación de acetilcolina y el extracto 4%. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica Ayacucho 2016. | 53 |
| Anexo 14 | Respuesta del órgano aislado tras la aplicación de acetilcolina y el extracto 8%. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica Ayacucho 2016. | 54 |
| Anexo 15 | Análisis de varianza de las alturas generadas tras la aplicación de acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016. | 55 |
| Anexo 16 | Análisis de varianza de los porcentajes de inhibición generadas tras la aplicación de acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016. | 56 |
| Anexo 17 | Prueba de Tukey de las alturas generadas tras la aplicación de la acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016. | 57 |
| Anexo 18 | Prueba de Tukey de los porcentajes de inhibición generadas tras la aplicación de la acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016. | 58 |
| Anexo 19 | Análisis descriptivo de las alturas generadas tras la aplicación de la acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016. | 59 |
| Anexo 20 | Análisis descriptivos de los porcentajes de inhibición generados tras la aplicación de la acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016. | 60 |
| Anexo 21 | Matriz de consistencia | 61 |

RESUMEN

El objetivo principal de esta investigación es evaluar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de hojas de *Porophyllum ruderale* "rupay wachi", en íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo", la cual se llevó a cabo en el laboratorio de farmacología de la Facultad de Ciencias de la Salud. Se recolectó 500 g de muestra seca procedente del centro poblado de Qochapampa del barrio de Santa Ana a 2800 msnm del distrito Ayacucho. El extracto hidroalcohólico se obtuvo por maceración con etanol al 70%. El tamizaje fitoquímico se realizó mediante el método de Miranda. Se usó el modelo experimental "in vitro" sobre íleon aislado de cobayo según el método de Canales, a diferentes concentraciones del extracto de 1, 4, y 8%, haciendo uso de un quimógrafo automatizado, Panlab Harvard. El extracto hidroalcohólico de *Porophyllum ruderale* presenta: alcaloides, resinas, flavonoides, compuestos fenólicos, catequinas, quinonas y lactonas. Las alturas de contracciones fueron de 7,06 mm con la atropina; 8,70 mm con el extracto al 1%; 8,45 mm con el extracto al 4% y 8,14 mm con el extracto al 8%. El análisis estadístico mostró diferencias significativas en los diferentes tratamientos ($p < 0,05$). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Porophyllum ruderale* "rupay wachi" tiene actividad antiespasmódica.

Palabras clave: *Porophyllum ruderale* (Jac.) cassini., Actividad antiespasmódica, Extracto hidroalcohólico, íleon.

I. INTRODUCCIÓN

Los antiespasmódicos son de uso frecuente en la medicina popular. Están indicados para el tratamiento de cólicos gastrointestinales, cólicos hepáticos, obstrucción esofágica, gastroenteritis, timpanitis funcional, vómitos, espasmos del sistema urogenital y oclusión intestinal funcional, entre otros. Además de estas indicaciones, también se emplean para el tratamiento de diarreas, uno de los desórdenes gastrointestinales de mayor prevalencia que debe atenderse rápidamente. Como consecuencia de la importancia clínica de los antiespasmódicos, se realizan estudios orientados a descubrir nuevos compuestos que controlen con mayor eficacia la motilidad gastrointestinal. La fitomedicina, fuente de un gran número de las drogas que se utilizan en el tratamiento de distintas enfermedades, ha realizado importantes aportes en el acometimiento de las afecciones gastrointestinales.¹

Entre las especies empleadas por sus propiedades antiespasmódicas se encuentra en la gran mayoría de las plantas sobre todo en las que sus usos son empleados en aditivos, infusiones, comidas, etc.; y esta razón se desarrolla en el presente trabajo de investigación que está orientado a conocer los principales metabolitos secundarios mediante un tamizaje fitoquímico y corroborar el efecto antiespasmódico de esta especie utilizando la técnica de órganos aislados en pruebas *in vitro* que son contrastados con drogas patrones, en este caso la acetilcolina que tiene una acción espasmogénica a nivel de la musculatura lisa intestinal. Hoy en día existen nuevas técnicas farmacológicas para la determinación de la actividad antiespasmódica de una nueva droga, siendo una de ellas la evaluación de la actividad antiespasmódica en órganos aislados.²

Porophyllum ruderale “rupay wachi”, es utilizado por los pobladores de la zona como laxante, en enfermedades hepáticas como emenagogo, para el mal aliento, problemas digestivos, cólicos, presión alta, tomándolo en cocción la raíz o en

infusión las hojas, además se usa como condimento de comidas típicas como sopas guisos y salsas. (Anexo 2).

Los estudios realizados para la determinación del efecto antiespasmódico de una planta son todavía pobres, es por ello que el presente trabajo de investigación pretende revalorizar y rescatar la información tradicional que se tiene en el departamento de Ayacucho y hacer posible su integración a la medicina científica. Como resultado de este estudio a nivel experimental se plantearon los siguientes objetivos.

- Evaluar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de hojas de *Porophyllum ruderale* “rupay wachi”, en íleon aislado de *Cavia porcellus* “cobayo”.
- Identificar los metabolitos presentes del extracto hidroalcohólico de hojas de *Porophyllum ruderale* “rupay wachi”.
- Determinar el porcentaje que presenta mayor efecto antiespasmódico

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Se investigó la actividad de la *Porophyllum ruderale* (Jac.) cassini., que pertenece a la familia de las Asteraceas. Se evaluó la inflamación y la actividad antinociceptiva inducida por formalina y placa caliente, el extracto acuoso en dosis de 100, 200, 400 mg/Kg inhibieron significativamente la retorcion en 63,4; 89,6 y 94,8 %, respectivamente en comparación con el control. La inflamación se redujo en su primera fase a dosis de 400 mg/Kg (24,9%), y en su segunda fase se redujo a dosis de 200 y 400 mg/Kg (23,1 y 34,4%) respectivamente.³

Se evaluó la actividad antioxidante del *Porophyllum tagetoides* mediante el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), potencial redox y contenido de polifenoles. Se encontró en el extracto crudo de las hojas una reducción de la potencia muy alto (2,88 +/- 0,20 de diámetro exterior) y la actividad captadora de radicales de DPPH (54,63 +/- 4,80%) en concordancia con una mayor concentración de vitamina C. existe un alto contenido de polifenoles (264,54 +/- 2,17 mg GAE/g de muestra), aldehídos y terpenos tales como nonanal, decanal, trans-pineno, B-mirceno y D-limoneno, fueron los principales compuestos volátiles encontrados.⁴

Se evaluó la eficacia del *Agastache mexicana* y de *Porophyllum linaria* como sustituto de los fungicidas químicos sintéticos. Mediante el método de la hidrodestilación y la cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS) se utilizaron para extraer e identificar los componentes de los aceites, respectivamente. Estragol y metil eugenol fueron identificados como los principales componentes del aceite esencial de *A. mexicana*, mientras que el ácido linoleico y el fitol fueron los principales componentes en *P. linaria*. Estos aceites se ensayaron frente a las cepas fúngicas aisladas en los resultados muestras una potente actividad antifungica contra el panel de hongos ensayados

con concentración inhibitorias minima (CIMs) que van desde 0,3 hasta 30 G/mL para *A. mexicana*, y 0,0069 hasta 0,92 G/mL para *P. linaria*.⁵

Se evaluó su papel en las defensas químicas de las especies *Porophyllum gracile* y *Porofillum ruderale* especies primordiales en la producción de mono – sesquiterpenos y acidos grasos, en las hojas de la especie de *P. ruderale* en sinergia *P. gracile* lograron una gran acumulación de tertienilo emitidos por las cavidades secretoras foliares responsables de la actividad insecticida.⁶

Se evaluó la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco”, empleando tres modelos *in vivo*: prueba de motilidad intestinal, diarrea y entero estancamiento inducidos por aceite de ricino; resultando la mejor actividad a 400 mg/kg de extracto.⁷

En la investigación sobre el efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico y metanólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco”, se emplearon concentraciones de 100, 200 y 400 mg/kg y usando control la atropina y loperamida, presentando ligeras diferencias cualitativas ambos extractos en el contenido de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, triterpeinoides, esteroides y principios amargos. Donde la motilidad intestinal fue influenciada por ambos extractos, y a sus concentraciones respectivas.⁸

En un estudio sobre el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. “santa maría” en intestino de ratas wistar, se reportó un porcentaje de tránsito intestinal obtenido con la loperamida y atropina fue de 21,9 % y 17,8 %; mientras que con los extractos a 100, 200 y 400 mg/kg de peso fue de 56,8; 42,6 y 24,5 % respectivamente.⁹

Los extractos metanólicos de *Matricaria recutita* “manzanilla” y *Ruta graveolens* “ruda”, resultaron con la mejor respuesta antiespasmódica con 82,3 y 70,4 % de relajación. El extracto acuoso con la mejor respuesta fue el de *Ruta graveolens* con. 61,8 % de relajación. Las fracciones hexánicas, de acetato de etilo y butanólicas de *Ruta graveolens* fueron las de mejor respuesta con 79,8; 81,5 y 74,9 % de relajación.¹⁰

La concentración de 6 µg/ml de la decocción de flores desecadas de manzanilla produjo en el intestino aislado una disminución de tono y amplitud de contracción de más de un 90%, por un tiempo promedio de 50 segundos. Posteriormente el músculo se recuperó parcialmente ya que mantuvo por aproximadamente 2 minutos una disminución del tono de 40 a 60%, con respecto al tono normal.¹¹

En un trabajo de investigación realizado por Fernández, T., se determinó el efecto antiespasmódico de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” sobre el íleon aislado de *Cavia porcellus* “cobayo”; dando como resultado que a dosis de infusión al 30% fue la que mostró mayor efecto antiespasmódico (4,0mm) con respecto a la atropina (18,0mm).¹²

El extracto fluido de las hojas de *Marrubium vulgare* L. “oje jora” a dosis de 500mg mostró mayor efecto antiespasmódico obteniendo una disminución de la respuesta contráctil del 87,93%.¹³

El efecto antiespasmódico de los extractos de *Melissa Officinalis* L. “Toronjil” en íleon aislado con el objetivo de determinar la acción espasmolítica de los extractos acuoso y alcohólico de *Melissa Officinalis* L. “Toronjil” a diferentes concentraciones (dosis): 5% y 15%. Se observó y registró la respuesta contráctil máxima del íleon en presencia de acetilcolina. Lo que sirvió de base para calcular los valores relativos en milímetros de respuesta contráctil del órgano a la acetilcolina, en presencia de los extractos acuoso y alcohólico al 5 y 15% y utilizando atropina como fármaco de referencia.¹⁴

Efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. “pampa salvia” en donde el extracto hidroalcohólico al 5% y 10% obtuvo una disminución contráctil de 52,17% y 85,28%. El extracto acuoso al 10% no reduce las contracciones inducidas por la acetilcolina; mientras que la atropina obtuvo una disminución del 100%.¹⁵

El *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini, es utilizada tradicionalmente en infusiones y vía tópica para el mal aire, empacho, susto, salud mental y trastornos psicósomáticos combinado junto a otras hierbas, por los ciudadanos del Perú.¹⁶

2.2. *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini. “rupay wachi”

a) Clasificación taxonómica según Cronquist A. 1988.¹⁷

- DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
- CLASE : MAGNOLIOPSIDA
- SUB CLASE : ASTERIDAE
- ORDEN : ASTERALES
- FAMILIA : ASTERACEAE
- GÉNERO : *Porophyllum*
- ESPECIE : ***Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini.**
- NOMBRE COMÚN : “rupay wachi”.

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamanguensis* (Anexo 1)

b) Descripción botánica

Planta herbácea que crece de 1 – 1,5 metros de altura, con hojas simples, opuestas a alternas, sobre largos pedicelos, ovaladas a casi circulares, de hasta 5 cm de largo, redondeadas en el ápice y con el margen ondulado y de color verde azulado. Flores en forma de espigas, solitarias o agrupadas hacia las puntas de los tallos, el conjunto de flores están rodeados por largas brácteas unidas entre sí, las brácteas generalmente presentan glándulas translúcidas alargadas; el cáliz se encuentra profundamente modificado formando una estructura llamada vilano; la corola es un tubo muy delgado que hacia el ápice se ensancha y se divide en 5 lóbulos cortos, de color crema, verdoso o tendiendo al café o al rojo; los estambres son alternos con los lóbulos de la corola, sus filamentos libres e insertos sobre el tubo de la corola. El fruto es seco y no se abre (indehiscente), contiene una sola semilla, se le conoce como aquenio (o cipseta), es angosto, cilíndrico, aunque algo más ancho hacia el ápice, negrozco, de 1 a 1,5 cm de largo.¹⁸ (Anexo 2).

c) Hábitat y distribución geográfica

Habita como mala hierba ocasional en los caminos o entre los cultivos, principalmente en sembríos con pendientes, por los 2700 – 2800 msnm. Se han encontrado en las zonas de sembrío y carreteras del centro poblado Qochapampa al lado oeste del barrio Santa Ana, asimismo, también crecen en la localidad de Huanta, por la carretera de salida a Cuzco y cerca de los sembríos del río Huarpa. Esta planta por influencia de las condiciones ambientales, adopta formas típicas del lugar, por ello las hojas de la zona de recolección, son diferentes a las halladas en otras partes del país. (Anexo 2).

d) Propiedades y usos medicinales

Es utilizado por los pobladores de la zona como laxante, enfermedades hepáticas como emenagogo, para el mal aliento, problemas digestivos, cólicos, presión alta, tomándolo en coccción la raíz o en infusión las hojas, además se usa como condimento de comidas típicas como sopas guisos y salsas. (Anexo 2).

Es usado empíricamente en el país de Bolivia, consideran que es útil para el tratamiento de enfermedades del hígado y la presión arterial alta. Se dice que es usado medicinalmente para dolencias hepáticas.¹⁹

Se utiliza también, en la medicina popular para la cicatrización, como antiinflamatorio, fungicida, bactericida, anti estrés, para combatir la hipertensión arterial, la leishmaniosis, traumatismo, antídoto contra el veneno de la serpiente, el alivio del dolor y el reumatismo.¹⁶

Produce sustancias químicas que repelen a los insectos. Cuando una gran cantidad de esta planta crece en un área, desprenden un olor muy intenso.²⁰

e) Composición química

Lilia A. y colaboradores realizaron estudios acerca del *Porophyllum ruderale*, lograron identificar compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y esteroides presentes en las hojas de la planta.²¹

Diana B. Muñiz sus colaboradores realizaron estudios fitoquímico de algunas especies de plantas que poseen actividad antimicrobiana y antioxidante entre las cuales se encuentra el *Porophyllum ruderale* donde se realizó la caracterización fotoquímica encontrándose compuestos azufrados como but-1-en-3-inil-ditienilo, 5-acetoxi-metilen-2-(4-acetoxi-but-3-inilo)-ditiófenol, el derivado diacetoxilado y alfa terielino entre otros compuestos monoterpénicos presentes en este vegetal.²²

El aceite esencial de las partes aéreas de *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini, se analizó por cromatografía de gases (HRGC) y cromatografía de gases con espectrometría de masas (HGRC-MS) donde el resultado fue de: 26 componentes, de los cuales 93% de la composición total fueron identificados. La distribución enantiomérica de β -pineno, sabineno. 4-terpineol y α -terpineol. El componente principal es sabineno (64%) con una pureza enantiomérica de 97% para (+) – sabineno.²⁰

El aceite presenta limoneno (83,5%), mirceno (6,3%) y 1-undeceno (5,4%), *E*- β -ocimeno (54,9%), limoneno (25,2%) y β -pineno (10,1%) como los componentes principales. Estos resultados sugieren que el principal componente del aceite esencial puede diferenciar para cada subespecie.²³

Los componentes principales que se encuentran en el aceite de la raíz son davanone-2-ol (22,7%) e isocomene (16,7%).²⁴

Bohlmann, Jakupovic, Robinson y King informaron derivados de tiofenol con cadenas insaturados y un derivado de compuesto químico de timol en extractos de éter de petróleo.²⁰

2.3. Espasmo

Es una contracción involuntaria, persistente de un músculo o grupo muscular; algunos reservan dicho nombre para la contracción tónica persistente de los músculos de fibra lisa.¹

2.4. Dolor

Se define como una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada con una lesión tisular o potencial descrita en términos de lesión. También como

un conjunto de repuestas para proteger el organismo ante un daño. Estas respuestas pueden describirse como términos que reflejan conceptos neurológicos, fisiológicos, del comportamiento y afectivos.

El dolor es un mecanismo protector del cuerpo. Se produce siempre que un tejido es lesionado y obliga al individuo a reaccionar en forma refleja para suprimir el estímulo doloroso.²

El dolor abdominal puede ser causado por toxinas, infecciones, problemas de la vesícula o vías biliares, del hígado, enfermedades renales, menstruación, ovulación, enfermedades de los órganos reproductivos del hombre y de la mujer, problemas vasculares, tumores, úlcera gastroduodenal, perforación intestinal, enfermedades del páncreas, hernias traumatismos abdominales y otras enfermedades diversas. El dolor abdominal es un síntoma que se produce en el área abdominal, tanto a nivel alto (estómago), o más bajo (a nivel intestinal). La intensidad del dolor no implica su nivel de gravedad, a veces un dolor muy intenso puede ser debido a la presencia de gases intestinales sin más, y un dolor leve puede ser debido a tumores intestinales.¹

2.4.1. Fisiopatología del dolor

El estudio de la fisiopatología del dolor, contribuye extraordinariamente a comprender sus caracteres clínicos y, como se trata del síntoma más precoz en estas enfermedades, es el primer elemento de juicio, el cual a su vez evolucionará con la enfermedad misma, permitiendo deducciones pronosticas, cuya importancia se destaca por si sola.²

Todas las enfermedades agudas quirúrgicas se inician con dolor: con la sola referencia de sus caracteres podemos tener una muy aproximada impresión respecto de su dolor visceral que, como sabemos, están bajo el dominio del sistema nervioso neurovegetativo.¹

2.4.2. Causas desencadenantes del dolor abdominal:

Los estímulos desencadenantes del dolor abdominal se pueden agrupar en tres grandes grupos: de tipo mecánico, de tipo inflamatorio y de tipo isquémico.²⁵

- **Inflamatorias:** La liberación de sustancias implicadas en el proceso inflamatorio tanto físico como infeccioso es un poderoso estímulo doloroso, ocurre a nivel del Peritoneo, Víscera huecas, Vísceras sólidas, Mesenterio, Órganos pélvicos.^{1, 25}
- **Mecánicos:** Son la tracción, la distensión y estiramiento sobre las capas musculares de las vísceras huecas, el peritoneo y la cápsula de las vísceras

macizas; es importante que se produzca de modo brusco pues una instauración progresiva puede no ocasionar dolor, produciéndose una obstrucción intestinal y biliar a nivel de las vísceras.²⁵

- **Isquémicos:** El cese de riego sanguíneo a una víscera, ya sea primario por embolia o trombosis o secundario por torsión de su pedículo vascular, provoca dolor debido a la irritación que provoca la concentración de determinados metabolitos tisulares.¹

Hay que tener en cuenta también la diferente sensibilidad de las estructuras intraabdominales, así por ejemplo la mucosa de casi todo el tubo digestivo no aprecia sensación dolorosa, las vísceras huecas son más sensibles al aumento de presión, el peritoneo visceral es prácticamente indoloro y que existen unas zonas denominadas "áreas silenciosas" (cámara gástrica y ciego) que no provocan dolor hasta que no se produce irritación peritoneal u obstrucción.²⁵

2.5. Sistema nervioso

El sistema nervioso comprende el sistema nervioso central, que incluye el cerebro, la médula espinal y sus correspondientes redes neuronales, y el sistema nervioso periférico, que se comunica con las glándulas y los músculos, e incluye los receptores sensoriales para ver, oír, oler, gustar, tocar y sentir.

El sistema nervioso periférico se divide en somático, que efectúa el control voluntario sobre los músculos esqueléticos, y autónomo, que es involuntario y controla el músculo liso, el músculo cardíaco y las glándulas. El sistema nervioso autónomo se divide en dos: simpático y parasimpático. La mayoría de los músculos y las glándulas poseen una doble inervación; en tales casos la división puede ejercer efectos opuestos.¹

2.5.1. 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 médula espinal.²

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).¹

2.5.2. Acetilcolina

La acetilcolina (ACh) se biosintetiza en el citoplasma de las terminaciones axónicas, se almacena en las vesículas, liberándose por estimulación neuronal, se destruye por la acetilcolinesterasa, hidrolizándola a ácido acético y colina. Las respuestas fisiológicas a la acetilcolina dependen del lugar en el que actúa en la placa motora terminal e inicia una serie de fenómenos que conducen a la contracción del músculo. La acción de la acetilcolina en los ganglios del sistema autónomo periférico es posiblemente similar, la primera función de la respuesta autónoma postganglionar a la acetilcolina estriba en el mantenimiento de las funciones fisiológicas.¹

En el tracto digestivo incrementa las secreciones de las glándulas digestivas (salivales, gástricas) y aumentan el peristaltismo. La relajación o inhibición del esfínter anal junto con el aumento del peristaltismo, da lugar a la defecación. La inhibición de los esfínteres urinarios y el estímulo de la vejiga urinaria conduce también a la expulsión de la orina. En el ojo se estimula la contracción de la pupila y la acomodación para la visión cercana. A nivel del corazón produce un descenso del ritmo cardíaco. Estas acciones tienden a llevar el cuerpo en equilibrio y permiten el funcionamiento normal de los sistemas.¹

La acetilcolina (ACh) ejerce acción sobre los receptores muscarínicos y en algunos casos sobre los receptores nicotínicos, los receptores muscarínicos están situados en las terminaciones postganglionares autónomas y las acciones que se califican como muscarínicas comprenden:

- Inhibición cardíaca.
- Vaso dilatación periférica.
- Contracción la pupila ocular.
- Aumento de la salivación y del flujo de la mayoría de las glándulas secretorias.
- Contracción y acción peristáltica de los tractos gastrointestinal y urinario.

Los agentes antimuscarínicos como la atropina antagonizan la acción muscarínica de la acetilcolina, actúan en los receptores de órganos inervados por los nervios colinérgicos postganglionares del sistema autónomo, pero carecen de actividad intrínseca lo que requiere una estructura con algún parecido con la acetilcolina para producir afinidad, para estimular o inhibir el tejido. Por lo dicho anteriormente la atropina se ubica dentro de los bloqueadores colinérgicos tales compuestos deben tener efectos contrarios a los antagonistas colinérgicos y su administración debe caracterizarse por el descenso de saliva y secreciones gástricas,

disminución de la motilidad de los tractos gastrointestinales, urinario y dilatación de las pupilas.

Debido a su capacidad para relajar el músculo liso, se les ha denominado “antiespasmódicos”, puesto que ejercen su acción evitando la transmisión del impulso nervioso.^{1,26}

2.5.3. Mecanismo de acción de la acetilcolina

La acetilcolina es hidrolizada rápidamente por la acetilcolinesterasa mediante un proceso sucesivo de acetilación de la enzima, separación de la colina y separación del grupo acetilo.

Por definición, los inhibidores de la acetilcolinesterasa interfieren en este proceso al interactuar con la enzima e inactivarla, pero lo consiguen por mecanismos algo diferentes. De la intensidad con que se fijan a la enzima y de la rapidez con que se revierte espontáneamente dicha fijación depende de la intensidad y la duración de la acción anticolinesterásica.^{1,2}

2.6. Fármacos colinérgicos o parasimpaticomiméticos

La acetilcolina (ACh) se biosintetiza en el citoplasma de las terminaciones axónicas, a partir de la colina y de la acetilcoenzima A (acetil-CoA) y la intervención de la enzima colinoacetiltransferasa (CAT), dejando libre a la coenzima y dando como resultado la acetilcolina, se almacenan en las vesículas, liberándose por estimulación neuronal, se destruye por la acetilcolinesterasa hidrolizándola a ácido acético y colina.²

El sitio de acción de la acetilcolina como agente muscarínico son los receptores colinérgicos en las sinapsis posganglionar parasimpático del músculo liso, músculo cardíaco, diversas glándulas, provocando activación o inhibición en diversos sistemas efectores.¹

En el sistema cardiovascular la acetilcolina posee una acción depresora que disminuye la frecuencia y amplitud de las contracciones hasta llegar al paro cardíaco. En el tracto gastrointestinal aumentan el tono, las contracciones y las secreciones del estómago, activan en mayor grado las glándulas salivales y gástricas, aumentan el peristaltismo y la relajación de esfínteres produciendo cólicos, una brusca aceleración del tránsito intestinal. En el tracto urinario produce relajación del esfínter de la vejiga, favoreciendo la micción. En el tracto respiratorio contraen los bronquiolos y pueden provocar un acceso en pacientes asmáticos; la secreción bronquial también es aumentada. En el ojo produce miosis y en las glándulas aumenta las secreciones.²⁶

La musculatura lisa posee receptores, que frente a la acetilcolina permiten que, en las membranas permeables, se abran los canales iónicos, el potencial de membrana cambia, hay despolarización y se manifiesta la acción.¹

2.6.1. Fármacos bloqueantes colinérgicos

Los agentes antimuscarínicos como la atropina antagonizan la acción muscarínica de la acetilcolina. Actúan en los receptores de órganos inervados por nervios colinérgicos posganglionares del sistema autónomo, pero carecen de la actividad intrínseca para estimular o inhibir el tejido. La atropina aparece en plantas del orden de las solanáceas (*Atropa belladonna*).²⁶

Su administración se caracteriza por producir dilatación de la pupila en el ojo, Disminuyen la secreción pulmonar y producen bronca dilatación. Altas dosis afectan la frecuencia cardiaca, pequeñas dosis la disminuyen. Disminuyen la secreción y la motilidad gastrointestinal, se les denomina antiespasmódicos. Reducen la actividad del tracto urinario y las glándulas salivales. El antagonismo que manifiesta la atropina es competitivo “por superposición” en los receptores muscarínicos del músculo liso, miocárdico, glándulas exocrinas y sistema nervioso central.^{25, 26}

2.7. Atropina

Droga antagonista competitiva de la acetilcolina que es capaz de desencadenar todas las acciones parasimpaticolíticas, a través del bloqueo de los receptores muscarínicos del parasimpático.²

Los agentes antimuscarínicos tienen poca acción sobre los receptores nicotínico del ganglio autónomo y de la placa neuromuscular. Se requieren dosis más grandes que las terapéuticas, de atropina, para producir algún bloqueo de estos receptores nicotínicos.¹

La atropina y los parasimpaticolíticos, pueden en general, atravesar la barrera hematoencefálica, y bloquear los receptores muscarínicos del encéfalo, de allí surgen los agentes anticolinérgicos centrales, de mayor capacidad que la atropina para ingresar al Sistema Nervioso Central.²

El conocimiento de la ubicación de los receptores muscarínicos y las acciones fisiofarmacológicas que se desencadenan por su activación constituyen un elemento fundamental para el estudio del sistema colinérgico y su bloqueo.²⁶

2.7.1. Mecanismo de acción de la atropina

La atropina ejerce su acción a través de un antagonismo competitivo con la acetilcolina y otros antagonistas colinérgicos, por los receptores muscarínicos.

Con dosis terapéuticas (1 mg. de atropina) y aún mayores, se bloquean todos los receptores muscarínicos. Los receptores nicotínicos del ganglio autónomo y de la placa neuromuscular son respetados con dicha dosis. La estructura no polar de la atropina permite su paso a través de la barrera hematoencefálica, desencadenando algunas acciones a ese nivel.¹

El antagonismo como es de tipo competitivo, puede ser superado si se incrementa la concentración de la acetilcolina en los receptores.

La atropina no distingue los receptores muscarínicos selectivos M1, M2 o M3, los bloquea a todos por igual.²

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios de Farmacognosia y Farmacología, de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Región Ayacucho, Perú.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Las hojas de *Porophyllum ruderale* “rupay wachi” recolectadas del centro poblado Qochapampa del barrio Santa Ana – Ayacucho, (anexo 5)

3.2.2. Muestra

200 g de hojas de *Porophyllum ruderale* del centro poblado Qochapampa del barrio Santa Ana – Ayacucho.

3.2.3. Tipo de muestreo

Muestreo por conveniencia: Se seleccionaron las hojas que no estaban dañadas ni maltratadas, previo conocimiento y juicio del investigador.

3.3. Unidad experimental

Íleon aislado de *Cavia porcellus* “cobayo”.

3.4. Procedimiento metodológico y recolección de datos

3.4.1. Recolección de la muestra

Las muestras de *Porophyllum ruderale* fueron recolectadas por conveniencia, durante el mes de mayo del centro poblado Qochapampa del barrio Santa Ana, provincia de Huamanga del departamento de Ayacucho; fueron transportadas al Laboratorio Farmacognosia, donde fueron seleccionadas las hojas y secadas al medio ambiente, teniendo como base papel bond blanco, fue cambiada constantemente y volteando la muestra para un secado uniforme, evitando el deterioro por la humedad y separando aquellas que cambien de color o muestren signos de alteración.²⁷

Para la identificación taxonómica se emplearon muestras con flores y hojas en el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas, con certificación a cargo de la Blga. Laura Aucasime Medina (Anexo 1).

3.4.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Porophyllum ruderale* “rupay wachi”

200 g aproximado de muestra seca y pulverizada, se maceraron con 1 L de alcohol de 70° por 5 días en una botella con capacidad de 2 L y protegidas de la luz.²⁷

La muestra obtenida de la botella se filtró al vacío, luego se concentró hasta sequedad en una estufa a temperatura de 47 °C ± 2, obteniéndose 50 g aproximado de extracto hidroalcohólico concentrado de *Porophyllum ruderale*, luego se envasó en un frasco pequeño y se guardó bajo refrigeración a 4° C, hasta su empleo.^{28, 29}

3.4.3. Identificación fitoquímica del extracto

Las reacciones de identificación fitoquímica se realizaron, siguiendo la metodología propuesta por Miranda.^{29, 30} Cuyos resultados se encuentra mostrado en la Tablas 1 al igual que en el Anexo 5.

3.4.4. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de los extractos

Se realizaron pruebas básicas del extracto hidroalcohólico, dadas por Miranda,³⁰ que se detallan a continuación:

a. Determinación de las características organolépticas de los extractos

Color: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en un tubo de ensayo, esta es colocada en un fondo blanco, se observó y se determinó el tipo de color.²⁹

Olor: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se percibe y se determina el tipo de olor. Los términos para describir los olores del extracto atomizado son: aromático, aliáceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, a especia, etc.³⁰

Sabor: Se tomó una cantidad suficiente y se transfirió a una luna de reloj, luego se hizo contacto con la lengua, como resultado determinamos el tipo de sabor (dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc.)³⁰

Aspecto: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto de la muestra.³⁰ (Anexo 6)

b. Determinación de la solubilidad de los extractos

Se colocó 1 mg de extracto en diferentes tubos de ensayo y se añadió 1 mL de disolvente (agua, etanol, metanol y cloroformo), respectivamente, se agitó y se

observó bajo los indicadores de soluble, poco soluble e insoluble.³⁰ (Anexo 6)

c. Determinación del pH del extracto

Para determinar el pH se utilizaron, tiras reactivas, realizándose a temperatura ambiente.²⁹ (Anexo 6)

3.4.5. Preparación de concentraciones del extracto hidroalcohólico

Se pesó un aproximado de 0,5 g de extracto hidroalcohólico sólido, para obtener una solución madre de 100 mL con agua destilada y de ella obtener las concentraciones respectivas de 1%, 4% y 8%.

3.4.6. Procedimiento experimental de la actividad antiespasmódica *in vitro* sobre el íleon aislado de cobayo según el método de Canales C.

a. Método experimental

Se utiliza el modelo experimental del intestino porque es un órgano con autonomía propia y se puede observar la influencia del sistema nervioso autónomo (SNA). También se busca evidenciar los efectos *in vitro* de productos que induzcan activación o inhibición colinérgica muscarínica sobre la motilidad intestinal.³¹

b. Procedimiento

- Los cobayos fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de la ciudad de Ayacucho.
- Se mantuvieron en ayunas a los animales por 24 horas antes del experimento.
- Se Sacrificaron a los cobayos por dislocación cervical.
- Se extrajeron la porción terminal del íleon.
- Se colocaron la porción del órgano, en una placa Petri conteniendo el líquido nutricio graduado a 37 °C, eliminando grasas, detritus interno y externo.
- Se cortó el segmento (1,5 – 2,0 cm) para montar en el baño de órgano aislado.
- Se colocó en el sistema de órganos aislados, un extremo a la varilla que contacta con el quimógrafo y el otro en el fondo.
- La sujeción se realizó con una aguja, con lo que contiene hilo, evitando estrangular el órgano y estirarlo innecesariamente.
- Se añadió al vaso contenedor del órgano con líquido nutricio, aireación continua y temperatura de 37 °C.
- Se dejó estabilizar aproximadamente 30 minutos.
- Luego añadir al baño 0,25 mL de Acetilcolina en diferentes concentraciones para verificar a cuál de las concentraciones responde mejor el íleon.

a) Acetilcolina $2 \times 10^{-4} M$

b) Acetilcolina $2 \times 10^{-5} M$

c) Acetilcolina $2 \times 10^{-6} M$

- Luego se añadió al baño 0,25 mL de los fármacos a ensayar en los siguientes ordenes:

Primer grupo (blanco): Administrar acetilcolina $2 \times 10^{-4} M$ 0,25 mL más suero fisiológico 0,25 mL.

Segundo grupo (estándar): Administrar 0,25 mL acetilcolina a la concentración de $2 \times 10^{-4} M$ esperamos 5 min luego administrar atropina 0,25 mL.

Tercer grupo: Administrar 0,25 mL de acetilcolina a una concentración $2 \times 10^{-4} M$ esperamos 5 min y luego se administran el extracto hidroalcohólico de *Porophyllum ruderale* "rupay wuachi" a la dosis de 0,25 mL al 1%.

Cuarto grupo: Administrar acetilcolina 0,25 mL a una concentración de $2 \times 10^{-4} M$. esperamos 5 min y luego administrar el extracto hidroalcohólico de *Porophyllum ruderale* "rupay wuachi" a la dosis de 0,25 mL al 4%.

Quinto grupo: Administrar acetilcolina 0,25 mL a una concentración de $2 \times 10^{-4} M$. esperamos 5 min y luego administrar el extracto hidroalcohólico de *Porophyllum ruderale* "rupay wuachi" a la dosis de 0,25 mL al 8%.

El porcentaje de inhibición de la motilidad se halló por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición de las contracciones} = \frac{\text{Recorrido Acetilcolina (mm)} - \text{Recorrido tratamiento (mm)}}{\text{Recorrido Acetilcolina (mm)}} \times 100$$

3.5. Diseño de investigación

Se realizó un diseño experimental que incluye dos grupos, uno que recibió el tratamiento experimental y el otro no (grupo control). Es decir, la manipulación de la variable independiente alcanzó solo dos niveles presencia y ausencia.³²

El diseño se diagrama de la siguiente manera:

| | | |
|-----------------|---|----------------|
| RG ₁ | X | O ₁ |
| RG ₂ | – | O ₂ |

Donde:

RG₁: Intestino de cobayos para el tratamiento (atropina y los extractos).

RG₂: Intestino de cobayos para el control (Acetilcolina).

O₁: Respuesta contráctil del intestino con los tratamientos.

O₂: Respuesta contráctil del intestino con el control.

Tabla 1: Diseño experimental

| Grupos | Acetilcolin | Atropina | Extracto hidroalcohólico | | |
|-----------------------|-----------------------|------------|--------------------------|------|------|
| | a $2 \times 10^{-4}M$ | $10^{-5}M$ | 1 % | 4 % | 8 % |
| | 2,94 | 6,95 | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| | $\mu g/mL$ | $\mu g/mL$ | mL | mL | mL |
| | 0,25 mL | 0,25 mL | | | |
| Control 1 | XXX | | | | |
| Fármaco de referencia | | XXX | | | |
| Tratamiento 1 | | | XXX | | |
| Tratamiento 2 | | | | XXX | |
| Tratamiento 3 | | | | | XXX |

3.7. Análisis de datos

La diferencia significativa existente entre los parámetros de inhibición de la contractibilidad de los tratamientos se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 95%. Las comparaciones entre cada tratamiento se realizaron con la Prueba de Tukey diferencia significativamente existente (HSD), para evaluar las diferencias estadísticas al 95% de confianza. Mediante el uso del software estadístico SPSS, versión 21,0.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini. Ayacucho 2016

| Metabolitos secundarios | Ensayos | Resultados | Observaciones |
|--------------------------------|-----------------------------|-------------------|--|
| Catequina | Carbonato de sodio + luz Uv | + | Coloración verde carmelita a la luz UV |
| Alcaloides | Wagner, Hager y Dragendorff | + | Formación de precipitados |
| Resinas | Agua destilada | ++ | Precipitado |
| Azúcares reductores | Fehling | + | Precipitado naranja |
| Compuestos fenólicos | Cloruro férrico | ++ | Coloración azul |
| Flavonoides | Shinoda | + | Coloración naranja |
| Quinonas | Borntrager | + | Coloración rojiza en la fase amoniacal |
| Lactonas | Baljet | + | Coloración roja |

Leyenda:

(+) : Poco

(++) : Moderado

(+++): Abundante

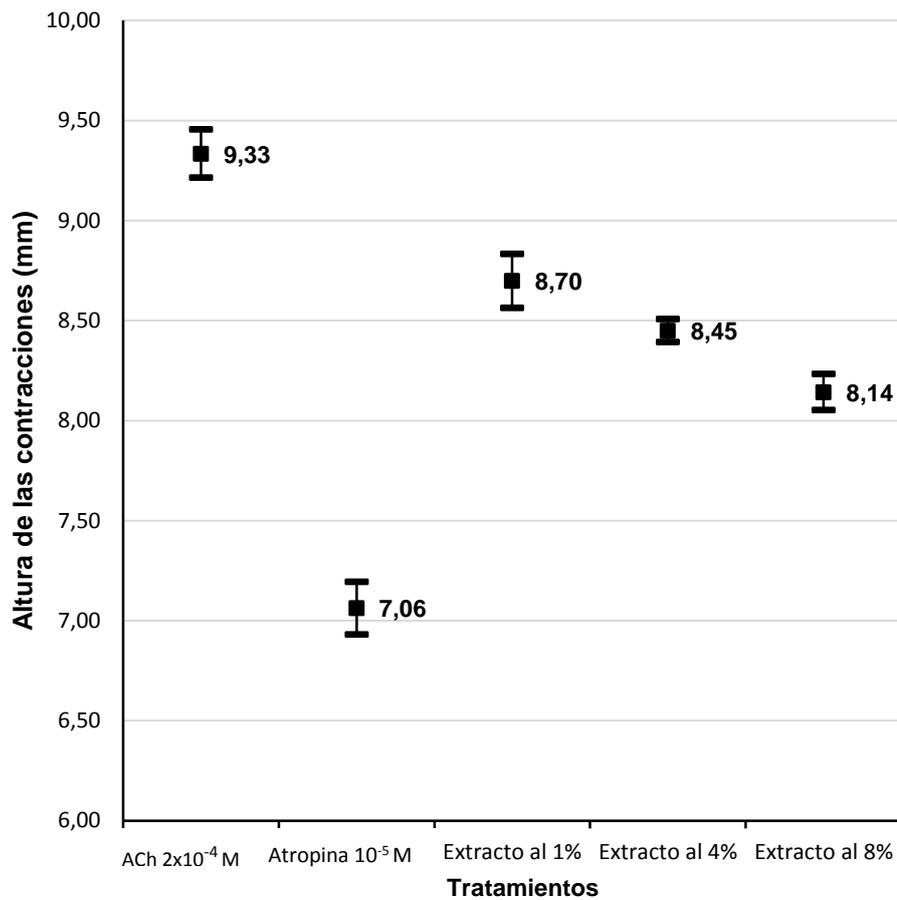


Figura 1: Variación de las contracciones (mm) generadas tras la administración de la acetilcolina, atropina y de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Porophyllum ruderale* “rupay wachi”, sobre íleon aislado de cobayo. Ayacucho 2016.

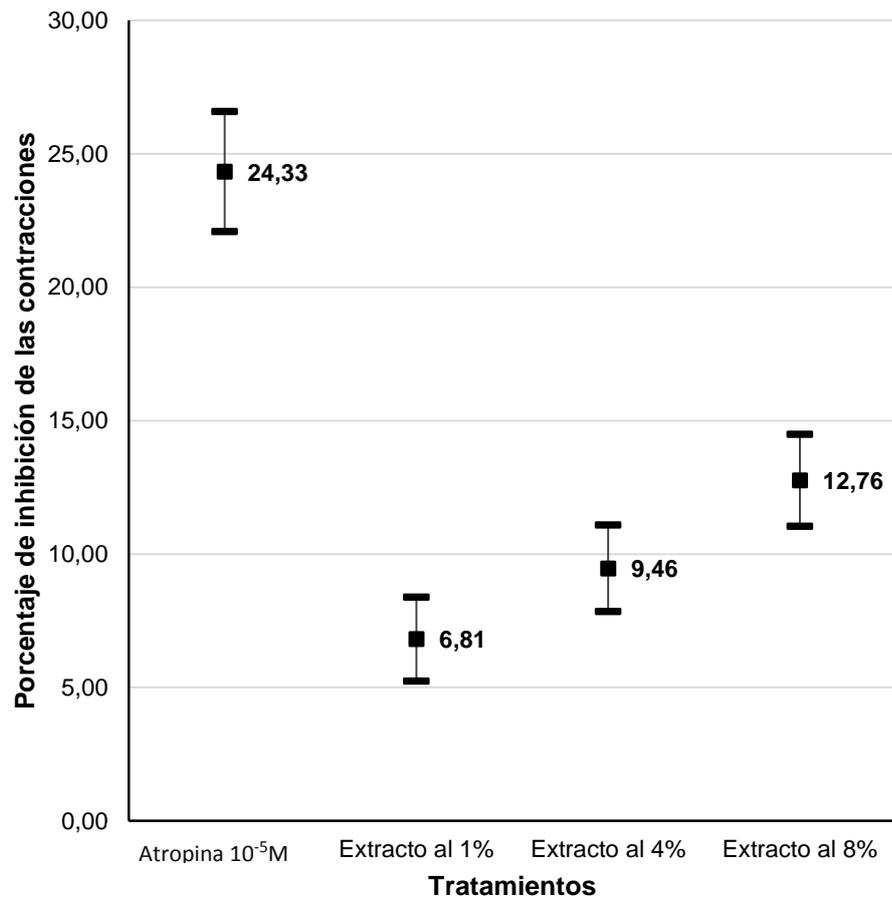


Figura 2: Porcentaje de inhibición de las contracciones por efecto de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Porophyllum ruderale* “rupay wachi” y la atropina sobre íleon aislado de cobayo. Ayacucho 2016.

V. DISCUSIÓN

El *Porophyllum ruderale* “rupay wachi” es utilizado por la población tradicionalmente en infusiones y vía tópica para el mal aire, empacho, susto, salud mental y trastornos psicósomáticos combinado junto a otras hierbas, por los ciudadanos del Perú¹⁶. Lo que motivó a estudiar el efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas sobre las contracciones inducidas por la acetilcolina en órganos aislados.

Se realizó la extracción de la muestra utilizando solución hidroalcohólica de 70°, teniendo en cuenta la polaridad del solvente.

En el extracto hidroalcohólico (tabla 2), se observó la presencia de alcaloides, resinas, flavonoides, compuestos fenólicos, catequinas, quinonas, lactonas. Los metabolitos secundarios en *Porophyllum ruderale*, que crece en nuestra región coinciden con los reportados por otros autores observándose reacciones positivas para: compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, aceites esenciales.²⁰

El efecto antiespasmódico de *Porophyllum ruderale*, se determinó por el método de Canales, para lo cual se utilizó acetilcolina $2 \times 10^{-4} \text{M}$ con una concentración de 2,94 $\mu\text{g/mL}$ a una dosis de 0,25 mL, como espasmógeno, atropina 10^{-5}M con concentración de 6,95 $\mu\text{g/mL}$ a una dosis de 0,25 mL como fármaco de referencia y las concentraciones de los extractos hidroalcohólicos al 1, 4 y 8%, igualmente con una dosis de 0,25 mL.

La atropina disminuye el tono y las contracciones, especialmente si existe hiperactividad y espasmo provocados por drogas colinérgicas relajando el músculo liso del intestino lo que coincide con la parte experimental. En el anexo 11 se observa que en la frecuencia de contracciones hubo una tendencia a la disminución de 2 mm aproximadamente lo cual atribuimos a las condiciones experimentales ya que también otro autor encontró este mismo comportamiento¹⁴

Durante los ensayos de preparación para el modelo experimental, no hubo cambios significativos en el íleon tratado con los solventes, agua o solvente orgánico en ausencia del extracto.

Teóricamente sabemos que el aceite esencial de la *Porophyllum ruderale*, está compuesto por limoneno (83,5%), mirceno (6,3%) y 1-undeceno (5,4%), *E*- β -ocimeno (54,9%) y β -pineno (10,1%) como los componentes principales.³³ Aquellos aceites esenciales con propiedades antiespasmódicas son los que contienen una mezcla de sesquiterpenos, aldehídos, ésteres, éteres, éter-óxidos, cetonas y cumarinas.³⁴ El cual podríamos predecir la propiedad antiespasmódica del rupay wachi por uno o más de estos compuestos terpénicos (monoterpenos) En la figura 1, Se observan las alturas alcanzadas por las contracciones (mm) generadas tras la administración de la acetilcolina, atropina y de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Porophyllum ruderale*, que se redujo de modo significativo la contracción provocada por la acetilcolina sobre el íleon aislado de cobayo con dosis de 1, 4 y 8%. Este efecto se manifestó en forma dosis dependiente, donde el extracto al 8% presentó un mayor efecto ya que inhibe marcadamente la respuesta contráctil (8,14 mm) luego de la inducción del espasmo con la acetilcolina $2 \times 10^{-4} M$ a la dosis de 2,94 $\mu g/mL$, cuya altura de acetilcolina sola fue de 9,33 mm.

También se observa que el extracto al 1% y 4% tienen una respuesta contráctil de (8,70 mm y 8,45 mm) respectivamente, luego de la inducción del espasmo con la acetilcolina y de forma similar la atropina a la dosis de $10^{-5} M$ que inhibe la respuesta contráctil en (7,06 mm) que es el fármaco de referencia.

En la figura 2 se observa el efecto antiespasmódico de los diferentes tratamientos, expresado en porcentaje de inhibición de la motilidad de los extractos hidroalcohólico de las hojas de *Porophyllum ruderale* y la atropina sobre íleon aislado de cobayo, inducida por la acetilcolina a la dosis de $2 \times 10^{-4} M$ y concentración de 2,94 $\mu g/mL$. El extracto al 1, 4 y 8% presentan efecto antiespasmódico menor, con un porcentaje de inhibición de (6,81%, 9,46% y 12,76% respectivamente) con respecto a la atropina que tiene (24,33%) de porcentaje de inhibición.

En el anexo 15 observamos el análisis de varianza del efecto antiespasmódico de los extractos hidroalcohólicos 1, 4 y 8% de *Porophyllum ruderale* luego de producir una disminución de la amplitud de las alturas inducidas por la acetilcolina $2 \times 10^{-4} M$ y concentración de 2,94 $\mu g/mL$, en el íleon aislado de cobayo, se encontró que

existe diferencia estadísticamente significativa ($p = 3,63 \times e-19$) entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

En el anexo 16 observamos el análisis de varianza del efecto antiespasmódico de los extractos hidroalcohólicos 1, 4 y 8% de *Porophyllum ruderale* luego de producir una disminución de la amplitud de las alturas inducidas por la acetilcolina $2 \times 10^{-4} M$ y concentración de 2,94 $\mu g/mL$, en el íleon aislado de cobayo, se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa ($p = 1,08 \times e-11$) entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

En el anexo 17 realizando comparaciones múltiples con la prueba de Tukey se muestran las significancias entre los extractos al 1, 4 y 8% cuyo valor es 1,000 (alfa = 0,05), por lo cual se afirma que los tratamientos son diferentes.

Por lo tanto, se puede establecer una relación dosis-respuesta, puesto que a mayor dosis se obtuvo una mayor disminución de la altura de contracción intestinal.

En el presente trabajo de investigación la atropina fue el fármaco que presentó la mejor actividad antiespasmódica, antagonizando por completo a la acetilcolina, seguido del extracto hidroalcohólico al 8% (figura 1), donde la atropina inhibe por completo a la acetilcolina disminuyendo la altura hasta un promedio de 7,06 mm y el extracto al 8% lo hace con un menor grado disminuyendo la altura hasta un promedio de 8,14 mm, similar respuesta encontró Fernández,¹² al utilizar infusiones de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”.

Las plantas de la Familia Asteraceae son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional debido a sus propiedades farmacológicas como analgésicas, antiinflamatorias, cicatrizantes y antiespasmódicas, ya que en su composición química se presentan generalmente aceites esenciales, flavonoides, taninos y alcaloides.^{34, 35}

Los flavonoides antiespasmódicos dilatan el tiempo de tránsito en el intestino delgado, inhibiendo la amplitud de la contracción fásica, disminuyen el tono del íleon antagonizan las contracciones inducidas con acetilcolina, prostaglandina E2 y $BaCl_2$ (cloruro de bario).³⁶ De acuerdo a las revisiones realizadas encontramos que los flavonoides con actividad antiespasmolíticas como los glicósidos de arpigénina,³⁶ y quercetina (*Matricaria chamomilla*), quercitrina (*Euphorbia hirta*), son flavonoides con actividad antiespasmolítica.^{11, 36} Se realizó el análisis fitoquímica del “rupay wachi” identificándose la presencia de flavonoides en menor

magnitud por lo que estos compuestos serían el responsable de la actividad antiespasmódica.

Igualmente, los alcaloides presentan antecedentes resaltantes como antiespasmódicos naturales, tal es el caso de la atropina presente en la *Atropa belladonna* y en la *Datura stramonium*.^{1, 34, 37} Los alcaloides del “rupay wachi” fueron identificados en menor proporción, la familia de las Asteráceas presenta alcaloides de tipo pirrolizidónico³⁵ y son de tendencia tóxico y espasmógeno³³, por ende contrarrestarían la actividad antiespasmódica de los flavonoides presentes en la planta.

En el presente trabajo se observó que el extracto del *Porophyllum ruderale* “rupay wachi” a dosis de 8% redujo la contracción provocada por la acetilcolina, sobre el íleon aislado de cobayo, con una altura de 8,14 mm y una inhibición de la motilidad intestinal de 12,76%.

Los resultados obtenidos nos permiten afirmar que el extracto del *Porophyllum ruderale* “rupay wachi” tiene actividad antiespasmódica a nivel de la musculatura lisa intestinal lo que corrobora de forma experimental el uso que como antiespasmódico le atribuye la medicina popular el empleo de esta planta en el tratamiento de afecciones del tracto gastrointestinal.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas del *Porophyllum ruderale* “rupay wachi” presenta actividad antiespasmódica en íleon aislado de cobayo.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas del *Porophyllum ruderale* “rupay wachi” son alcaloides, resinas, flavonoides, compuestos fenólicos, catequinas, quinonas y lactonas.
3. El extracto hidroalcohólico de *Porophyllum ruderale* presenta efecto dosis-dependiente, siendo mayor el efecto antiespasmódico al 8%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con el estudio del presente trabajo de investigación, determinando específicamente el principio activo principal responsable de la actividad antiespasmódica y otros estudios farmacológicos diferentes al investigado.
2. Realizar estudios de toxicidad y genotoxicidad, del *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini. “rupay wachi”, para dar un conocimiento más profundo y mejor uso de dicha planta por la población.
3. Se recomienda seguir investigando plantas con actividad antiespasmódica como una alternativa en el tratamiento de problemas gastrointestinales.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Undécima edición. Edit. Mc Graw Hill Interamericana – México; 2007.
2. Flores J. Farmacología humana. 2da edición. Ediciones científicas y técnicas S.A. Barcelona. España; 1992.
3. Lima G. Bonfim R. Silva M. Thomazzi S. Santos M. Quintans LJ. et al. “Assessment of antinociceptive and antiinflammatory activities of *Porophyllum ruderale* aqueous extract” Brazilian Journal of Pharmacognosy. [Revista científica]. 2011 mayo – junio [acceso agosto del 2016]. 21(3): 486-490. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v21n3/aop4411.pdf>
4. Jiménez M. Guzmán AP. Azuara E. García O. Mendoza MR. y Beristain C. “Volatile compounds and antioxidative activity of *Porophyllum tagetoides* extracts” Plant Foods Hum Nutr. [Revista científica]. 2012 marzo [acceso agosto del 2016]. 67(1):57-63. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22318745>
5. Juárez Z. Hernández L. Bach A. Sánchez E. y Bach H. “Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache mexicana* ssp. *Xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens” Elsevier. [Revista científica]. 2015 noviembre [acceso agosto del 2016]. Volume 74, 15 Pages 178–182. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015300686>
6. Guillet G. Belanger A. y Aranason JT. “volatile monoterpenes in *Porophyllum gracile* and *P. ruderale* (Asteraceae): identification, localization and insecticidal synergism with alfa-terthienyl”. ScienceDirect®. [Revista científica] 1998 setiembre [acceso del 2016]. Volume 49, Issue 2, 28. Pages 423–429. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942298001897>
7. Tapahuasco L. Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” en intestino de ratones. Tesis para optar título de química farmacéutica. UNSCH. Ayacucho – Perú. 2012.
8. Cuarez M. Efecto antiespasmódico del extracto clorofórmico y metanólico de las hojas *Ambrosia arborescens* Mill. “marco”. Tesis para optar título de química farmacéutica. UNSCH. Ayacucho – Perú. 2013.
9. Prado P. Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. “santa maría” en intestino de ratas wistar. Tesis para optar título de químico farmacéutico. UNSCH. Ayacucho – 2013.
10. Serrano L. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de íleon de cobayo. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. [Tesis doctoral]. 2005. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/1677/1/1080126698.PDF>
11. Gambassi E. y Ingianna J. Mecanismo de la acción antiespasmódica intestinal de las flores de *Matricaria chamomilla* L. Universidad de Costa Rica. [Revista en internet] 2002 enero. [acceso junio, 2016] disponible en: <http://www.ots.ac.cr/rbt/attachments/volumes/vol30-1/11-Ingianna-Matricaria.pdf>
12. Fernández T. Efecto antiespasmódico de infusión de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” sobre el íleon aislado de *Cavia porcellus* “cobayo”. Tesis para optar título de química farmacéutica. UNSCH. Ayacucho – 2005.
13. Espinoza A. Evaluación del efecto antiespasmódico del extracto fluido de las hojas de *Marrubium vulgare* L. “oje jora” en íleon aislado del cuy. Tesis para optar título de químico farmacéutico. UNSCH. Ayacucho – 2006.

14. Espinoza P. Efecto antiespasmódico de los extractos de *Melissa officinalis* L. “toronjil”. Tesis para optar título de químico farmacéutico. UNSCH. Ayacucho – 2004.
15. Yuncacallo K. Efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. “pampa salvia”. Tesis para optar título de química farmacéutica. UNSCH. Ayacucho – 2005.
16. Rainer W. Glenn A. y Sharon D. Healing the body and soul: Traditional remedies for “magical” ailments, nervous system and psychosomatic disorders in Northern Peru. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. [Revista en internet] 2010 agosto [acceso junio, 2016]. Vol. 4(9). pp. 580-629. Disponible en:
http://www.academicjournals.org/article/article1380787657_Busmann%20et%20al.pdf
17. Cronquist A “The evolution and classification of flowering plants” de Universidad de Michigan, Edit New York Botanical Garden, Edic. 2, ilustrada 24 Feb 2010 SBN0893273325, 9780893273323
18. Hanan A. y Mondragón J. Fichas de plantas asteráceas. CONABIO. [Página web]. 2009. [acceso julio, 2016] disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/porophyllum-macrocephalum/fichas/ficha.htm>
19. Herbalpedia. “*Porophyllum ruderale*”. HERBALPEDIA™. [Revista en internet]. 2002. [acceso julio, 2016] disponible en: <http://www.herbnet.com/Papalo.pdf>
20. Conde LA. y Guerrero JA. Total phenolics and antioxidant activity of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. Food Chemistry, Volume 142. Pages 455–460. [Revista en internet]. 2013. [acceso julio, 2016] disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613010078>
21. Sha L. Shu-Ke L. Ren-You G. Feng-Lin S. Lei K. y Hua-Bin L. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. Food Chemistry, Volume 51, Pages 289–298. [Revista en internet]. 2013. [acceso julio, 2016] disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013005281>
22. Diana B Muniz Marquez, Blanca Valdivia Urdiales, Maria L. Carrillo Inungaray Et-al. El uso alternativo de fitoquímicos de algunas especies para el control de enfermedades transmitidas por alimentos, Acta Química Mexicana [revista en internet] 2010 [acceso julio 2017]. Disponible en: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%204/AQM4fitoquimicos.html>.
23. Ludmila R. Young MC. Cordeiro I. y Moreno P. La diferenciación de las dos *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subespecie de la composición de aceite esencial Journal of Essential Oil Research. Volumen 27 - Número 1. [Revista en internet] 2013. [acceso julio, 2016] disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10412905.2014.962188>
24. Barbosa MZ. Andrade M. y Mendes R. El aceite esencial de *Porophyllum ruderale* Cass (Asteraceae). Journal of Essential Oil Research. Volumen 14 – Número 1 [Revista en internet] 2002. [acceso julio, 2016] disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2002.9699746?src=ecsys>
25. Lorenzo V. Moreno A. Lizasoain I. Leza JC. Moro MA. y Portolés A. Farmacología básica y clínica. Edit. Médica Panamericana. 18ª edición. Buenos Aires; 2008.
26. Litter M. Compendio de Farmacología. Editorial. El Ateneo, 4ª edición. Buenos Aires, Argentina. 1991.
27. Villar de Fresno M. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España. 1999.
28. Lock O. “Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales”. Fondo Editorial PUCP Lima-Perú. 1994.

29. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos – Universidad de la Habana. La Habana; 1996.
30. Miranda M. y Cuellar A. Manual de prácticas de Laboratorio: “Farmacognosia y Productos Naturales” Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana Habana-Cuba. 2000.
31. Canales C, Cubias R, Perez L. Determinación del efecto antiespasmódico que poseen las hojas de *Ambrosia cumanensis* (altamisa), *Psidium guajaba* (guayabo), *Aloe vera* (sábila) sobre el músculo liso aislado en animales de experimentación. [tesis bachiller]. El Salvador: Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador; 2004.
32. Hernández R. Fernández C. y Baptista P. “Metodología de la investigación”. Edit. Mc Graw Hill. 5^{ta} edición. México. 2010.
33. Raggi L. Young MC. Codeiro I. y Moreno P. La diferenciación de las dos *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. subespecie de la composición de aceite esencial. *Journal of Essential Oil Research*. [Revista en internet] 2014 agosto – octubre [acceso junio, 2016]. Volume 27, Pages 30-33. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10412905.2014.962188>
34. Kuklinski C. Farmacognosia. Barcelona: Omega, S.A.; 2003.
35. Ke J. Zhu S. Yilin C. Yi-ling C. Yousheng C. Yourun L. y col. Asteráceas (compositae). *Flora of China 1 (Asteraceae)*. Science Press (Beijing) & Missouri Botanical Garden Press (St. Louis). [Revista en internet]. 2011 [acceso, julio 2016]. Volume 20–2. Disponible en: <http://www.eflora.cn/foc/pdf/Asteraceae.pdf>
36. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Acribia S.A. Zaragoza – España. 1991.
37. Salinas P. y Bermúdez M. Principios activos y utilización terapéutica de las plantas tóxicas del género *Datura*. *Revista de la Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes*. [Revista en internet]. 1999 [acceso, julio 2016]. Vol.5 N°1-4. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/21742/1/articulo1.pdf>.

ANEXOS

Anexo 1

Certificado de clasificación taxonómica del “rupay wachi” *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini.



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

C E R T I F I C A

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Nils Yonatan, VILLAVICENCIO ARAUJO, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

| | | |
|-----------|---|---|
| DIVISIÓN | : | MAGNOLIOPHYTA |
| CLASE | : | MAGNOLIOPSIDA |
| SUB CLASE | : | ASTERIDAE |
| ORDEN | : | ASTERALES |
| FAMILIA | : | ASTERACEAE |
| GENERO | : | Porophyllum |
| ESPECIE | : | <i>Porophyllum ruderale</i> (Jac.) Cassini. |
| N.V. | : | “rupay huachi” |

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

Ayacucho, 15 de Julio del 2016

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

JEFE

Anexo 2

Ficha etnobotánica del “rupay wachi” *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini.

RUPAY HUACHI.

NOMBRE CIENTÍFICO : *Porophyllum ruderale*

Nombre común : “rupay huachi”

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA :

Planta herbácea, de color azul verdoso, de aproximadamente de 20 a 30 cm. de alto, tallo ramificado,, hojas simples, pecioladas, lisas, de disposición alterna, de limbo algo alargadas de bordes ondulados, con glándulas translúcidas que despiden un olor desagradable parecido a ruda, culantro por el contenido de esencias.

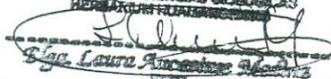
Inflorescencias en capítulos terminales, solitarias, rodeada por un involucre formada por largas brácteas unidas entre sí, angostamente cilíndricos y estrechándose hacia el ápice ; los receptáculos de la inflorescencia son pequeños y no presentan brácteas (páleas) o sea que son desnudos., los capítulos están formados por 2 tipos de flores, las marginales blancas, liguladas, femeninas e infértiles y las centrales o flores del disco tubuladas,, bisexuales y amarillas ; fruto aquenio.

HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN :

Crece como maleza en los terrenos de cultivo, en la costa y valles interandinos, en zonas xerofíticas y terrenos pedregosos

USOS :

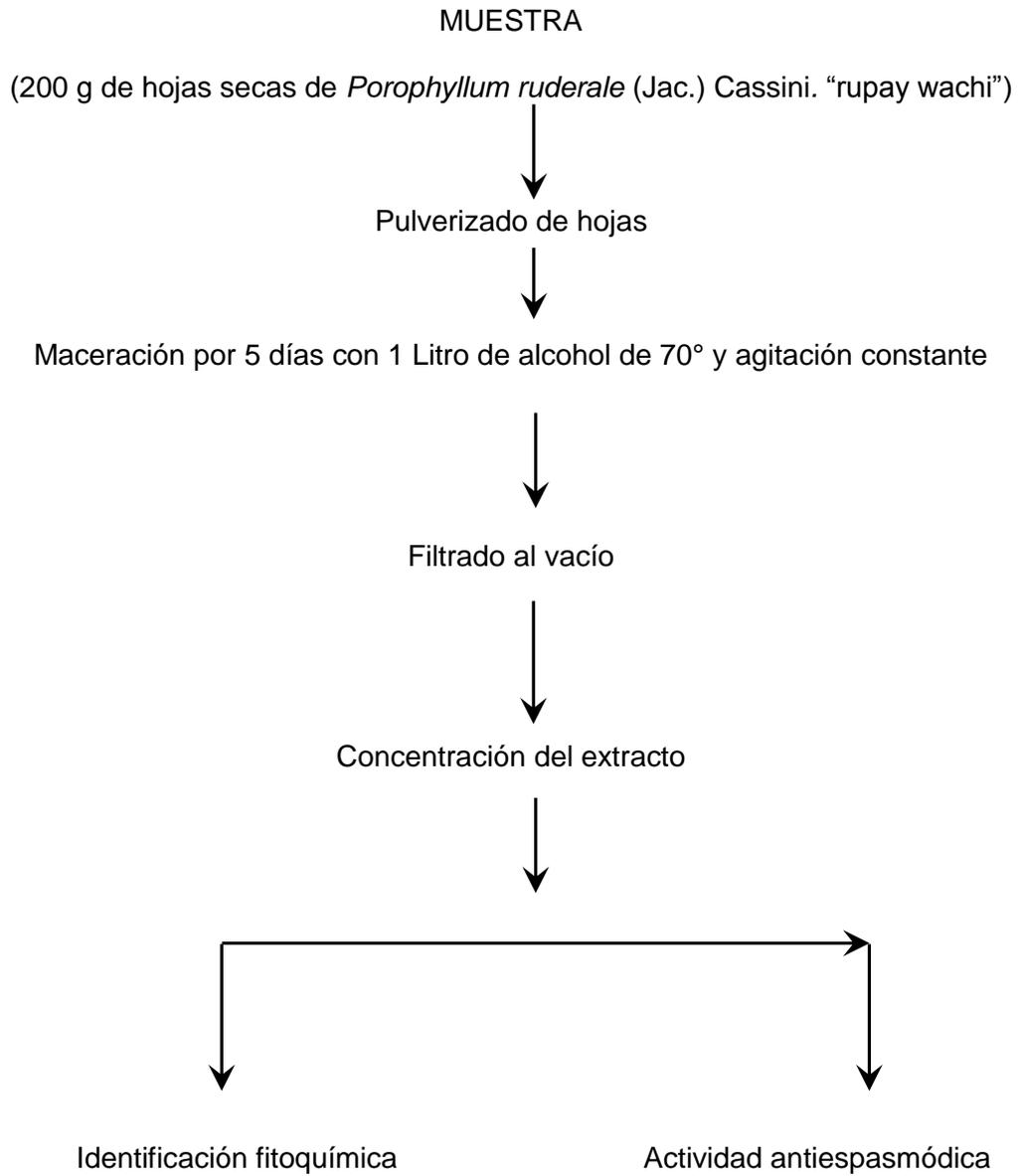
Los pobladores de la zona utilizan como laxante, enfermedades hepáticas, como emenagogo, para el mal aliento , problemas digestivos, cólicos, presión alta tomando el cocimiento de la raíz o la infusión de las hojas además se usa como condimento de comidas típicas como sopas guisos y salsas.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUASANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM


Bga. Laura Aucasime Medina.

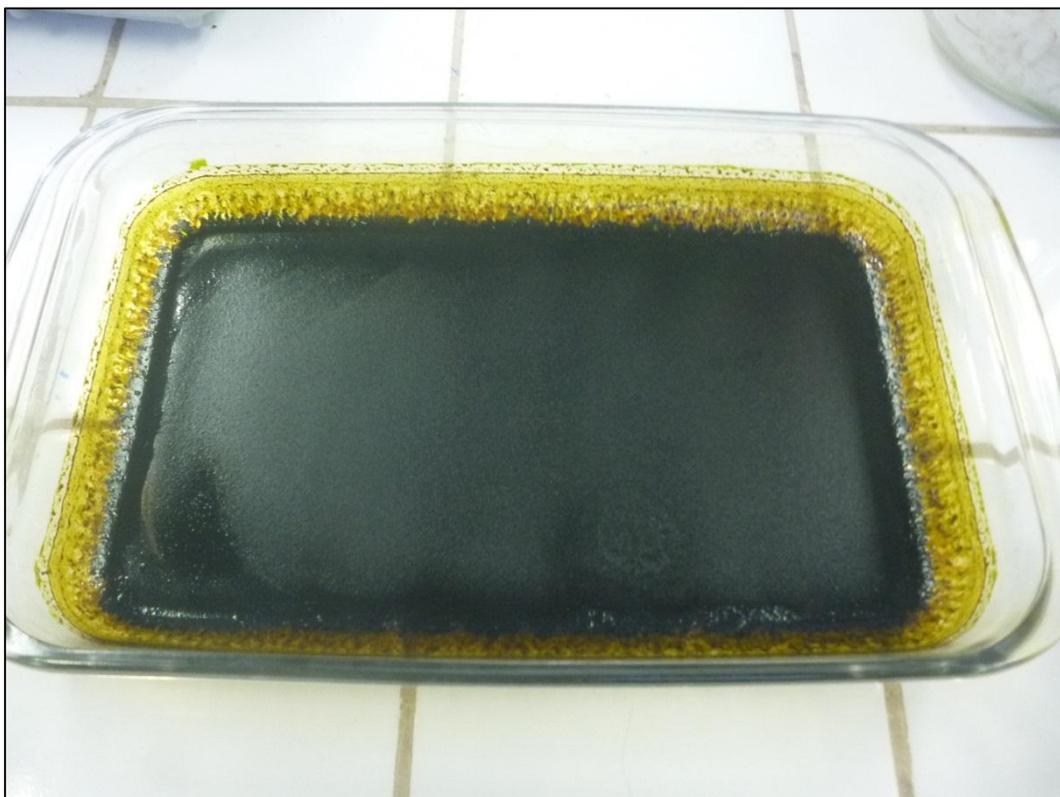
Anexo 3

Flujograma de obtención del extracto hidroalcohólico de hojas de *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini. "rupay wachi"). Ayacucho 2016.



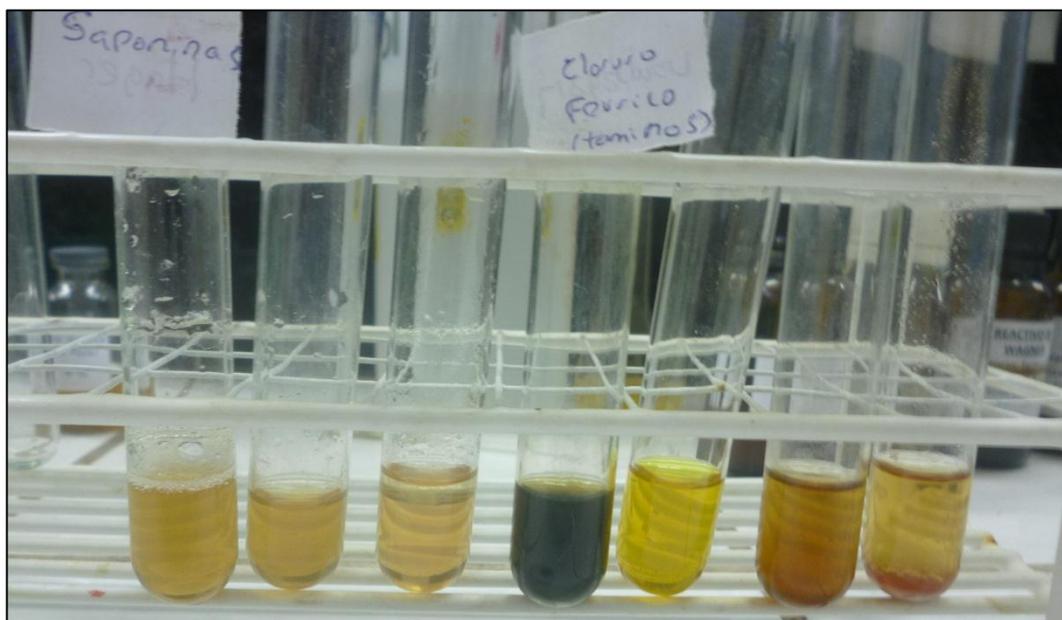
Anexo 4

Extracto hidroalcohólico concentrado de *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini. “rupay wachi”. Laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016.



Anexo 5

Identificación fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini. "rupay wachi". Laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016.



Anexo 6

Análisis de parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico de *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini. “rupay wachi”. Ayacucho 2016.

| Tipo | Parámetros | Ensayos | Resultados |
|-----------------------------|---------------|------------|--------------|
| Extracto hidroalcohólico | Organoléptico | Color | Verde |
| | | Olor | Sui géneris |
| | | Sabor | Amargo |
| | | Aspecto | Resinoso |
| | Solubilidad | Agua | Soluble |
| | | Etanol | Soluble |
| | | cloroformo | Insoluble |
| | | Éter | Poco soluble |
| | pH | | 6,88 |

Anexo 7

Composición del medio nutritivo Tyrode.

| Componentes | Cantidad |
|--|-------------------|
| Cloruro de sodio (NaCl) | 6,0 g |
| Cloruro de potasio (KCl) | 0,2 g |
| Cloruro de calcio (CaCl ₂) | 0,2 g |
| Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃) | 1,0 g |
| Fosfato de sodio monobásico (NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O) | 0,05 g |
| Cloruro de magnesio hexahidratado (MgCl ₂ .6H ₂ O) | 0,2 g |
| Agua destilada (H ₂ O) | Csp. para 1000 mL |

Fuente: Adam G. y col.

Anexo 8

Extracción de intestino de *Cavia porcellus* "cobayo". Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016.



Anexo 9

Colocación del intestino de *Cavia porcellus* “cobayo” en el quimógrafo automatizado de Panlab Harvard. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016.



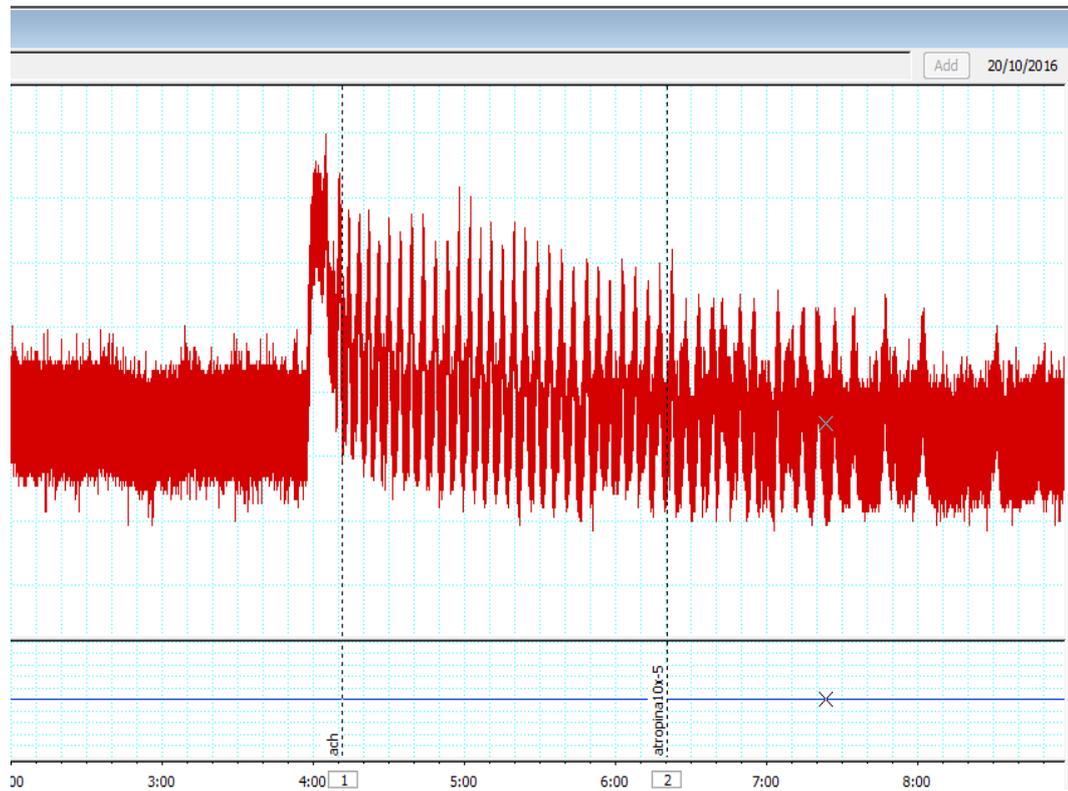
Anexo 10

Administración de las drogas en el líquido nutritivo Tyrode del quimógrafo automatizado de Panlab Harvard. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho 2016.



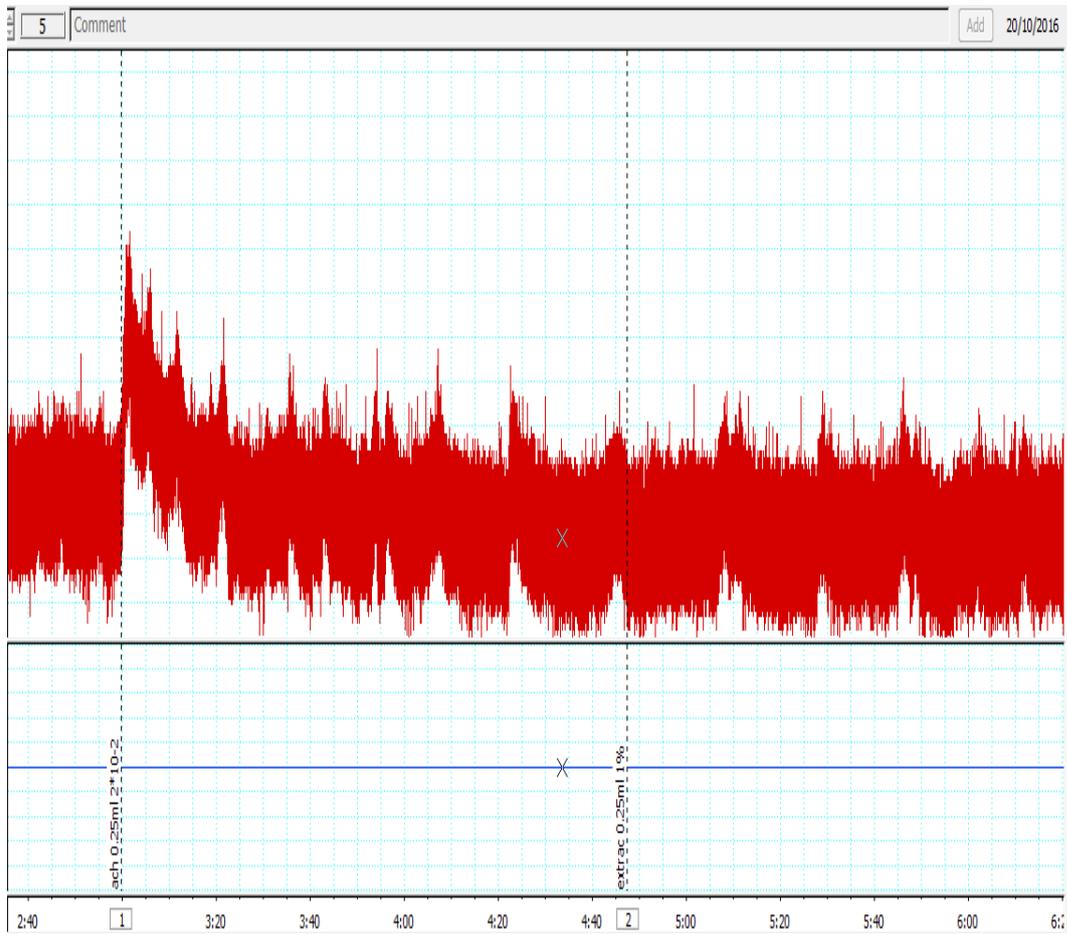
Anexo 11

Respuesta del órgano aislado tras la aplicación de acetilcolina y atropina (fármaco de referencia) en íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo". Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica Ayacucho 2016.



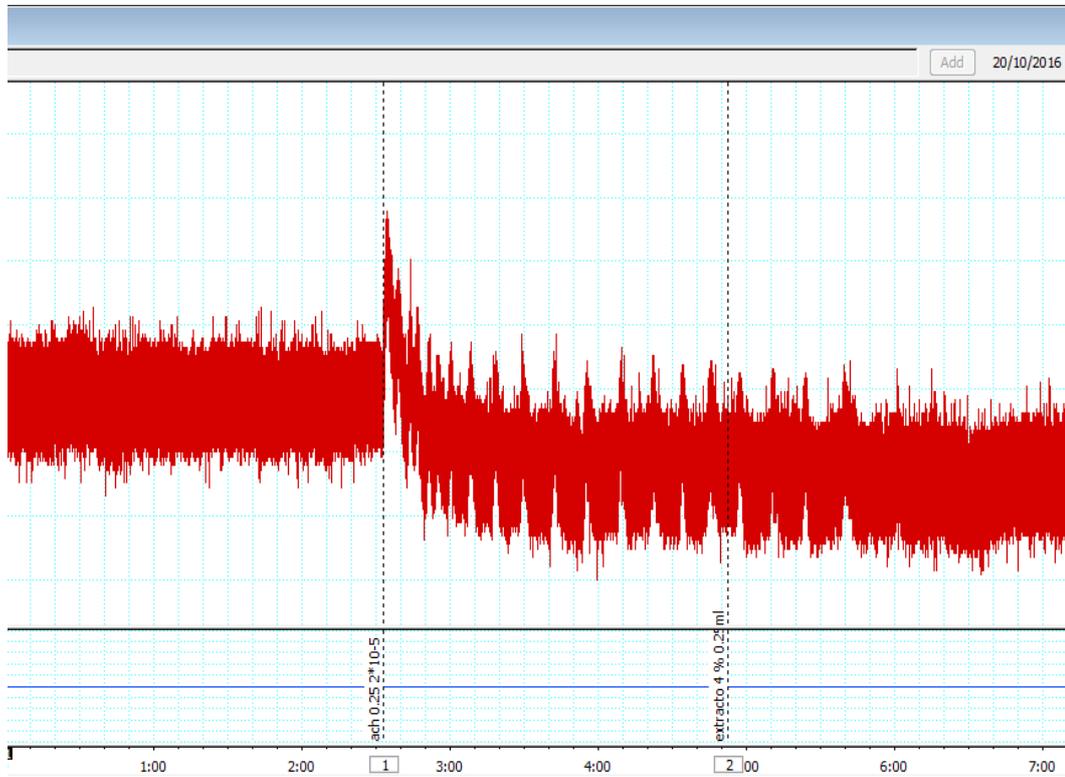
Anexo 12

Respuesta del órgano aislado tras la aplicación de acetilcolina y el extracto al 1%. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica Ayacucho 2016.



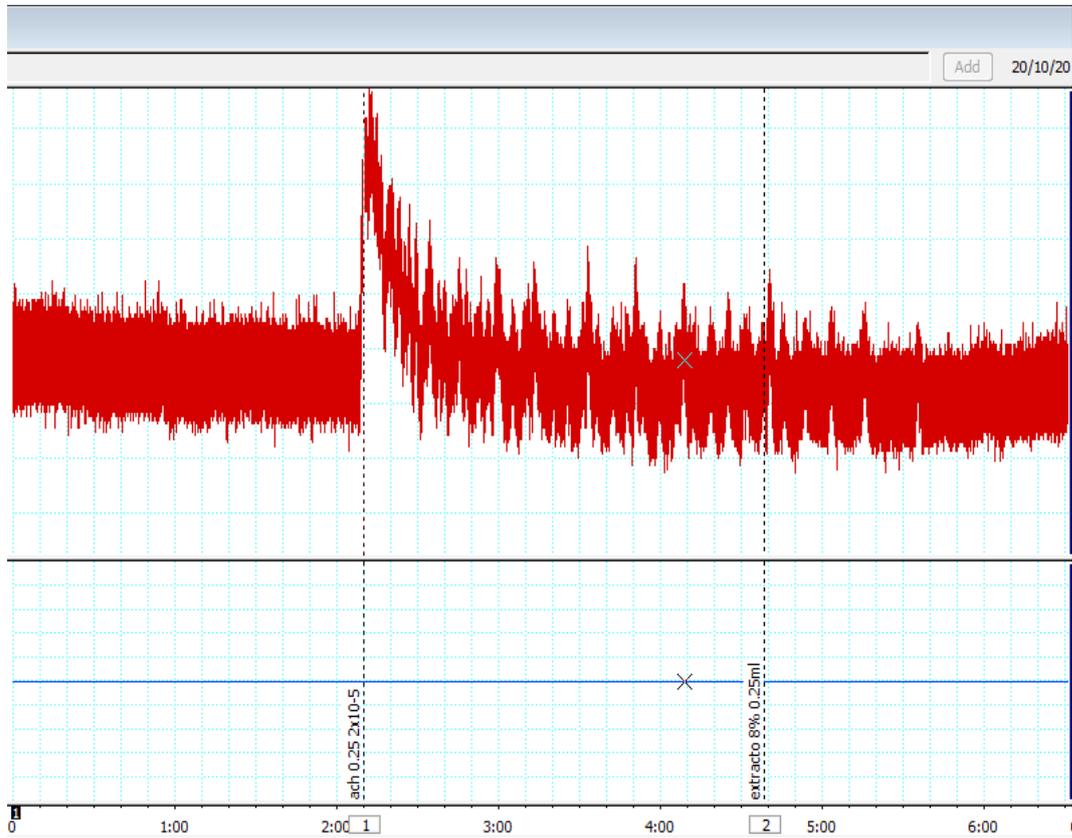
Anexo 13

Respuesta del órgano aislado tras la aplicación de acetilcolina y el extracto al 4%. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica Ayacucho 2016.



Anexo 14

Respuesta del órgano aislado tras la aplicación de acetilcolina y el extracto al 8%. Laboratorio de Farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica Ayacucho 2016.



Anexo 15

Análisis de varianza de las alturas generadas tras la aplicación de acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016.

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------------|----------------------|----|---------------------|---------|-------------------------|
| Inter-grupos | 14,004 | 4 | 3,501 | 438,274 | 3,63 x e ⁻¹⁹ |
| Intra-grupos | 0,160 | 20 | ,008 | | |
| Total | 14,164 | 24 | | | |

Anexo 16

Análisis varianza de los porcentajes de inhibición generadas tras la aplicación de acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016.

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------------|----------------------|----|---------------------|---------|-------------|
| Inter-grupos | 893,892 | 3 | 297,964 | 139,942 | 1,08 x e-11 |
| Intra-grupos | 34,067 | 16 | 2,129 | | |
| Total | 927,959 | 19 | | | |

Anexo 17

Prueba de Tukey de las alturas generadas tras la aplicación de la acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016.

HSD de Tukey^a

| Tratamientos | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | | |
|-----------------|---|------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Atropina | 5 | 7,0620 | | | | |
| Extracto al 8 % | 5 | | 8,1420 | | | |
| Extracto al 4 % | 5 | | | 8,4500 | | |
| Extracto al 1 % | 5 | | | | 8,6980 | |
| Acetilcolina | 5 | | | | | 9,3340 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

Anexo 18

Prueba de Tukey de los porcentajes de inhibición generadas tras la aplicación de la acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016.

HSD de Tukeya

| Tratamientos | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | |
|-----------------|---|------------------------------|--------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Extracto al 1 % | 5 | 6,8080 | | | |
| Extracto al 4 % | 5 | | 9,4620 | | |
| Extracto al 8 % | 5 | | | 12,7600 | |
| Atropina | 5 | | | | 24,3280 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

Anexo 19

Análisis descriptivo de las alturas generadas tras la aplicación de la acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016.

| Tratamientos | N | Alturas de las contracciones (media) | Desviación típica | Error típico | Intervalo de confianza para la media | | Mínimo | Máximo |
|-----------------|----|---|----------------------|--------------|--------------------------------------|-----------------|--------|--------|
| | | | | | al 95% | | | |
| | | | | | Límite inferior | Límite superior | | |
| Acetilcolina | 5 | 9,3340 | ,09711 | ,04343 | 9,2134 | 9,4546 | 9,20 | 9,45 |
| Atropina | 5 | 7,0620 | ,10616 | ,04748 | 6,9302 | 7,1938 | 6,89 | 7,17 |
| Extracto al 1 % | 5 | 8,6980 | ,10849 | ,04852 | 8,5633 | 8,8327 | 8,54 | 8,79 |
| Extracto al 4 % | 5 | 8,4500 | ,04637 | ,02074 | 8,3924 | 8,5076 | 8,39 | 8,50 |
| Extracto al 8 % | 5 | 8,1420 | ,07294 | ,03262 | 8,0514 | 8,2326 | 8,05 | 8,23 |
| Total | 25 | 8,3372 | ,76821 | ,15364 | 8,0201 | 8,6543 | 6,89 | 9,45 |

Anexo 20

Análisis descriptivos de los porcentajes de inhibición generados tras la aplicación de la acetilcolina, atropina y los extractos (1%, 4% y 8%). Ayacucho 2016.

| | N | Media | Desviación típica | Error típico | Intervalo de confianza para la media al 95% | | Mínimo | Máximo |
|-----------------|----|---------|-------------------|--------------|---|-----------------|--------|--------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior | | |
| Atropina | 5 | 24,3280 | 1,81097 | ,80989 | 22,0794 | 26,5766 | 22,07 | 27,09 |
| Extracto al 1 % | 5 | 6,8080 | 1,26685 | ,56655 | 5,2350 | 8,3810 | 5,28 | 8,66 |
| Extracto al 4 % | 5 | 9,4620 | 1,30360 | ,58299 | 7,8434 | 11,0806 | 7,72 | 10,58 |
| Extracto al 8 % | 5 | 12,7600 | 1,39029 | ,62176 | 11,0337 | 14,4863 | 11,41 | 14,81 |
| Total | 20 | 13,3395 | 6,98856 | 1,56269 | 10,0688 | 16,6102 | 5,28 | 27,09 |

Anexo 21

Matriz de consistencia

TITULO: Evaluación de la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Porophyllum ruderale* (Jac.) Cassini. “rupay wachi”, sobre el íleon aislado de *Cavia porcellus* “cobayo”. Ayacucho 2016.

| Titulo | Problema | Objetivo | Hipótesis | Variable | Marco teórico | Metodología |
|--|---|--|---|--|--|--|
| Evaluación de la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> “rupay wachi”, sobre el íleon aislado de <i>Cavia porcellus</i> “cobayo”. Ayacucho – 2016. | ¿Tendrá actividad antiespasmódica el extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> “rupay wachi”, sobre el íleon de <i>Cavia porcellus</i> “cobayo”? | <p>GENERALES:</p> <p>Evaluar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> “rupay wachi”, en íleon aislado de <i>Cavia porcellus</i> “cobayo”.</p> <p>ESPECÍFICOS:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Identificar los metabolitos presentes del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> “rupay wachi”. - Determinar el porcentaje que presenta mayor efecto antiespasmódica | El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> ; “rupay wachi”; posee actividad antiespasmódica. | <p>Variable Independiente</p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas del <i>Porophyllum ruderale</i>; “rupay wachi”</p> <p>Indicadores:</p> <p>Concentraciones de extractos: 1%, 4% y 8%</p> <p>Variable Dependiente</p> <p>Actividad antiespasmódica frente a íleon aislado de <i>Cavia porcellus</i> “cobayo”.</p> <p>Indicadores:</p> <p>Numero de contracciones en milímetros de desplazamiento.</p> | <p><i>Porophyllum ruderale</i>; el rupay wachi; es una planta herbácea que crece en las zonas andinas y subandinas. La planta llega a crecer hasta 1,5 metros de altura. Las hojas son de color verde azulado que presentan unos pequeños poros por los cuales segrega el aceite que contiene el aroma y sabor característico de la planta.</p> <p>Usos: Se usa como condimento en las comidas típicas de la región como “patachi”, “pachamanca” y el “ceviche”; desconociéndose sus usos medicinales.</p> <p>La acetilcolina (Ach): es un neurotransmisor en el SNC y SNP. En el músculo liso estimula la fibra lisa del aparato gastrointestinal, urogenital y respiratorio aumentando el tono y la motilidad. Los agentes antimuscarínicos como la atropina antagonizan la acción muscarínica de la acetilcolina.</p> <p>Mecanismo de acción de la atropina</p> <p>La atropina ejerce su acción a través de un antagonismo competitivo con la acetilcolina y otros antagonistas colinérgicos, por los receptores muscarínicos.</p> | <p>Tipo de estudio: Básico</p> <p>Nivel de estudio: Experimental</p> <p>Diseño muestral:</p> <p>Población: Plantas de <i>Porophyllum ruderale</i> “rupay wachi” del centro poblado Qochapampa del barrio Santa Ana – Ayacucho.</p> <p>Muestra: 200 g de hojas de <i>Porophyllum ruderale</i> “rupay wachi” del centro poblado Qochapampa del barrio Santa Ana a 2 800 msnm – Ayacucho.</p> <p>Metodología:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se usó cobayos con un peso entre 300 y 500 g. El extracto hidroalcohólico se empleó a diferentes concentraciones 1%, 4% y 8%. • Se aisló el íleon del cobayo adecuadamente y colocado en el baño de órganos aislados con líquido nutritivo de Tyrode atemperado y oxigenado. Ligando con hilo los extremos del segmento aislado. • Se registró el peristaltismo basal. Observando y registrando la respuesta contráctil máxima del íleon en presencia de acetilcolina, en presencia del extracto y de atropina. <p>Análisis de datos:</p> <p>Para el análisis estadístico, todos los datos fueron sometidos al Análisis de Varianza ANOVA y la prueba de Tukey mediante el software estadístico SPSS 21.0 para windows. Representado en cuadros y gráficos. Se realizó con un nivel de confianza de 95% para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos.</p> |