

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**



**Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico
de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” en
intestino de ratones albinos. Ayacucho - 2012.**

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

Presentado por:

Bach. TAPAHUASCO CÁRDENAS, Liliana

AYACUCHO – PERÚ

2012

DEDICATORIA

A Dios.

A mis queridos padres y hermanos.

A mis amigas Dorita y Katina.

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Máter, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haber sido la cuna de mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y en ella a toda su plana docente, por brindarme sus conocimientos, consejos, apoyo y orientación durante mi formación académica.

A mis asesores Mg. Q.F. Enrique Javier Aguilar Felices y Mg. Q.F. Edwin Carlos Enciso Roca, por su apoyo en la conducción del presente trabajo de investigación, cuyos esfuerzos se materializan en este informe.

A los profesores Mg. José Manuel Diez Macavilca, Mg. Marco Aronés Jara, Mg. Aldo Johnny Tinco Jayo y a las personas, que de una u otra manera, colaboraron en la realización y conclusión del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. <i>Ambrosia arborescens</i> Mill.	9
2.3. Intestino delgado	12
2.4. Diarrea aguda	14
2.5. Fármacos que afectan la función gastrointestinal	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1. Lugar de ejecución	18
3.2. Muestra vegetal	18
3.3. Animales de experimentación	18
3.4. Diseño metodológico	19
3.5. Determinación de la toxicidad aguda oral	22
IV. RESULTADOS	24
V. DISCUSIÓN	31
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	36
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	43

Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” en intestino de ratones albinos. Ayacucho - 2012.

AUTOR : Bach. TAPAHUASCO CÁRDENAS, Liliana

ASESORES : Mg. Q.F. AGUILAR FELICES, Enrique Javier y
Mg. Q.F. ENCISO ROCA, Edwin Carlos.

RESUMEN

En este estudio se evaluó la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de la hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco”, utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales. La planta se recolectó en el distrito de Chiara, provincia de Huamanga, en el departamento de Ayacucho. La ejecución del proyecto se llevó a cabo en los Laboratorios de Farmacología y Farmacognosia del Área Académica de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de Julio a Octubre del 2012. El tamizaje fitoquímico se realizó según el procedimiento descrito por Miranda y Cuéllar (2002). Para evaluar la actividad antiespasmódica se emplearon tres modelos *in vivo*: prueba de motilidad intestinal según Morón y Col. (1999), diarrea y enteroestancamiento inducidos por aceite de ricino propuestos por Ukwuani y Col. (2012); y la toxicidad se valoró por el método de dosis límite (2 000 mg/kg) según la OECD (2001). El tamizaje fitoquímico reporta la presencia de catequinas, azúcares reductores, aminoácidos, alcaloides, lactonas, triterpenoides y esteroides, saponinas, fenoles y taninos, quinonas, flavonoides y principios amargos. En cuanto a la actividad antiespasmódica se observan buenos resultados a dosis orales de 400 mg/kg en comparación con el estándar utilizado en cada experimento. El resultado de la toxicidad confirma que el extracto no es tóxico a dosis de 2 000 mg/kg. Así los resultados obtenidos en este estudio validan la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco”.

Palabras clave: *Ambrosia arborescens* Mill., extracto hidroalcohólico, actividad antiespasmódica.

I. INTRODUCCIÓN

Ambrosia arborescens Mili. "marco" es una planta nativa de la cordillera de América del Sur, se desarrolla en suelos arenosos, poco fértiles, ligeramente alcalinos (Vera, 2008); conocida por sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias, digestivas y como repelente contra insectos (Pietrellini, 2007; Vera, 2008 y Cruz 2009). Contiene cardiotónicos, triterpenos y/o esteroides, taninos, flavonoides, alcaloides, azúcares reductores, saponinas, principios amargos y resinas (Cruz, 2009).

Herz y Col. (1968), reportaron, a partir de dos colecciones de especies del Perú de *Ambrosia arborescens*, el aislamiento de lactonas sesquiterpénicas. Vera (2008), realizó un estudio fitoquímico de *Ambrosia arborescens* Miller, recolectada en Ecuador que condujo al aislamiento de cinco sesquiterpenlactonas y cinco compuestos fenólicos (entre los cuales dos pertenecen al grupo de los flavonoides).

Los flavonoides son un grupo grande de metabolitos secundarios con variada actividad farmacológica entre las que destacan: antioxidante, antiinflamatoria, antiespasmódica, antimicrobiana, citoprotectora, analgésica (Bruneton, 2001; Kuklinski, 2003).

Las lactonas sesquiterpénicas presentan gran importancia por la variada acción

biológica que han demostrado: acción citotóxica, antitumoral, analgésica, inhibidores del crecimiento de bacterias (Lock, 1994) y antiespasmódica (Emendofer y Col., 2005 y Pérez y Col., 2012).

El género *Ambrosia* ha sido estudiado como antioxidante (Zoran, 2008), antiepiléptico (Buznego y Col., 1988; Buznego y Pérez, 2004), antiinflamatorio (Lastra y Col., 2004), antibacteriano y fungicida (Chalchat y Col., 2004; Wang y Col., 2006; Yañez y Col., 2011).

Como vemos el género *Ambrosia* ha sido objeto de numerosos estudios tanto en el campo fitoquímico como farmacológico, sin embargo, son pocos los reportes específicos de esta planta en particular.

De esta forma el conocimiento etnofarmacológico de la especie ha motivado investigaciones tendientes a corroborar o a refutar la hipótesis generada a partir de su uso popular con fines terapéuticos.

Por medio de la validación farmacológica de la actividad antiespasmódica de la planta se aportarán datos importantes al conocimiento popular para hacer un mejor y más adecuado uso de la flora de nuestra región.

Aún en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina, pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir esta confianza en la naturaleza, sino para agrupar a las plantas de efectos similares, para conocer los principios activos responsables de aliviar o curar enfermedades, separarlos de las plantas que lo contienen, determinar sus estructuras químicas, procurar su síntesis, proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad y, finalmente, dar a conocer a la humanidad los resultados de los estudios (Lock, 1994).

En tal sentido se plantea evaluar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino

de ratones albinos teniendo en cuenta los siguientes objetivos específicos:

1. Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".
2. Precisar el efecto de la motilidad intestinal por la administración de las diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en los diferentes modelos experimentales in vivo (prueba de motilidad intestinal, diarrea inducida por aceite de ricino y enteroestancamiento inducido por aceite de ricino) frente al grupo control.
3. Determinar la toxicidad aguda oral por el método de dosis límite (2 000 mg/kg) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en ratones albinos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes etnobotánicos, fitoquímicos y biológicos del género *Ambrosia*.

Estudios etnobotánicos reportan que *Ambrosia peruviana* se emplea como hipotensor, antiespasmódico, depurativo, diaforético y en trastornos menstruales (Hernández y Col., 2002; Lans, 2007; Zapata y Col., 2010).

Cruz (2009), reporta la presencia de alcaloides, cardiotónicos, triterpenos y/o esteroides, taninos, flavonoides, azúcares reductores, saponinas, principios amargos y resinas en el extracto fluido de *Ambrosia arborescens*. Guauque y Col. (2010), determinaron la composición química de *Ambrosia peruviana* recolectada en Colombia, reportando: alcaloides, flavonoides, quinonas, taninos, saponinas, cumarinas, lactonas terpénicas, glucósidos cardiotónicos y carbohidratos. Asimismo, realizó ensayos de citotoxicidad en crustáceos adultos de *Artemia salina* obteniendo un valor de concentración letal media (CL₅₀) de 64,2 ug/ml para el extracto etanólico y CL₅₀ de 840,46 ug/ml para el extracto acuoso. Existe una vasta literatura sobre estudios fitoquímicos del género *Ambrosia* de terpenos y algunos flavonoides, que son los compuestos mayormente representados (Anexo N° 07). Herz y Col. (1968), reportaron, a

partir de dos colecciones de especies del Perú de *Ambrosia arborescens*, el aislamiento de cuatro lactonas sesquiterpénicas: damsina, coronopilina, psilostachina y psilostachina C. Vera (2008), realiza el aislamiento de compuestos de naturaleza triterpenoídica y flavonoides de *Ambrosia arborescens* que concuerdan con estudios precedentes realizadas en plantas del mismo género. Entre las lactonas sesquiterpénicas se reporta psilostachina ($C_{15}H_{20}O_5$), psilostachina C ($C_{15}H_{20}O_4$), damsina ($C_{15}H_{20}O_3$), coronopilina ($C_{15}H_{20}O_4$) y dihidrocoronopilina ($C_{15}H_{22}O_4$). Entre los derivados fenólicos tenemos: benzil β - D - glucopiranosida ($C_{13}H_{18}O_6$), 3', 4', 5, 7 - tetrahidroxi - 3, 6, 8 - trimetoxi flavona ($C_{18}H_{16}O_9$), limocitrin ($C_{17}H_{14}O_8$), ácido salicílico ($C_7H_6O_3$), p - hidroxiacetofenona ($C_8H_8O_2$). El 3', 4', 5, 7 - tetrahidroxi - 3, 6, 8 - trimetoxi flavona y el limocitrin forman parte de los flavonoles (flavonoides).

Estudios biológicos del género *Ambrosia* reportan que ha sido estudiada como antioxidante por los flavonoides y glicósidos que contienen (Zoran, 2008), y que son utilizados en el tratamiento de infecciones por *Schistosoma mansoni* (Abadome y Col., 1994), antiépiléptico (Buznego y Col., 1998; Buznego y Pérez, 2004), y como antiinflamatorio por la capacidad del compuesto cumain de inhibir la producción de óxido nítrico, importante mediador en los procesos inflamatorios (Lastra y Col., 2004).

En cuanto a estudios realizados en aceites esenciales: Chalchat y Col. (2004), identificaron 51 compuestos en el aceite esencial obtenido de *Ambrosia artemisiifolia* recolectada en Belgrado (República de Serbia) sus principales componentes fueron: D - germacreno (24,1%), limoneno (16,83%), α - pineno (8,0%) y mircineno (7,4%), y observaron importante actividad bactericida y fungicida. Wang y Col. (2006), determinaron la composición química del aceite esencial de *Ambrosia trifida* de China encontrando como compuestos

mayoritarios el acetato de bornilo (15,5%), borneol (8,5%), óxido de cariofileno (8,3%), α - pineno (8,0%) atribuyendo a estos la actividad antibacteriana. Naranjo y Col. (2007), realizaron un estudio para determinar la composición del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* y sus propiedades. Se encontró una composición rica en monoterpenos en pequeñas concentraciones, destacándose una concentración muy importante de la crisantenona y en porcentajes representativos de sesquiterpenos como: γ - curcumeno y D - germacreno (Anexo N° 08). La presencia de estos componentes manifiesta el poder tóxico que posee esta especie, este resultado motivó a realizar pruebas de actividad alelopática frente a otras especies, dando un resultado positivo, pudiendo estar esta actividad relacionada con funciones de protección o defensa de las plantas contra ataques de microorganismos o insectos (Vera, 2008). Yañez y Col. (2011), determinaron la composición química del aceite esencial obtenido de las hojas de *Ambrosia peruviana Willd.* recolectada en Guasualito (Venezuela); encontrando como compuestos mayoritarios al γ - curcumeno (23,99%), seguido de α - curcumeno (14,08%), acetato de bornilo (10,35%), camfor (5,03%) y epóxido de oximeno (4,79%) y observaron importante actividad antibacteriana.

2.1.2. Antecedentes de estudio antiespasmódico de plantas medicinales de la familia Asteraceae: *Matricaria recutita*, *Centaurea solstitialis* y *Cynara scolimus*.

Morón y Col. (1996), en un estudio de la actividad espasmolítica del extracto fluido de *Matricaria recutita*, este disminuyó de manera dosis dependiente la amplitud de las contracciones espontáneas en el modelo de yeyuno aislado de conejo y también inhibió las contracciones inducidas por cloruro de bario, acetilcolina e histamina en íleon aislado de cobayo de forma similar a la papaverina. Serrano (2005), comprobó que el extracto metanólico de *Matricaria*

recutita mostró una respuesta de relajación de 82,3% a una concentración de 10 ug/ml, dato que coincide con los resultados obtenidos por Forster y Niklas. (1980) y Achterrath y Kunde (1980) que reportan una respuesta de relajación de 85%. El extracto acuoso fue poco activo ya que mostró una respuesta de relajación menor a 50%. Por otro lado Achterrath y Kunde (1980), concluyeron que el efecto antiespasmódico *in vitro* se debe a los múltiples constituyentes de los extractos, que al aislarlos e identificarlos determinaron que en especial el α - bisabolol tiene un efecto espasmolítico comparable a la papaverina y los óxidos de α - bisabolol tienen la mitad de esta potencia.

Toso y Skliar (1999) informó la actividad antiulcerosa de la *Centaurea solstitialis* utilizando un modelo de estrés en ratas. Posteriores investigaciones utilizando indometacina como inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (Toso y Skliar, 2000a), confirmaron que la actividad antiulcerosa exhibida por los extractos metanólicos obtenidos de la planta se explicaba, al menos en parte, por una acción citoprotectora y por un efecto antiespasmódico (Toso y Skliar, 2000b). Posteriormente ensayos cuantitativos permitieron determinar que los capítulos de la planta contienen 0,63 y 1,47 mg de quercetina y canferol por gramo de materia seca respectivamente (Toso y Skliar, 2002).

Emendorfer y Col. (2005), describen la actividad antiespasmódica de algunas fracciones a partir de *Cynara scolimus* en íleon de cobayo. La fracción de diclorometano mostró los efectos biológicos más prometedores con una concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) de 0,93 mg/ml. Su principal componente activo la sesquiterpenlactona cinaropicrina, exhibe una potente actividad con CI₅₀ de 0,065 mg/ml, siendo aproximadamente 14 veces más activa que la fracción diclorometano y que tiene una potencia similar al de la papaverina, un agente antiespasmódico conocido.

Por otro lado Pérez y Col. (2012), describen la actividad antiespasmódica de *Hydrodictyon reticulatum*, los resultados más prometedores fueron del extracto hexánico con una concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) de 49,34 g/ml. Un análisis fitoquímico del extracto hexánico condujo al aislamiento de: β - cayophyllene - 4,5 - α - óxido, 3 α, 4α, 8α - trihidroxi - 10α - metoxi - 1α, 5α, 7α, 11βH - guaia, 6α, 12 - olida y 4 α, 8α - dihidroxi - 10α - metoxi - 1α, 5α, 7α, 11βH - guaia, 6α, 12 - olida.

2.1.3. Antecedentes del diseño metodológico antiespasmódico - antidiarréico

Camasca (2011), determinó el efecto antiespasmódico de las hojas de *Senecio nutans* "wiscataya" en intestino de ratones albinos mediante el ensayo de tránsito intestinal utilizando carbón activado como patrón indicador.

Ochoa y Col. (2008), evaluaron el efecto antidiarréico y antiespasmódico del extracto metanólico de *Punica granatum* L. (granada) en ratones mediante dos ensayos: diarrea inducida por aceite de ricino y tránsito intestinal respectivamente.

Ukwuani y Col. (2012), evaluaron la actividad antidiarréica del extracto acuoso de las hojas de *Vitex doniana* mediante tres ensayos: tránsito gastrointestinal, diarrea inducida por aceite de ricino y acumulación de fluido intestinal (enteroestancamiento) inducido por aceite de ricino.

Bakare y Col. (2011), evaluaron la actividad antidiarréica del extracto acuoso de las hojas de *Momordica charantia* en ratas mediante cuatro ensayos: diarrea inducida por aceite de ricino, tránsito gastrointestinal, acumulación de fluido intestinal y vaciado gástrico.

2.2. *Ambrosia arborescens* Mill.

2.2.1. Sistema de clasificación

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: ASTERALES
FAMILIA	: ASTERACEAE
GÉNERO	: <i>Ambrosia</i>
ESPECIE	: <i>Ambrosia arborescens</i> Mill.
NOMBRE VULGAR	: "marco"

Fuente: Constancia emitida por Herbarium Huamanguensis de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga (Anexo N° 01).

2.2.2. Descripción botánica

Arbusto ramoso, de 1 - 1,70 m de altura, las ramas terminales del tallo pubescentes; hojas alternas, de hasta 18 cm de largo, pecioladas, profundamente pinnatipartidas, a la vez cada lóbulo hendido y dentado pubescente en ambas superficies, más o menos denso en el envés; inflorescencia en racimos terminales de hasta 10 cm de largo; flores dispuestas en cabezuelas masculinas y femeninas separadas (flores unisexuales), las cabezuelas masculinas cortamente pediceladas, numerosas, dirigidas hacia abajo; cabezuelas femeninas situadas por debajo de las masculinas, numerosas sésiles, rodeadas de brácteas; fruto aquenio ovoide con cuatro puntas prominentes y ganchudas hacia el ápice (Pietrellini, 2007).

2.2.3. Composición química

Contiene alcaloides encontrados principalmente en las flores femeninas. Damsina y coronopilina: en el extracto metanólico de las semillas. Shiramool, damsina, coronopilina, psilostachina: en el extracto hexánico de las hojas. Psilostachina ($C_{15}H_{20}O_5$), psilostachina C ($C_{15}H_{20}O_4$), damsina ($C_{15}H_{20}O_3$), coronopilina ($C_{15}H_{20}O_4$) y dihidrocoronopilina ($C_{15}H_{22}O_4$), benzil β - D - glucopiranosida ($C_{13}H_{18}O_6$), 3', 4', 5, 7 - tetrahidroxí - 3, 6, 8 - trimetoxi flavona ($C_{18}H_{16}O_9$), limocitrin ($C_{17}H_{14}O_8$), ácido salicílico ($C_7H_6O_3$), p - hidroxiacetofenona ($C_8H_8O_2$): en las partes aéreas (Vera, 2008). Crisantenona, γ - curcumeno, D - germacreno: en el aceite esencial de las partes aéreas (Naranjo y Col., 2007).

2.2.3.1. Metabolitos secundarios más representativos

A. Compuestos fenólicos

Las plantas producen una gran variedad de compuestos que contienen grupos fenólicos, es decir grupos hidroxílicos unidos a un anillo aromático. Estas sustancias se clasifican como compuestos fenólicos y constituyen un grupo extremadamente heterogéneo en el reino vegetal. Debido a su gran diversidad química, los fenoles cumplen diversos roles en la planta. Algunos sirven como defensa al ataque de patógenos y herbívoros, otros como apoyo mecánico, otros como fuente de atracción para insectos polinizadores, para la dispersión del fruto o como inhibidor del crecimiento de las plantas que se encuentran en competición (Vera, 2008).

➤ Flavonoides

Constituyen probablemente la clase más numerosa entre los compuestos fenólicos vegetales. Son difenilpropanos de 15 carbonos (C_{15}) que provienen biogenéticamente de tres unidades de acetato (C_6) y una unidad de fenilpropano ($C_6 - C_3$). Presenta una gran variedad de estructuras básicas que dan lugar a una

serie de compuestos que difieren en su grado de oxidación y sustituyentes (Toso y Skliar, 2002).

La presencia de flavonoides sobre todo del grupo de los flavonoles en las hojas y en todo el resto de partes verdes de la planta sugiere el hecho de que tales compuestos pueden ser los responsables de un mecanismo de protección de las células al ataque de los rayos ultravioleta (Havsteen, 1983).

B. Terpenos

Los terpenos constituyen un número elevado de compuestos secundarios ampliamente distribuidos en la naturaleza compartiendo el hecho de tener una estructura que se origina a partir de la unión de elementos de 5 átomos de carbonos, definido como unidades isoprénicas. De aquí deriva el término de "isoprenoides" con el cual se identifican varios grupos de terpenos existentes en la naturaleza en base al número de unidades isoprénicas presentes en la molécula se habla de monoterpenos (2 unidades), sesquiterpenos (3 unidades), diterpenos (4 unidades) (Vera, 2008).

➤ Sesquiterpenlactonas

Las sesquiterpenlactonas, derivadas biogénicamente de los sesquiterpenos (Lock, 1994), constituyen un grupo de terpenoides (C₁₅) con un anillo lactónico, que representan los componentes activos de muchas plantas de la familia Asteraceae (Dupuy y Col., 2008). Son sustancias amargas que se encuentran en todas las partes de la planta (Lock, 1994).

2.2.4. Actividad farmacológica

El marco presenta acción bactericida frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y sobre *Candida albicans* a 1 000 g/ml. De los compuestos del marco el shiramool y la coronopilina exhiben una potente actividad antialimentaria contra

plagas que infestan cereales. Por otro lado, la psilostachina es activa frente a áfidos (*Macrosiphum euphorbiae*) y ácaros (*tetranychus urticae*), mientras que la damsina muestra actividad antitumoral y moluscicida. Damsina y psilostachina exhiben efecto estimulante sobre la germinación de semilla a 0,114 g/mm² e inhibidor a 0,07 g/mm² (Cruz, 2009).

2.2.5. Hábitat

Es nativa de la cordillera de América del sur y crece entre los 2 500 y 3 000 m.s.n.m. Prefieren los suelos arenosos, poco fértiles, ligeramente alcalinos, y son fuertemente fotófilas (Vera, 2008). Habita en el borde de los terrenos de cultivo, caminos y el contorno de las casas (Pietrellini, 2007).

2.2.6. Propiedades y usos medicinales

Las especies de *Ambrosia* son plantas aromáticas, con propiedades medicinales muy difundidas entre los pobladores de nuestra región para aliviar dolores de cabeza y migraña (Vera, 2008), para diarreas, cólicos, tos, dolores musculares, reumatismo (Pietrellini, 2007) y como repelente contra insectos (Cruz, 2009).

2.3. Intestino delgado

Los procesos más importantes de la digestión y la absorción de los nutrientes se producen en un órgano tubular largo el intestino delgado, comienza en el esfínter pilórico del estómago se pliega a través de la parte central e inferior de la cavidad abdominal y se abre por último en el intestino grueso. Alcanza un promedio de 2,5 cm de diámetro, su longitud es de alrededor de 3 metros en una persona viva (Tórtora y Derickson, 2007).

2.3.1. Anatomía del intestino delgado

El intestino delgado se divide en tres regiones. El duodeno, el segmento más corto, es retroperitoneal, comienza en el esfínter pilórico del estómago y se

extiende 25 cm hasta que comienza el yeyuno. El yeyuno mide alrededor de un metro y se extiende hasta el íleon; la región final y más larga del intestino delgado, mide alrededor de dos metros y se une con el intestino grueso mediante el esfínter o válvula ileocecal (Tórtora y Derickson, 2007).

2.3.2. Histología del intestino delgado

La pared del intestino delgado está compuesto por las cuatro capas que forman la mayor parte del tubo digestivo: mucosa, submucosa, muscular y serosa. Además de ellas tiene características estructurales especiales que facilitan los procesos de digestión y absorción, entre ellas se hallan los pliegues circulares, las vellosidades y las microvellosidades (Tórtora y Derickson, 2007).

2.3.3. Sistema nervioso entérico (SNE)

El intestino delgado casi en su totalidad resulta independiente del sistema nervioso central (SNC), y en vez de éste, se controla mediante un sistema de neuronas localizado por completo en el tracto gastrointestinal denominado sistema nervioso entérico (McPhce y Col., 2003). El SNE es una subdivisión del sistema nervioso autónomo (SNA), su funcionamiento es involuntario (Tórtora y Derickson, 2007). Está organizado en dos plexos (redes de neuronas conectadas): el plexo mientérico (de Auerbach), que se encuentra entre las capas del músculo circular y longitudinal y el plexo submucoso (de Meissner) que está por debajo de la mucosa. El primero se encarga del control motor, en tanto el segundo regula la secreción, el transporte de líquido y el flujo vascular (Hardman y Limbird, 2003).

2.3.4. Fisiología de la motilidad intestinal

En el intestino se presentan dos patrones de motilidad: la de ayuno y la postprandial. El patrón durante el ayuno se denomina complejo motor

migratorio (CMM) y consiste en un ciclo trifásico repetitivo (cada 80 a 100 minutos) de actividad que conserva el tracto gastrointestinal limpio de detritos (bacterias, material no digerido, células descamadas, secreciones) como una de las labores de "limpieza doméstica" corporal. Este patrón se interrumpe con la alimentación y se presenta un nuevo patrón de actividad, el cual involucra contracciones segmentarias (ida y vuelta) y propulsoras; y actúa para promover el mezclado y absorción óptimos (McPhce y Col., 2003).

2.3.5. Alteraciones de la motilidad intestinal

El tubo digestivo es un sistema extremadamente sensible. Algunos factores, como determinados alimentos, bacterias, estrés o excitación, pueden provocar la pérdida del control o el desequilibrio de esta contracción. Cuando esto sucede, los movimientos peristálticos, normalmente suaves y propagados en forma de onda, pueden convertirse en espasmos fuertes y dolorosos (Uzurruno, 2002).

El espasmo es una súbita y violenta contracción muscular involuntaria o una constricción transitoria de paso (Kumar y Col., 2010).

2.4. Diarrea aguda

La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como "presencia de tres o más deposiciones líquidas dentro de 24 horas" (Morón y Col., 1999). La diarrea se refiere a una disfunción en la absorción y secreción de electrolitos a nivel del epitelio intestinal. Las consecuencias de estas disfunciones se reflejan en la alteración de la frecuencia, cantidad y volumen de deposiciones (Gracia y Col., 2000).

2.4.1. Fisiopatología de la diarrea

Diarrea secretora: Se origina por una alteración en el transporte de agua y electrolitos en el intestino delgado, por inhibición de su absorción y/o estímulo de

su secreción (Bravo y Marhuenda, 2005).

Diarrea motora: las alteraciones de la motilidad intestinal pueden generar un proceso diarréico, aun cuando la capacidad de absorción intestinal sea normal.

La diarrea motora se puede producir por dos mecanismos:

- Aumento del peristaltismo intestinal bien en el intestino delgado o grueso con la consiguiente disminución de tiempo de contacto entre el contenido intraluminal y el epitelio intestinal que conlleva una reducción de la tasa de absorción.
- Reducción del peristaltismo intestinal, que condiciona el sobrecrecimiento bacteriano y la aparición de diarrea y esteatorrea (Bravo y Marhuenda, 2005).

2.5. Fármacos que afectan la función gastrointestinal

2.6. Hioscina butil bromuro (Escopolamina)

Anticolinérgico que bloquea las acciones muscarínicas de la acetilcolina sobre los receptores M_3 mediante un antagonismo competitivo. Utilizada para el alivio del espasmo del tracto gastrointestinal (Alvarado, 2008).

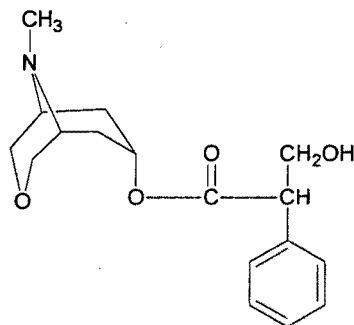


Figura 1. Hioscina butil bromuro (Flores, 1992).

2.6.1. Loperamida

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

intestino (Wang y Col., 2005).

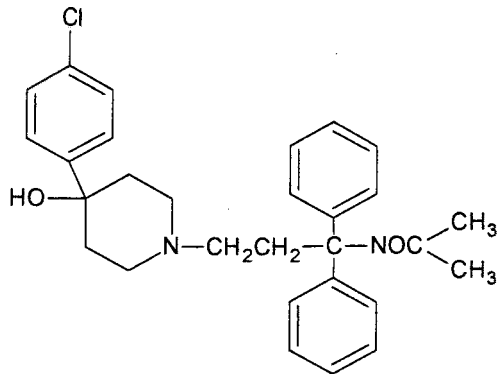


Figura 2. Loperamida (Flores, 1992).

2.6.2. Aceite de ricino

El aceite de ricino es un laxante estimulante/irritante eficaz, que reduce la absorción de fluido, aumenta la secreción en el intestino delgado y el colon; y afecta a la contractilidad del músculo liso en el intestino; debido a su componente activo el ácido ricinoléico (Hardman y Limbird, 2003).

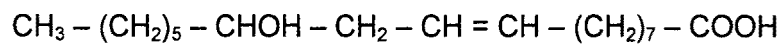


Figura 3. Ácido ricinoléico (Litter, 1992).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo se desarrolló en los Laboratorios de Farmacología y Farmacognosia del Área Académica de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de julio a octubre del 2012.

3.2. POBLACIÓN

Planta de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" que crece en el distrito de Chiara, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho ubicado a 3 527 m.s.n.m.

3.3. MUESTRA VEGETAL

Se utilizó 1 kg de hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" recolectadas durante el mes de agosto del 2012, en el distrito de Chiara, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a 3 527 m.s.n.m. Una parte sirvió para la identificación botánica.

3.4. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 95 ratones albinos Balb/C de ambos sexos con peso promedio de 20 - 30 g, adquiridos del Instituto Nacional de Salud de la ciudad de Lima en buen estado de salud (Anexo N° 09), ambientados hasta su utilización con

alimento balanceado y agua *ad libitum*. De los cuales 24 ratones sirvieron para realizar el ensayo de toxicidad (dosis límite).

3.5. DISEÑO METODOLÓGICO

3.5.1. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

La muestra se secó a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación por un período de 15 días. Luego se procedió a pulverizarlas para macerar 100 g de la muestra obtenida en un frasco de color ámbar con alcohol 80° por un período de siete días. Seguidamente se filtró y se procedió a concentrar al vacío utilizando el rotavapor para la eliminación del disolvente.

3.5.2. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Se siguió el modelo de Miranda y Cuéllar (2000), según el esquema mostrado en el Anexo N° 03.

3.5.3. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO

Para evaluar el efecto antiespasmódico, se emplearon tres modelos experimentales *in vivo*: prueba de motilidad intestinal según Morón y Col. (1999), diarrea y enteroestancamiento inducidos por aceite de ricino, modelos propuestos por Ukwuani y Col. (2012).

3.5.3.1. Prueba de motilidad intestinal

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

Procedimiento

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

- Luego se distribuyeron al azar en cinco grupos de cinco para luego pesarlos.
- Los tratamientos (solución salina, hioscina, extracto hidroalcohólico) fueron administrados por vía oral de acuerdo al peso de los ratones.
- Transcurridos 45 minutos se les administró 0,5 ml de aceite de ricino.
- Después de 20 minutos se les administró carbón activado al 10 % por vía oral.
- Pasados 30 minutos se sacrificaron a los ratones en una atmósfera de cloroformo y se les extrajo el tubo digestivo desde el esfínter pilórico hasta la válvula ileocecal.
- Los parámetros registrados fueron: longitud total del intestino (cm) y la distancia recorrida por el carbón activado desde el esfínter pilórico hasta el lugar más distal donde llegó esta sustancia como marcadora. A partir de este último se calcularon el porcentaje de tránsito intestinal y el porcentaje de inhibición de la motilidad de la siguiente manera:

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

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

Dónde:

DCR: Distancia recorrida por el carbón.

3.5.3.2. Diarrea inducida por aceite de ricino

La prueba de diarrea inducida por aceite de ricino se fundamenta en el conteo de deposiciones semilíquidas realizadas por los ratones luego de la administración del aceite de ricino. Mientras menor sea el número de deposiciones semilíquidas mayor será el efecto antidiarréico.

Procedimiento

- Los animales fueron privados de alimento seis horas antes del ensayo con agua *ad libitum*.
- Luego se distribuyeron en cinco grupos de cinco para luego ser pesados.
- Los tratamientos (solución salina, loperamida, extracto hidroalcohólico) fueron administrados por vía oral de acuerdo al peso de los ratones.
- Transcurridos 45 minutos se les administró 0,5 ml de aceite de ricino.
- Los parámetros registrados fueron: inicio de la diarrea en minutos, número total de deposiciones al cabo de dos horas, número de deposiciones semilíquidas y a partir de este último dato se calculó el porcentaje de inhibición de la diarrea de la siguiente manera:

$$\text{Porcentaje de inhibición de la diarrea} = \frac{\text{NDS blanco (g)} - \text{NDS prueba (g)}}{\text{NDS blanco (g)}} \times 100$$

Dónde:

NDS: Número de deposiciones semilíquidas al cabo de dos horas.

3.5.3.3. Enteroestancamiento inducido por aceite de ricino

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

Procedimiento

- Los animales fueron privados de alimento seis horas antes del ensayo con agua *ad libitum*.
- Luego se distribuyeron en cinco grupos de cinco para luego ser pesados.

- Los tratamientos (solución salina, loperamida, extracto hidroalcohólico) fueron administrados por vía oral de acuerdo al peso de los ratones.
- Transcurridos 45 minutos se les administró 0,5 ml de aceite de ricino.
- Pasados 30 minutos se sacrificaron los ratones en una atmósfera de cloroformo y se les extrajo el tubo digestivo desde el esfínter pilórico hasta la válvula ileocecal.
- Los parámetros registrados fueron: peso del intestino con contenido (g), peso del intestino vacío (g) y mediante la diferencia entre los pesos llenos y vacíos se calculó el peso del contenido intestinal (g) este último dato se usó para hallar el porcentaje de inhibición de enteroestancamiento de la siguiente manera:

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

Dónde:

PCI: Peso del contenido intestinal.

3.5.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño totalmente randomizado cada tratamiento con cinco repeticiones para cada uno de ellos, los que fueron sometidos a los siguientes tratamientos:

3.5.4.1. Prueba de motilidad intestinal

GRUPO I (Blanco): Solución salina fisiológica 0,1 ml/10 g de peso.

GRUPO II (Estándar): Hioscina 5 mg/kg de peso.

GRUPO III: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 100 mg/kg de peso.

GRUPO IV: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 200 mg/kg de peso.

GRUPO V: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 400 mg/kg de peso.

3.5.4.2. Diarrea inducida con aceite de ricino

GRUPO I (Blanco): Solución salina fisiológica 0,1 ml/10 g de peso.

GRUPO II (Estándar): Loperamida 5 mg/kg de peso.

GRUPO III: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 100 mg/kg de peso.

GRUPO IV: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 200 mg/kg de peso.

GRUPO V: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 400 mg/kg de peso.

3.5.4.3. Enteroestancamiento inducido por aceite de ricino

GRUPO I (Blanco): Solución salina fisiológica 0,1 ml/10 g de peso.

GRUPO II (Estándar): Loperamida 5 mg/kg de peso.

GRUPO III: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 100 mg/kg de peso.

GRUPO IV: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 200 mg/kg de peso.

GRUPO V: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 400 mg/kg de peso

3.5.5. ANÁLISIS DE DATOS

Con los datos del porcentaje de tránsito intestinal, porcentaje de inhibición de la motilidad, porcentaje de inhibición de la diarrea y el porcentaje de inhibición de enteroestancamiento se calcularon el promedio y la desviación estándar de las repeticiones y se elaboraron cuadros y gráficos en forma de histogramas. Las diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos fueron evidenciados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, todo ello con un nivel de confianza al 95%.

3.6. DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA ORAL (Dosis límite)

El método de dosis límite se fundamenta en la administración de una dosis máxima de 2 000 mg/kg, si no se produce mortalidad en los animales de

laboratorio a esa dosis, significa que la dosis evaluada no es tóxica.

Procedimiento

- Los animales (nueve machos y 10 hembras) fueron privados de alimento cuatro horas antes del ensayo con agua *ad libitum*.
- Luego fueron pesados (día cero).
- La sustancia experimental fue administrada en una sola dosis 2 000 mg/kg por vía oral de acuerdo al peso de cada ratón.
- Cuatro horas después se volvió a colocar la comida.
- Se observaron a los animales individualmente después de la administración con especial atención las primeras cuatro horas, periódicamente durante las primeras 24 horas y después diariamente hasta un total de 14 días.
- Los parámetros registrados fueron: peso corporal antes de que la sustancia experimental sea administrada (día cero), a los siete días y a los 14 días (OECD, 2001).

3.6.1. ANÁLISIS DE DATOS

Se calcularon las medias y desviación estándar de la variación del peso corporal de ambos grupos (machos y hembras). Las diferencias entre las medias se evaluaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza al 95%.

IV. RESULTADOS

CUADRO N° 01: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco". Ayacucho – 2012.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Catequinas	Ensayo de catequinas	(+++)	Color verde carmelita
Azúcares reductores	Ensayo de Benedict	(+)	Coloración roja
Lactonas	Ensayo de Baljet	(+++)	Precipitado café
Triterpenoides-esteroides	Ensayo de Lieberman-Buchard	(+++)	Coloración verde oscuro-negro-azul
Saponinas	Ensayo de espuma	(+++)	Espuma persistente
Fenoles y taninos	Ensayo de Cl_3Fe	(+++)	Coloración verde intensa
Aminoácidos	Ensayo de ninhidrina	(+)	Coloración azul
Quinonas	Ensayo de Borntrager	(+++)	Coloración roja
Flavonoides	Ensayo de Shinoda	(++)	Coloración amarilla
Alcaloides	Ensayo de Draguendorf	(+++)	Precipitado naranja
Alcaloides	Ensayo de Mayer	(+)	Suspensión verde lechosa
Alcaloides	Ensayo de Wagner	(++)	Precipitado verde
Principios amargos		(+++)	

Leyenda:

(+): Escaso,(++): Moderado, (+++): Abundante

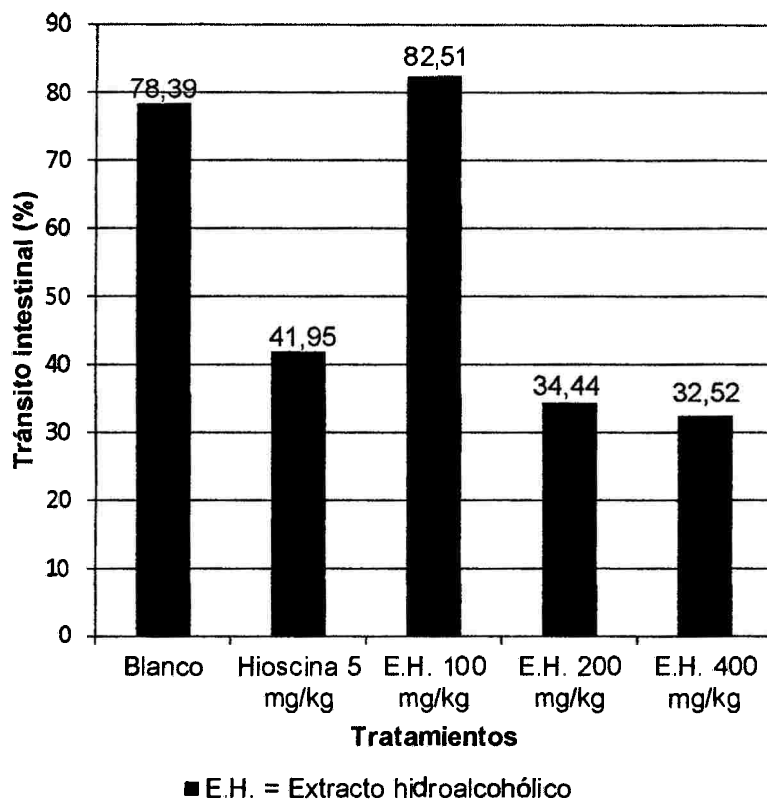


GRÁFICO Nº 01: Porcentaje del tránsito intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mili. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho–2012.

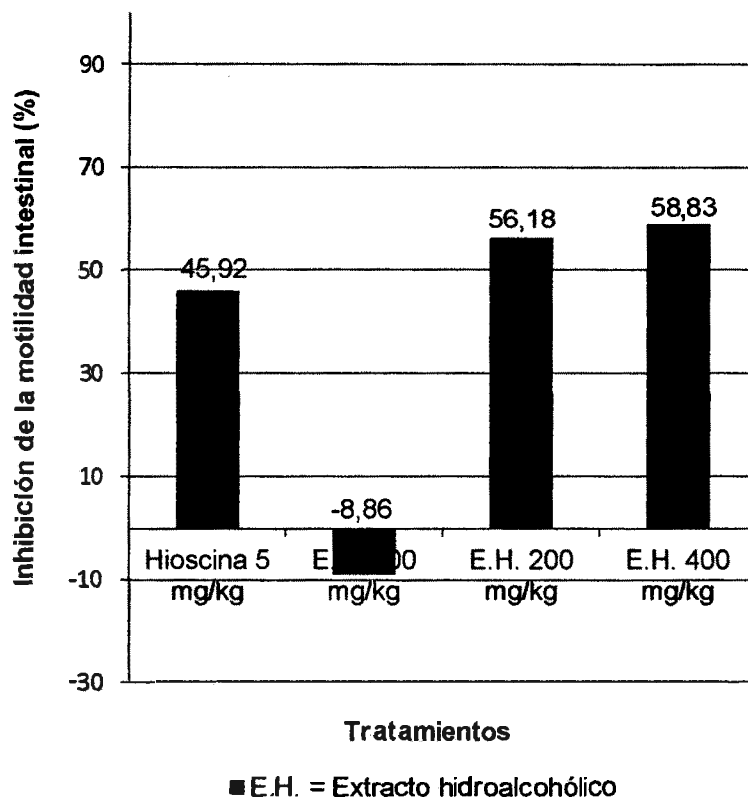


GRÁFICO N° 02: Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho –2012.

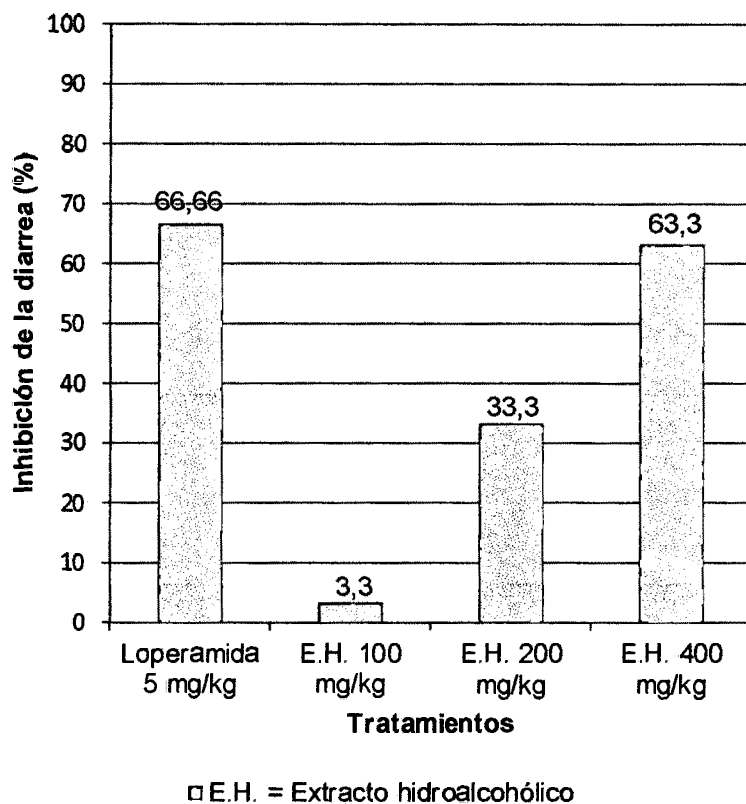


GRÁFICO Nº 03: Porcentaje de inhibición de la diarrea por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en ratones albinos. Ayacucho – 2012.

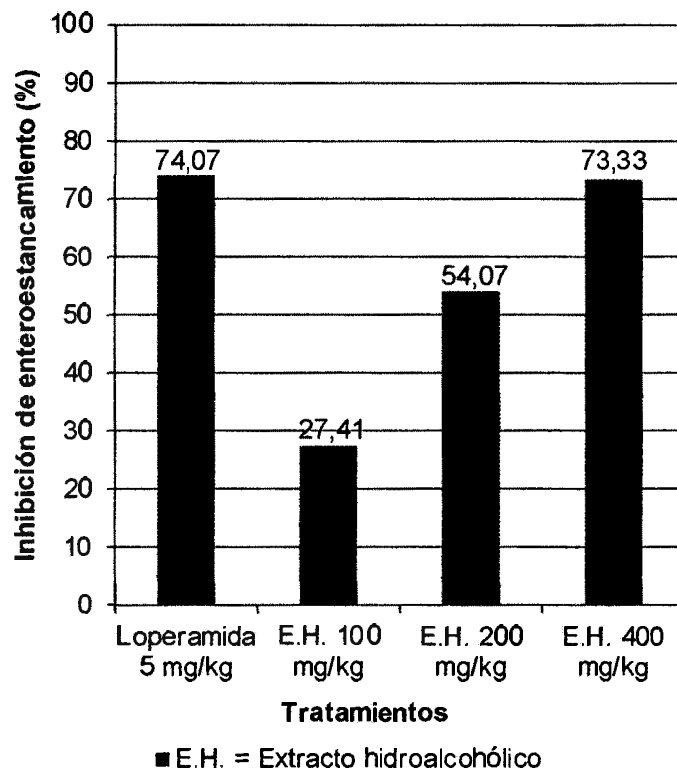


GRÁFICO Nº 04: Porcentaje de inhibición de enteroestancamiento por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho –2012.

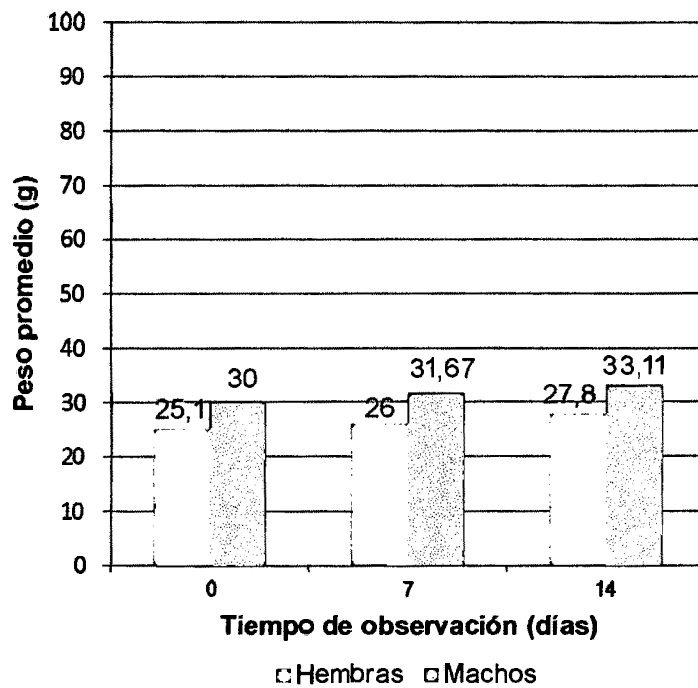


GRÁFICO N° 05: Variación de peso corporal en ratones según tiempo de observación. Ayacucho–2012.

V. DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mili. "marco" usada comúnmente en la medicina tradicional para tratar síntomas gastrointestinales.

De acuerdo a los resultados expresados en el Cuadro N° 01 el tamizaje fitoquímico reporta la presencia de catequinas, lactonas, triterpenoides - esteroides, saponinas, fenoles y taninos, quinonas, flavonoides, alcaloides y principios amargos resultados similares a los obtenidos por Cruz en el año 2009.

Para evaluar la actividad antiespasmódica se realizaron tres pruebas farmacológicas *in vivo*: prueba de motilidad intestinal, diarrea inducida por aceite de ricino y enteroestancamiento inducido por aceite de ricino.

En la prueba de motilidad intestinal se calcularon el porcentaje de tránsito intestinal y el porcentaje de inhibición de la motilidad.

En el porcentaje de tránsito intestinal la hioscina obtuvo un valor de 41,95%, los resultados del extracto a dosis orales de 200 mg/kg y 400mg/kg fueron de 34,44% y 32,52% respectivamente (Gráfico N° 01). Al evaluar las diferencias estadísticas en el efecto producido por cada uno de los tratamientos se demuestra que la dosis de 100 mg/kg y el blanco son similares y no se comparan estadísticamente al estándar. Asimismo, la dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg estadísticamente poseen el mismo comportamiento farmacológico.

En cuanto al porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal la hioscina obtuvo un valor de 45,92%. En cuanto al extracto a dosis orales de 200 mg/kg - 400 mg/kg los resultados fueron 56,18% y 58,83% respectivamente. A la dosis de 100 mg/kg no se obtuvo el efecto esperado (Gráfico N° 02). Del análisis realizado podemos considerar que la dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg poseen resultados similares a la hioscina.

En la prueba de diarrea inducida por aceite de ricino la loperamida obtuvo un porcentaje de inhibición de la diarrea de 66,66%. En cuanto al extracto a dosis orales de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg los resultados fueron 3,3%, 33,3% y 63,3% respectivamente (Gráfico N° 03). Del análisis realizado podemos considerar que la dosis de 400 mg/kg posee resultados similares a la loperamida, en cuanto a la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg disminuyen el número de deposiciones líquidas en los ratones pero estos resultados no se comparan a la loperamida.

En la prueba de enteroestancamiento inducido por aceite de ricino la loperamida obtuvo un valor de 74,07%. En cuanto al extracto a dosis orales de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg los resultados fueron 27,41%, 54,07% y 73,33% respectivamente (Gráfico N° 04). Del análisis realizado podemos considerar que la dosis de 400 mg/kg posee resultados similares a la loperamida, en cuanto a la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg disminuyen la acumulación del líquido intraluminal pero estos resultados no se comparan a la loperamida.

La motilidad gastrointestinal está regulada por numerosos mediadores, principalmente acetilcolina, que logra sus efectos contráctiles a través de un aumento de Ca^{2+} citosólico (Bigovic, 2010) y que media su acción por la estimulación de receptores muscarínicos M_3 (Gilani y Col., 2005). Precisamente los trastornos de la motilidad se tratan mediante fármacos anticolinérgicos

(Hardman y Limbird, 2003) como la hioscina, un antagonista muscarínico (Bustamante y Morales, 2003).

La diarrea se considera generalmente como una consecuencia de la alteración de la motilidad y la acumulación de fluido en el tracto gastrointestinal (Ammon y Thomas, 1974). La loperamida (fármaco antidiarréico) incluye efectos sobre la motilidad intestinal y secreción intestinal (Hardman y Limbird, 2003).

Los resultados de este estudio revelan que el extracto produjo una protección significativa frente a los espasmos inducidos por el aceite de ricino y se encontró que tiene una efectividad similar a la hioscina y a la loperamida, fármacos utilizados ampliamente en espasmos y trastornos de la diarrea respectivamente, ambos relacionados con la inhibición de la motilidad.

Respecto a los flavonoides, Hamman y Abdalla, (1997) mostraron los efectos inhibitorios sobre la motilidad en ileon aislado de rata de 11 flavonoides, determinando el siguiente orden de potencia de mayor a menor: galangina, quercetina, crisina, xantomicrol, flavona, naringenina, fisetina, morina y flavanona. Mata y Rojas, (1997), y Capasso y Col. (1988) mostraron los efectos inhibitorios sobre el músculo liso intestinal de los flavonoides (quercetina, apígenina, kaemferol y rutina).

Siendo las lactonas sesquiterpénicas y compuestos fenólicos los compuestos mayoritarios, además de haber evidencias científicas de que presentan actividad antiespasmódica podríamos atribuir los resultados obtenidos a estos metabolitos. Dichos metabolitos pueden interferir con la movilización de calcio de los depósitos intracelulares.

Así nuestros resultados confirman la actividad antiespasmódica de *Ambrosia arborescens Mill.* apoyando y justificando su uso popular para tratar problemas gastrointestinales.

El resultado de los efectos toxicológicos confirma que el extracto hidroalcohólico

de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" no es tóxico a las dosis de 2 000 mg/kg. El extracto fue bien tolerado por los animales, no hubo muertes registradas después de la administración oral ni durante el periodo de observación, lo cual se manifestó mediante el aumento del peso corporal en ambos grupos (Gráfico N° 05).

En realidad no se han realizado estos estudios a profundidad para determinar el poder tóxico de la planta, tal como lo mencionan Naranjo y Col. (2007) y Vera (2008) quienes atribuyen esta propiedad a las sesquiterpenlactonas presentes en la especie.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" presenta actividad antiespasmódica significativa ($p < 0,05$).
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" son: catequinas, azúcares reductores, lactonas, triterpenoides - esteroides, saponinas, fenoles, taninos, aminoácidos, quinonas, flavonoides y alcaloides.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" posee actividad antiespasmódica la cual se evidencia en los diferentes modelos experimentales in vivo (prueba de motilidad intestinal, diarrea inducida por aceite de ricino y enteroestancamiento inducida por aceite de ricino) frente al grupo control.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" no demostró ser tóxica a la dosis 2 000 mg/kg.

VII. RECOMENDACIONES

- Continuar con el estudio fitoquímico, farmacológico y toxicológico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" especialmente con el extracto polar, ya que se les usa tradicionalmente bajo esa forma.
- Continuar con los estudios de la planta para determinar si la actividad antiespasmódica atribuida se encuentra en otras partes de la misma.
- Ampliar los estudios de efectividad y toxicidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" mayores a 400 mg/kg y 2 000 mg/kg respectivamente.
- Con el fin de aislar compuestos responsables de la actividad antiespasmódica se sugiere realizar el fraccionamiento y el aislamiento del agente responsable de la actividad biológica.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Abadome, F.; Geerts, G. and Kumar, V.** 1994. Evaluation of the activity of *Ambrosia maritima* L. against *Schistosoma mansoni* infection in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 44:195 - 198. United States.
2. **Achterrath, U. and Kunde, R.** 1980. Investigations on the spasmolytic effect of compounds of chamomile and Kamillosan on the isolated guinea pig ileum. *Planta Med.* 39:38 - 50. United States.
3. **Alvarado, J.** 2008. *Apuntes de Farmacología. Tercera Edición. Apuntes médicos del Perú.*
4. **Ammon, P. and Thomas, P.** 1974. Effects of oleic and ricinoleic acids net jejuna water and electrolyte movement. *J. Clin. Invest* 53:374 - 379. United States.
5. **Bakare, R.; Magbagbeola, O.; Akinwande, A.; Okunowo, O. and Green, M.** 2011. Antidiarrhoeal activity of aqueous leaf extract of *Momordica charantia* in rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Vol. 3(1), pp. 1 - 7. United States.
6. **Bigovic, D.** 2010. Relaxant effect of the ethanol extract of *Helichrysum plicatum* (Asteraceae) on isolated rat ileum contractions. *Molecules* 15:3391 - 3401. United States.
7. **Bravo, L. y Marhuenda, E.** 2005. *Manual de farmacoterapia.* Elsevier. Impreso en España.
8. **Bruneton, J.** 2001. *Farmacognosia, fitoquímica y plantas medicinales.* Tercera edición. Editorial Acribia. Zaragoza.
9. **Bustamante, S. y Morales, M.** 2003. *Farmacología de los antagonistas muscarínicos.* Biblioteca Virtual Universal. Argentina.
10. **Buznego, M.; Llanio, M.; Fernández, M.; Alonso, N.; Acevedo, M. and Pérez, H.** 1998. Perfil neurológico de la *Ambrosia paniculata* (Willd.) O.E Schulz (Artemisa). *Rev. Cubana Planta Med.* 3:45 - 46. United States.
11. **Buznego, M. and Pérez, H.** 2004. Acute effect of an extract of *Ambrosia paniculata* (Willd.) O. E. Schultz (mugwort) in several models of experimental epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 5:847 - 851. United States.

12. **Camasca, A.** 2011. Tesis. Efecto antiespasmódico del extracto acuoso de las hojas de *Senecio nutans* "wiscataya" en intestino de ratones albinos Escuela de Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - Perú.
13. **Capasso, F.; Pinto, A.; Mascolo, N.; Autore, G. y Franco, M.** 1988. Effect of flavonoids on PGE2 - and LTD4 - induced contractions on the guinea pig isolated ileum. *Pharmacol Res Commun*; 20(suppl.1):201 - 2. United States.
14. **Chalchat, C.; Maksimovic, A.; Petrovic, D.; Gorrunic, S.; Dodervic, S. and Mraovic, M.** 2004. Chemical composition and antimicrobial activity of *Ambrosia artemisiifolia* L. essential oil. *Journal of essential oil research*. 16: 270 - 273. United States.
15. **Cruz, P.** 2009. Tesis. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba - Ecuador.
16. **Dupuy, O.; Murillo, R. y Bonilla, J.** 2008. Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Virguiera sylvatica* y *Decachaeta thieleana* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos. *RAW. Rev. Biol. Trop.* V. 56 n. 3. San José. Costa Rica.
17. **Emendorfer, F.; Emendorfer, F.; Bellato, F.; Floriani, V.; Cechinel, V.; Yunes, R.; Delle, F. and Maia, A.** 2005. Antispasmodic activity of fractions and Cynaropicrin from *Cynara scolymus* on guinea - pig ileum. *Notes Bioi. Pharm. Bull.* 28(5) 902 - 904. Vol. 28, N° 5. United States.
18. **Flores, J.** 1992. *Farmacología Humana*. Segunda edición. Ediciones científicas y técnicas S.A. Barcelona - España.
19. **Forster, H. and Niklas, H.** 1980. Antispasmodic effects of some medicinal plants. *Planta Med.* 40(4): 309 - 319. United States.
20. **Gilani, A.; Bashir, S.; Janbaz, K. and Shah, A.** 2005. Presence of cholinergic and calcium channel blocking activities explains the traditional use of *Hibiscus rosasinensis* in constipation and diarrhoea. *Journal of ethnopharmacology* 102:289 - 294. United States.

21. **Gracia, A.; Martínez, M. y Morón, F. 2000.** Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* en intestino. Rev. Cubana Planta Med. 2001, vol. 3. N° 1 p. 19 - 22. Cuba.
22. **Guauque, M.; Castaño, J. y Gómez, M. 2010.** Detección de metabolitos secundarios en *Ambrosia peruviana Willd* y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica. Infect. vol.14 N°3. Bogotá – Colombia.
23. **Hammad, H. and Abdalla, S. 1997.** Pharmacological effects of selected flavonoids on rat isolated ileum: structure - activity relationship. Gen. Pharmac., 28: 767 - 771. United States.
24. **Hardman, J. and Limbird, L. 2003.** Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. McGraw - Hill Interamericana. México.
25. **Havsteen, B. 1983.** Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. Biochemical Pharmacology. 32, 1141 - 1148. United States.
26. **Hernández, J.; Vátero, H. and Gil, R. 2002.** 23 Especies vegetales medicinales de uso frecuente en la población de Tabay. Revista de la Facultad de Farmacia. 44: 51 - 57. Mérida-Venezuela.
27. **Herz, W.; Anderson, G. and Raulais, D. 1968.** Sesquiterpen lactones of some *Ambrosia* species. Phytochemistry. 5, 877 - 889. United States.
28. **Kumar, K.; Rama, T. y Laksmana, M. 2010.** Antispasmodic activity of SJ. Kkidrobs, an herbal formulation against spasm of smooth muscle preparation. Arch pharm Sa & Res 2(1): 223 - 227. United States.
29. **Kuklinski, C. 2003.** Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Editorial Omega. Barcelona - España.
30. **Lans, C. 2007.** Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for reproductive problems. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. 3:1 - 13. BCICS, University of Victoria, British Columbia, V8W 2Y2, Canadá.
31. **Lastra, A.; Ramírez, T.; Salazar, L.; Martínez, M. and Trujillo, F. 2004.** The ambrosanolate cumarin inhibits macrophage nitric oxide synthesis: some structural considerations. Journal Ethnopharmacology. 95:221 - 227. United States.
32. **Litter, M. 1992.** Farmacología experimental y clínica. Séptima edición. Buenos Aires.

33. **Lock, O.** 1994. Investigación fitoquímica: Método en el estudio de productos naturales. Segunda edición. Editorial Fondo. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima – Perú.
34. **McPhce, S.; Lingppa, V. y Ganong, W.** 2003. Fisiopatología médica: una introducción a la medicina clínica. Cuarta edición. Manual moderno. México.
35. **Mata, R. and Rojas, A.** 1997. Smooth muscle relaxing flavonoids and tepenoids from *Conyza filaginoides*. *Planta Med.* 63(1): 31 - 5. United States.
36. **Miranda, M. y Cuellar, A.** 2000. Manual de Prácticas de Laboratorio, Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba.
37. **Morón, F.; Furones, J. y Pinedo, Z.** 1996. Actividad espasmolítica del extracto fluido de *Matricaria recutita* "manzanilla" en órganos aislados. Facultad de Medicina. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Vol.1(1): 19. La Habana. Cuba.
38. **Morón, F.; Martínez, M. y Morón, D.** 1999. Disminución del tránsito intestinal en ratones por tintura de guayaba (*Psidium guajava L.*) oral. *Rev. Cubana Planta Med* 1999, vol. 3. N° 2 p. 54 - 56. Cuba.
39. **Naranjo, B.; Braca, A.; De Leo, M. y Cioni, P.** 2007. Universidad de Pisa. Trabajo no publicado.
40. **Ochoa, C.; Chapoñan, M.; Granda, C.; Quintana, W.; Chauillco, X.; Puerta, E. y Gutiérrez, G.** 2008. Efecto antidiarréico y antiespasmódico del extracto metanólico de *Punica granatum l.* (granada) en ratones. Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina San Fernando. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima – Perú.
41. **OECD.** 2001. Guideline for testing of chemicals. Acute oral toxicity - Acute toxic class method. N° 423. France.
42. **Pérez, R.; Irasema, A.; Cruz, T. y Mota, J.** 2012. Principios antiespasmódicos de las algas de agua dulce *Reticulatum hydrodctyon*. *Medicinal Chemistry Research*. Volumen 21. pp. 1023 - 1029. United States.
43. **Pietrellini, F.** 2007. Las plantas medicinales en un piso alto y mesoandino. Estudio etnbotánico de la zona de Puquio - Ayacucho. Copyrigt. Perú.

44. **Serrano, L.** 2005. Actividad antiespasmódica de extractos de plantas medicinales en preparaciones de ileon de cobayo. Universidad Autónoma De Nuevo León. Facultad de Medicina. México.
45. **Tórtora, G. y Derickson, B.** 2007. Principios de Anatomía y Fisiología. 11^{va} Edición. Medica Panamericana. España.
46. **Toso, R. y Skliar, M.** 1999. Efecto citoprotector de extractos de *Centaurea solstitialis* sobre lesiones gástricas, inducidas por estrés en ratas. Ciencia Veterinaria. 1:9 - 14. Argentina.
47. **Toso, R. y Skliar, M.** 2000a. Efecto de la indometacina sobre la citoprotección de extractos de *Centaurea solstitialis* contra úlceras gástricas inducidas por estrés en ratones. Ciencia Veterinaria. 2:16 - 20. Argentina.
48. **Toso, R. y Skliar, M.** 2000b. Efecto de extractos de *Centaurea solstitialis* sobre el tránsito gastrointestinal en ratones. Fitociencia. 2:10 - 12. Argentina.
49. **Toso, R. y Skliar, M.** 2002. Aislamiento, identificación y cuantificación de compuestos con actividad gastroprotectora presentes en *Centaurea solstitialis*. Cátedra de Farmacognosia, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS, San Juan 670, (8000). Argentina.
50. **Uzurruno, S.** 2002. Farmacología del sistema colinérgico. Departamento de farmacología y Terapéutica. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. Seminario Práctico N°; 07. Madrid, España.
51. **Ukwuani, A.; Salihu, S.; Anyanwu, F.; Yanah, Y. and Samuel, R.** 2012. Antidiarrhoea activity of Aqueous Leaves Extract of *Vitex doniana*. International Journal of Toxicological and Pharmacological Research 4(3): 40 - 44. United States.
52. **Vera, B.** 2008. Tesis. Estudio fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador: *Ambrosia arborescens*. Escuela Politécnica del Ejército. Departamento de Ciencias de la Vida. Tesis en Ingeniería en biotecnología. Ecuador.
53. **Wang, H; Shieh, M. and Liao, K.** 2005. A blind, randomized comparison of racecadotril and loperamide for stopping acute diarrhea in adults. World J Gastroenterol.11:1540 - 3. United States.

54. Wang, P.; Hua, C. and Xian, C. 2006. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Ambrosia trifida* L. *Molecules*. 11:549 - 555. United States.
55. Yañez, C., Ríos, N.; Mora, F.; Rojas, L. Díaz, T.; Velazco, J.; Ríos, N. y Meléndez, P. 2011. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ambrosia peruviana* Willd. de los llanos venezolanos Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. *Rev. Perú. Biol* 18(2):149-151.
56. Zapata, B.; Durán, C.; Stashenko, E.; Betanaer, L. and Meza, A. 2010. Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la familia Asteraceae. *Revista Iberoamericana de Micología*. 27(2):101 - 103. Colombia.
57. Zoran, M. 2008. In vitro antioxidant activity of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L., Asteraceae) Herb. *Industrial Crops and Products*. 28:356 - 336. United States.

ANEXOS

ANEXO N°01

Certificado de la identificación de la planta



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

C E R T I F I C A

Que, la estudiante en Farmacia y Bioquímica, **Srta. Liliana, TAPAHUASCO CÁRDENAS**, 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. 1998 y es como sigue:

DIVISION	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: ASTERALES
FAMILIA	: ASTERACEAE
GENERO	: Ambrosia
ESPECIE	: <i>Ambrosia arborescens Mill.</i>
N.V.	: "marco"

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

Agosto, 23 de Agosto del 2012.

ANEXO N° 02

Hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco"



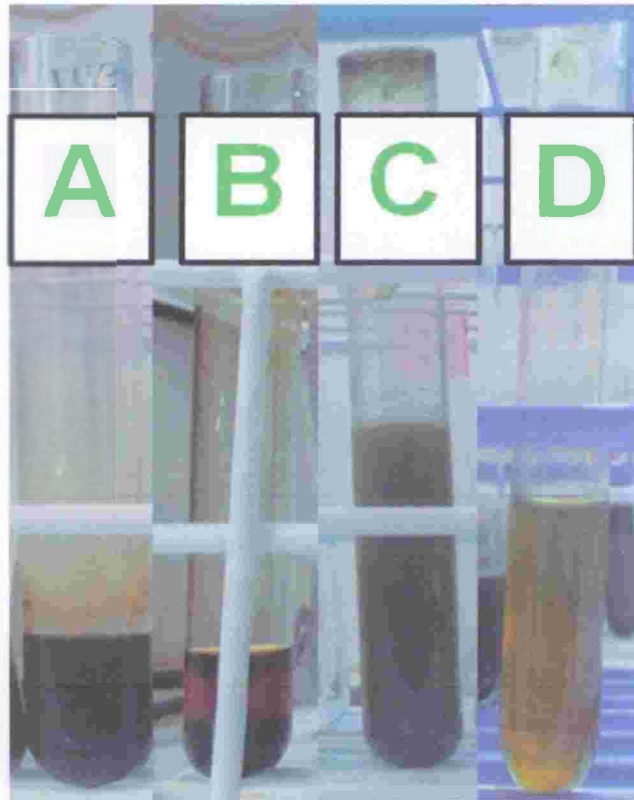
ANEXON°04

Concentración al vacío del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en el rotavapor.



ANEXO N° 05

Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco": ensayo de Lieberman (A), Borntrager (B), espuma (C) y Shinoda (D).



ANEXO N° 07

Lactonas sesquiterpénicas y compuestos fenólicos del género *Ambrosia*.

GÉNERO	LACTONAS SESQUITERPÉNICAS
<i>Ambrosia psilostachya</i> (2007)	Coronopilina
<i>Ambrosia tenuifolia</i> (1991)	Psilostachina, psilostachina B, psilostachina C, cordilina, ácido altamisico, altamisina e hispidulina (flavonoide)
<i>Ambrosia peruviana</i> (1986)	Psilostachina B y C, ambrosina, damsina.
<i>Ambrosia marítima</i> (1984)	Damsina, ambrosina
<i>Ambrosia ambrosioides</i> (1969)	Damsina
<i>Ambrosia canescens</i> (1969)	Canambrina
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (1969)	Artemisifolina, isabelina, coronopilina, psilostachina, cumaina, dihidrocumaina
<i>Ambrosia confertiflora</i> (1968)	Confertina, desacetilconfertiflorina
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (1968)	Cumaina, peruvina, dihidrocumaina
<i>Ambrosia acanthicarpa</i> (1968)	Cumanina - 3 - acetato, cumanina diacetato
<i>Ambrosia psilostachya</i> (1968)	Psilostachina C, confertiflorina, diacetilconfertiflorina, cumambrina B, cumanina, coronopilina, partenina
<i>Ambrosia arborescens</i> (1968)	Damsina, coronopilina, psilostachina, psilostachina C
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (1967)	Psilostachina, dihidropartenólido
<i>Ambrosia peruviana</i> Willd. (1966)	Peruvina
<i>Ambrosia cumanensis</i> (1965)	Cumanina
<i>Ambrosia peruviana</i> (1965)	Peruvina
<i>Ambrosia psilostachya</i> (1961)	Coronopilina, ambrosina

ANEXO N° 08

Constituyentes del aceite esencial de las partes aéreas de *Ambrosia arborescens* (Naranjo y Col., 2007).

Constituyentes	%	Constituyentes	%
(E) - 2- hexenal	0,7	α -copaeno	Tr
Santolina trieno	2,4	Dauceno	Tr
α - tujona	0,3	β - bourboneno	Tr
α -pineno	1,1	β - cubebena	0,4
Canfeno	0,3	metil eugenol	Tr
Artemiseol	3,1	Italiceno	0,2
β - pineno	tr	cis- α - bergamoteno	Tr
6 - metil - 5 - hepten - 2 - ona	tr	β - cariofileno	0,9
Mirceno	3,6	β - gurjuneno	Tr
Octanal	tr	<i>trans</i> - α - bergamoteno	Tr
α - felandreno	2,1	Aromadendreno	Tr
α - terpineno	0,2	(E) - geranil acetona	0,3
p-cimeno	0,3	(E) - β - famesano	0,4
Limoneno	1,0	α -humuleno	0,3
γ - terpineno	0,2	γ - curcumeno	20,3
cis - sabineno hidrato	0,4	germacreno D	18,7
Terpinoleno	1,3	β - selineno	0,2
2,6 - dimetil fenol	4,2	biciclogermacreno	0,5
Nonanal	tr	α -muroleno	Tr
Crisantenona	20,9	(E,E) - α - famesano	0,8
α - campolenal	tr	β - bisaboleno (germacreno A)	0,2
cis - verbenol	tr	10 - epi - italiceno éter	0,3
Crisantenol	tr	δ -cadineno	0,2
4 - terpineol	0,2	β - sesquifelandreno	Tr
α - terpineol	tr	acor - 4 - eno - 6,11 - óxido (italiceno éter)	0,6
<i>trans</i> - carveol	tr	Espatuleno	0,5
timol metil éter	tr	cariofileno óxido	0,2
cumin aldehído	tr	Carotol	0,5
(E) - 2 - decanal	tr	tau - cadinol	Tr
Piperitenona	tr	α -cadinol	0,2
Eugenol	tr	epi - α - bisabolol	0,2
Ciclosativeno	tr	Total	88,4%

ANEXO N° 09

Certificado sanitario emitido por el Instituto Nacional de Salud de Lima.



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

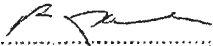
CERTIFICADO SANITARIO N° 255-2012

Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M - 39- 2012
Especie	: <u>Mus músculus</u>	Cantidad	: 90
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 25 a 32 días
Peso	: 15 a 24 gr.	Sexo	: Hembras (45) machos (45)
G.R. N°	: 026499	Destino	: Tapahuasco Cardenas, Liliana Ayacucho
Fecha	27-09-2012		

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

*Referencia: PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 27 de Septiembre del 2012
(Fecha de emisión del certificado)


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

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

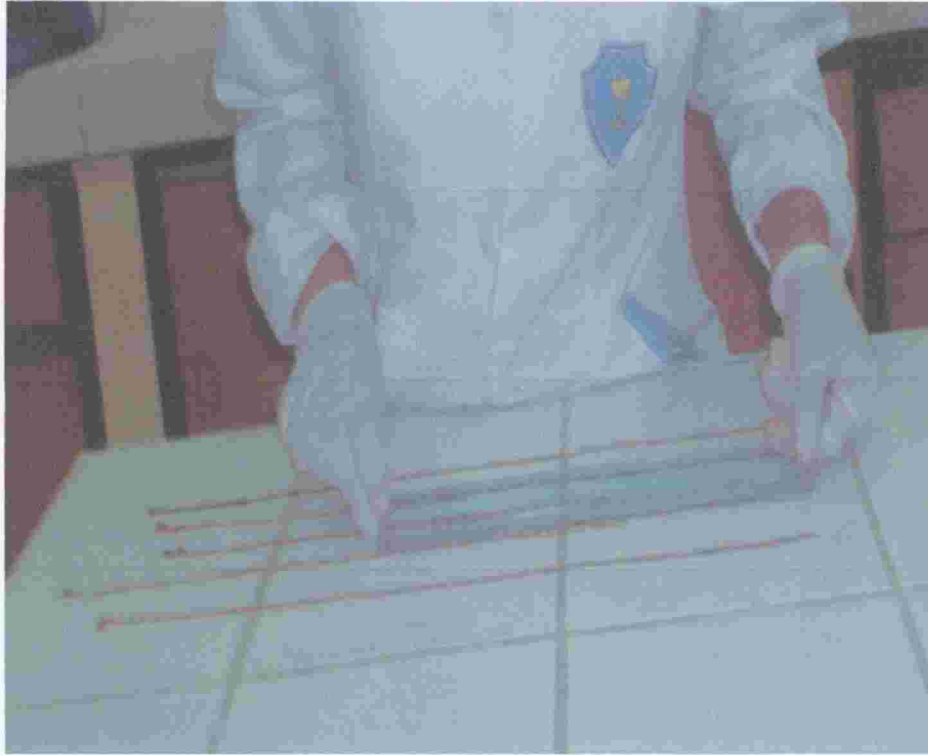
ANEXO N° 10

Administración oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" para la determinación de la actividad antiespasmódica.



ANEXO N° 11

Determinación de la actividad antiespasmódica por el método de motilidad intestinal.



ANEXO N° 12

Determinación de la actividad antiespasmódica por el método de diarrea inducida por aceite de ricino.



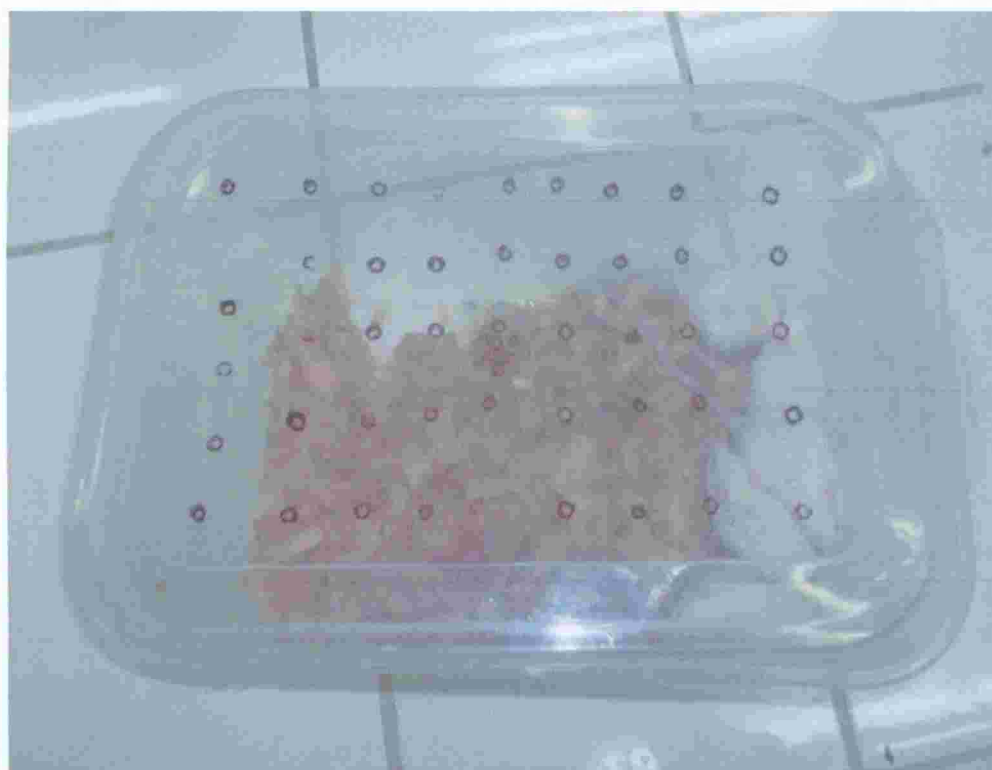
ANEXO N° 13

Determinación de la actividad antiespasmódica por el método de enteroestancamiento inducido por aceite de ricino.



ANEXO N° 14

Observación de los ratones durante la evaluación de toxicidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".



ANEXO N° 15

Prueba de motilidad intestinal en intestino de ratones albinos según tratamientos.

Ayacucho – 2012.

PRUEBA DE MOTILIDAD INTESTINAL						
Grupo	Tratamientos	Dosis (mg/kg)	Longitud total del intestino (cm)	Distancia recorrida por el carbón (cm)	Porcentaje tránsito intestinal	Porcentaje inhibición de la motilidad intestinal
I	BLANCO		54,8 ± 4,19	42,9 ± 4,64	78,394	
II	HIOSCINA	5	55,28 ± 2,63	23,2 ± 2,39	41,948	45,92
III	EXTRACTO	100	56,7 ± 5,31	46,72 ± 4,31	82,512	8,86
IV	EXTRACTO	200	55,2 ± 3,88	18,8 ± 6,28	34,442	56,18
V	EXTRACTO	400	50,18 ± 5,93	17,66 ± 2,49	32,52	58,83

Los valores son la media ± desviación estándar de la media. Cada valor representa el promedio de 5 repeticiones con un nivel de significancia 95%.

ANEXO N° 16

Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de tránsito intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho – 2012.

PORCENTAJE DE TRÁNSITO INTESTINAL					
ANOVA					
	Suma de cuadrados	Gl.	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11,985,755	4	2,996,439	55,094	0
Intra-grupos	1,087,745	20	54,387		
Total	13,073,501	24			

ANEXO N° 17

Prueba de comparación múltiple de Tukey del porcentaje de tránsito intestinal del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens Mill.* "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho – 2012.

PORCENTAJE DE TRÁNSITO INTESTINAL			
TUKEY			
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa= 0.05	
		1	2
400 mg/kg	5	325,200	
200 mg/kg	5	344,420	
Hioscina	5	419,480	
Bianco	5		783,940
100 mg/kg	5		825,120
Sig.		0,292	0,900

ANEXO N° 18

Prueba de diarrea inducida por aceite de ricino en ratones albinos según tratamientos. Ayacucho – 2012.

DIARREA INDUCIDA POR ACEITE DE RICINO						
Grupo	Tratamientos	Dosis (mg/kg)	Inicio de la diarrea (min)	Número total de deposiciones al cabo de dos horas	Número de deposiciones semilíquidas	Porcentaje inhibición de la diarrea
I	BLANCO		68,60 ± 14,54	6,4 ± 0,55	6 ± 1	
II	LOPERAMIDA	5	64,60 ± 36,45	4,8 ± 1,64	2 ± 1,22	66,66
III	EXTRACTO	100	49,80 ± 5,07	6,4 ± 1,95	5,8 ± 1,30	3,33
IV	EXTRACTO	200	55,80 ± 4,49	4,8 ± 1,30	4 ± 1	33,33
V	EXTRACTO	400	60,20 ± 6,87	3,2 ± 1,30	2,2 ± 0,84	63,33

Los valores son la media ± desviación estándar de la media. Cada valor representa el promedio de 5 repeticiones con un nivel de significancia 95%.

ANEXO N° 19

Análisis de varianza (ANOVA) del número de deposiciones semilíquidas inducidas por aceite de ricino del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en ratones albinos. Ayacucho – 2012.

NUMERO DE DEPOSICIONES SEMILIQUIDAS					
ANOVA					
	Suma de cuadrados	Gl.	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	72,4	4	18,1	15,339	0
Intra-grupos	23,6	20	1,18		
Total	96	24			

ANEXO N° 20

Prueba de comparación múltiple de Tukey del número de deposiciones semilíquidas inducidas por aceite de ricino del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en ratones albinos. Ayacucho – 2012.

NUMERO DE DEPOSICIONES SEMILÍQUIDAS			
TUKEY			
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa= 0.05	
		1	2
Loperamida	5	2	
400 mg/kg	5	2,2	
200 mg/kg	5	4	4
100 mg/kg	5		5,8
Blanco	5		6
Sig.		0,059	0,059

ANEXO N° 21

Prueba de enteroestancamiento inducido por aceite de ricino en intestino de ratones albinos según tratamientos. Ayacucho – 2012.

ENTEROESTANCAMIENTO INDUCIDO POR ACEITE DE RICINO						
Grupo	Tratamientos	Dosis (mg/kg)	Peso del intestino con contenido (g)	Peso del intestino vacío (g)	Peso del contenido (g)	Porcentaje Inhibición
I	BLANCO		3,12±0,41	1,77 ± 0,29	1,35 ± 0,17	
II	LOPERAMIDA	5	2,38 ± 0,18	2,03 ± 0,19	0,35 ± 0,07	74,07
III	EXTRACTO	100	2,75 ± 0,38	1,77 ± 0,36	0,98 ± 0,18	27,41
IV	EXTRACTO	200	2,82 ± 0,19	2,20 ± 0,24	0,62 ± 0,17	54,07
V	EXTRACTO	400	2,61±0,15	2,25 ± 0,21	0,36 ± 0,09	73,33

Los valores son la media ± desviación estándar de la media. Cada valor representa el promedio de 5 repeticiones con un nivel de significancia 95%.

ANEXO N° 22

Análisis de varianza (ANOVA) del enteroestancamiento inducido por aceite de ricino (g) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. “marco” en intestino de ratones albinos. Ayacucho – 2012.

ENTEROESTANCAMIENTO (g)					
ANOVA					
	Suma de cuadrados	Gl.	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3,649	4	0,912	44,304	0
Intra-grupos	0,412	20	0,021		
Total	4,061	24			

ANEXO N° 23

Prueba de comparación múltiple de Tukey del enteroestancamiento inducido por aceite de ricino (g) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho – 2012.

ENTEROESTANCAMIENTO (g)				
TUKEY				
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa= 0.05		
		1	2	3
Loperamida	5	0,3540		
400 mg/kg	5	0,3640		
200 mg/kg	5	0,6200		
100 mg/kg	5		0,9760	
Blanco	5			13,480
Sig.		0,057	1,000	1,000

ANEXO N° 24

Análisis de varianza (ANOVA) del peso corporal de ratones macho en la prueba de toxicidad aguda oral (dosis límite) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco". Ayacucho – 2012.

MACHOS					
ANOVA					
	Suma de cuadrados	Gl.	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	43,63	2	21,815	3,337	0,053
Intra-grupos	156,889	24	6,537		
Total	200,519	26			

ANEXO N° 25

Análisis de varianza (ANOVA) del peso corporal de ratones hembra en la prueba de toxicidad aguda oral (dosis límite) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco". Ayacucho – 2012.

HEMBRAS					
ANOVA					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	37,8	2	18,9	1,327	0,282
Intra-grupos	384,5	27	14,241		
Total	422,3	29			

ANEXO N° 26. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	DISEÑO METODOLÓGICO
Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" en intestino de ratones albinos Ayacucho-2012.	¿Tendrá actividad antiespasmódica el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" en intestino de ratones albinos?	<p>Objetivo general:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" en intestino de ratones albinos. <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco". • Precisar el efecto de la motilidad intestinal por la administración de las diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" en los modelos experimentales in vivo (prueba de motilidad intestinal, diarrea inducida por aceite de ricino y enterostancamiento inducida por aceite de ricino) frente al grupo control. • Determinar la toxicidad aguda oral por el método de dosis límite (2 000 mg/Kg) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" en ratones albinos. 	<p>- Antecedentes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aspectos botánicos - Composición química. - Actividad farmacológica. - Propiedades y usos medicinales. - Fisiología de la motilidad intestinal. - Alteraciones de la motilidad intestinal - Fármacos que afectan la función gastrointestinal: espasmolíticos, inhibidores de la motilidad y laxantes. 	<p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" presenta actividad antiespasmódica en intestino de ratones albinos.</p>	<p>Variable independiente Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco"</p> <p>Indicadores: - 100 mg/kg. - 200 mg/kg. - 400 mg/kg.</p> <p>Variable dependiente: Actividad antiespasmódica.</p> <p>Indicadores: Experiencia N° 01: Porcentaje de tránsito intestinal y porcentaje de inhibición de la motilidad. (Ochoa y col, 2008). Experiencia N° 02 y 03: Porcentaje de inhibición de la diarrea. Porcentaje de inhibición enterostancamiento (Ukwuani y col, 2012).</p>	<p>Tipo de investigación: Básico – Experimental</p> <p>Población: Planta de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" que crece en el distrito de Chiara, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho ubicado a 3 527 m.s.n.m.</p> <p>Muestra: Se utilizará 1 Kg de hojas de <i>Ambrosia arborescens</i> Mill. "marco" recolectada en el distrito de Chiara.</p> <p>Unidad experimental Se utilizarán 95 ratones albinos Balb/C de ambos sexos con peso promedio de 20-30 g, adquiridos del Instituto Nacional de Salud de la ciudad de Lima en buen estado de salud, ambientados hasta su utilización con alimento balanceado y agua <i>ad libitum</i>. De los cuales 24 servirán para realizar el ensayo de toxicidad aguda (dosis límite).</p> <p>Actividad antiespasmódica Para evaluar el efecto antiespasmódico, se emplearán tres modelos experimentales in vivo: prueba de la motilidad intestinal según Morón y col. (1999), diarrea y enterostancamiento inducidos por aceite de ricino propuestos por Ukwuani y col. (2012).</p> <p>Análisis estadístico Se calcularán las medias y desviación estándar del porcentaje de tránsito intestinal, porcentaje de inhibición de la motilidad, porcentaje de inhibición de la diarrea y porcentaje de inhibición de enterostancamiento; y se elaborarán cuadros y gráficos en forma de histogramas. Las diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos serán evidenciados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, todo ello con un nivel de confianza al 95%.</p>

Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho - 2012.

Liliana Tapahuasco Cárdenas¹, Enrique Javier Aguilar Felices², Edwin Carlos Enciso Roca³.

¹ Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

² y ³ Laboratorio de Farmacognosia, Toxicología y Farmacología del Área Académica de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

En este estudio se evaluó la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco", utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales. La planta se recolectó en el distrito de Chiara, provincia de Huamanga, en el departamento de Ayacucho. La ejecución del proyecto se llevó a cabo en los Laboratorios de Farmacología y Farmacognosia del Área Académica de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de Julio a Octubre del 2012. El tamizaje fitoquímico se realizó según el procedimiento descrito por Miranda y Cuéllar (2002). Para evaluar la actividad antiespasmódica se emplearon tres modelos *in vivo*: prueba de motilidad intestinal según Morón y Col. (1999), diarrea y enteroestancamiento inducidos por aceite de ricino propuestos por Ukwani y Col. (2012); y la toxicidad se valoró por el método de dosis límite (2 000 mg/kg) según la OECD (2001). El tamizaje fitoquímico reporta la presencia de catequinas, azúcares reductores, aminoácidos, alcaloides, lactonas, triterpenoides y esteroides, saponinas, fenoles y taninos, quinonas, flavonoides y principios amargos. En cuanto a la actividad antiespasmódica se observan buenos resultados a dosis orales de 400 mg/kg en comparación con el estándar utilizado en cada experimento. El resultado de la toxicidad confirma que el extracto no es tóxico a dosis de 2 000 mg/kg. Así los resultados obtenidos en este estudio validan la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Palabras clave: *Ambrosia arborescens* Mill, extracto hidroalcohólico, actividad antiespasmódica.

SUMMARY

In this study evaluated him the antispasmodic activity of the hydroalcoholic abstract of her sheets of *Ambrosia arborescens* Mill. "marco", used in the traditional medicine for the treatment of disorders gastrointestinal. The plant gathered itself in the district of Chiara, Huamanga province, in the department of Ayacucho. The execution of the project took effect in the Laboratories of Farmacología and Farmacognosia of the Academic area of Farmacia of the National University of St. Christopher of Huamanga, during the months of Julius to October of 2012. The tamizaje fitoquímico had total success according to the procedure described by Miranda and Cuéllar (2002). In order to evaluate the antispasmodic activity they used three models *in vivo*: Proof of intestinal motility according to Morón and Col. (1999), diarrhea and enteroestancamiento induced by oil of castor-oil plant proposed by Ukwani and Col. (2012); and toxicity appraised by the method of dose limit (2 000 mg/kg) according to the OECD itself (2001). The tamizaje fitoquímico yields the presence of catechins, reducing sugars, amino acids, alkaloids, lactones, triterpenoides and steroids, saponins, phenols and tannins, quinones, flavonoids and bitter principles. As to the antispasmodic activity observe him good results to oral dosages of 400 mg/kg as compared with the standard used in each experiment. The result of toxicity confirms that the abstract is not toxic to dose of 2 000 mg/kg. That way the results obtained in this study validate the antispasmodic activity of the hydroalcoholic abstract of the sheets of *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".

Passwords: *Ambrosia arborescens* Mill, hydroalcoholic abstract, antispasmodic activity.

INTRODUCCIÓN

Ambrosia arborescens Mill. "marco" es una planta nativa de la cordillera de América del Sur, se desarrolla en suelos arenosos, poco fértiles, ligeramente alcalinos (Vera, 2008); conocida por sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias, digestivas y como repelente contra insectos (Pietrelini, 2007; Vera, 2008 y Cruz 2009). Contiene cardiotónicos, triterpenos y/o esteroides, taninos, flavonoides, alcaloides, azúcares reductores, saponinas, principios amargos y resinas (Cruz, 2009).

Herz y Col. (1968), reportaron, a partir de dos colecciones de especies del Perú de *Ambrosia arborescens*, el aislamiento de lactonas sesquiterpénicas. Vera (2008), realizó un estudio fitoquímico de *Ambrosia arborescens* Miller, recolectada en Ecuador que condujo al aislamiento de cinco sesquiterpenlactonas y cinco compuestos fenólicos (entre los cuales dos pertenecen al grupo de los flavonoides).

Los flavonoides son un grupo grande de metabolitos secundarios con variada actividad farmacológica entre las que destacan: antioxidante, antiinflamatoria, antiespasmódica, antimicrobiana, citoprotectora, analgésica (Bruneton, 2001; Kuklinski, 2003).

Las lactonas sesquiterpénicas presentan gran importancia por la variada acción biológica que han demostrado: acción citotóxica, antitumoral, analgésica, inhibidores del crecimiento de bacterias (Lock, 1994) y antiespasmódica (Emendofer y Col., 2005 y Pérez y Col., 2012).

El género *Ambrosia* ha sido estudiado como antioxidante (Zoran, 2008), antiepiléptico (Buznego y Col., 1988; Buznego y Pérez, 2004), antiinflamatorio (Lastra y Col., 2004), antibacteriano y fungicida (Chalchat y Col., 2004; Wang y Col., 2006; Yañez y Col., 2011).

Como vemos el género *Ambrosia* ha sido objeto de numerosos estudios tanto en el campo fitoquímico como farmacológico, sin embargo, son pocos los reportes específicos de esta planta en particular.

De esta forma el conocimiento etnofarmacológico de la especie ha motivado investigaciones tendientes a corroborar o a refutar la hipótesis generada a partir de su uso popular con fines terapéuticos.

Por medio de la validación farmacológica de la actividad antiespasmódica de la planta se aportarán datos importantes al conocimiento popular para hacer un mejor y más adecuado uso de la flora de nuestra región.

Aún en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina, pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir esta confianza en la naturaleza, sino para agrupar a las plantas de efectos similares, para conocer los principios activos responsables de aliviar o curar enfermedades, separarlos de las plantas que lo contienen, determinar sus estructuras químicas, procurar su síntesis, proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad y, finalmente, dar a conocer

Correspondencia:

Liliane Tapahuasco Cárdenas: evelin_05_12@hotmail.com
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
Fac. Ciencias Biológicas- Av. Independencia s/n
Ciudad Universitaria

a la humanidad los resultados de los estudios (Lock, 1994).

En tal sentido se plantea evaluar la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino de ratones albinos teniendo en cuenta los siguientes objetivos específicos:

1. Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco".
2. Precisar el efecto de la motilidad intestinal por la administración de las diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en los diferentes modelos experimentales in vivo (prueba de motilidad intestinal, diarrea inducida por aceite de ricino y enteroestancamiento inducido por aceite de ricino) frente al grupo control.
3. Determinar la toxicidad aguda oral por el método de dosis límite (2 000 mg/kg) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en ratones albinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo se desarrolló en los Laboratorios de Farmacología y Farmacognosia del Área Académica de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de julio a octubre del 2012.

POBLACIÓN

Planta de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" que crece en el distrito de Chiara, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho ubicado a 3 527 m.s.n.m.

MUESTRA

Se utilizó 1 kg de hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" recolectadas durante el mes de agosto del 2012, en el distrito de Chiara, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a 3 527 m.s.n.m. Una parte sirvió para la identificación botánica.

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 95 ratones albinos Balb/C de ambos sexos con peso promedio de 20 - 30 g, adquiridos del Instituto Nacional de Salud de la ciudad de Lima en buen estado de salud, ambientados hasta su utilización con alimento balanceado y agua *ad libitum*. De los cuales 24 ratones sirvieron para realizar el ensayo de toxicidad (dosis límite).

DISEÑO METODOLÓGICO

Preparación del extracto hidroalcohólico

La muestra se secó a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación por un periodo de 15 días. Luego se procedió a pulverizarlas para macerar 100 g de la muestra obtenida en un frasco de color ámbar con alcohol 80° por un periodo de siete días. Seguidamente se filtró y se procedió a concentrar al vacío utilizando el rotavapor para la eliminación del disolvente.

Tamizaje fitoquímico

Se siguió el modelo de Miranda y Cuéllar (2000).

Determinación del efecto antiespasmódico

Para evaluar el efecto antiespasmódico, se emplearon tres modelos experimentales *in vivo*: prueba de motilidad intestinal según Morón y Col. (1999), diarrea y enteroestancamiento inducidos por aceite de ricino, modelos propuestos por Ukwuani y Col. (2012).

1. Prueba de motilidad intestinal

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

Los parámetros registrados fueron: longitud total del intestino (cm) y la distancia recorrida por el carbón activado desde el esfínter pilórico hasta el lugar más distal donde llegó esta sustancia como marcadora. A partir de este último se calcularon el porcentaje de tránsito intestinal

y el porcentaje de inhibición de la motilidad de la siguiente manera:

Porcentaje de tránsito intestinal =

$$\frac{\text{Distancia recorrida por el carbón (cm)}}{\text{Longitud total del Intestino (cm)}} \times 100$$

Porcentaje de inhibición de la motilidad =

$$\frac{\text{DRC blanco (cm)} - \text{DRC prueba (cm)}}{\text{DRC blanco (cm)}} \times 100$$

Dónde:

DCR: Distancia recorrida por el carbón

2. Diarrea inducida por aceite de ricino

La prueba de diarrea inducida por aceite de ricino se fundamenta en el conteo de deposiciones semilíquidas realizadas por los ratones luego de la administración del aceite de ricino. Mientras menor sea el número de deposiciones semilíquidas mayor será el efecto anti-diarréico.

Los parámetros registrados fueron: inicio de la diarrea en minutos, número total de deposiciones al cabo de dos horas, número de deposiciones semilíquidas y a partir de este último dato se calculó el porcentaje de inhibición de la diarrea de la siguiente manera:

Porcentaje de inhibición de la diarrea =

$$\frac{\text{NDS blanco (g)} - \text{NDS prueba (g)}}{\text{NDS blanco (g)}} \times 100$$

Dónde:

NDS: Número de deposiciones semilíquidas al cabo de dos horas.

3. Enterostancamiento inducido por aceite de ricino
La prueba de enterostancamiento inducido por aceite de ricino se fundamenta en registrar el peso (g) del contenido intestinal (acumulación del líquido intraluminal) de los ratones luego de la administración de aceite de ricino. Mientras menor sea el peso mayor será el efecto anti-diarréico (disminución de la motilidad intestinal y secreciones).

Los parámetros registrados fueron: peso del intestino con contenido (g), peso del intestino vacío (g) y mediante la diferencia entre los pesos llenos y vacíos se calculó el peso del contenido intestinal (g) este último dato se usó para hallar el porcentaje de inhibición de enterostancamiento de la siguiente manera:

Porcentaje de inhibición de Enterostancamiento =

$$\frac{\text{PCI blanco (g)} - \text{PCI prueba (g)}}{\text{PCI blanco (g)}} \times 100$$

Dónde:

PCI: Peso del contenido intestinal.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño totalmente randomizado cada tratamiento con cinco repeticiones para cada uno de ellos, los que fueron sometidos a los siguientes tratamientos:

Prueba de motilidad intestinal

GRUPO I (Blanco): Solución salina fisiológica 0,1 ml/10 g de peso.

GRUPO II (Estándar): Hioscina 5 mg/kg de peso.

GRUPO III: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 100 mg/kg de peso.

GRUPO IV: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 200 mg/kg de peso.

GRUPO V: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 400 mg/kg de peso.

Diarrea inducida con aceite de ricino

GRUPO I (Blanco): Solución salina fisiológica 0,1 ml/10 g de peso.

GRUPO II (Estándar): Loperamida 5 mg/kg de peso.

GRUPO III: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 100 mg/kg de peso.

Correspondencia:

Liliana Tapahuasco Cárdenas: evelin_05_12@hotmail.com
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
Fac. Ciencias Biológicas - Av. Independencia s/n.
Ciudad Universitaria

GRUPO IV: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 200 mg/kg de peso.

GRUPO V: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 400 mg/kg de peso.

Enterostancamiento inducido por aceite de ricino

GRUPO I (Blanco): Solución salina fisiológica 0,1 ml/10 g de peso.

GRUPO II (Estándar): Loperamida 5 mg/kg de peso.

GRUPO III: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 100 mg/kg de peso.

GRUPO IV: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 200 mg/kg de peso.

GRUPO V: Tratado con el extracto hidroalcohólico a 400 mg/kg de peso

ANÁLISIS DE DATOS

Con los datos del porcentaje de tránsito intestinal, porcentaje de inhibición de la motilidad, porcentaje de inhibición de la diarrea y el porcentaje de inhibición de enterostancamiento se calcularon el promedio y la desviación estándar de las repeticiones y se elaboraron cuadros y gráficos en forma de histogramas. Las diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos fueron evidenciados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, todo ello con un nivel de confianza al 95%.

DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA ORAL (Dosis límite)

El método de dosis límite se fundamenta en la administración de una dosis máxima de 2 000 mg/kg, si no se produce mortalidad en los animales de laboratorio a esa dosis, significa que la dosis evaluada no es tóxica.

Los parámetros registrados fueron: peso corporal antes de que la sustancia experimental sea administrada (día cero), a los siete días y a los 14 días (OECD, 2001).

Análisis de datos

Se calcularon las medias y desviación estándar de la variación del peso corporal de ambos grupos (machos y hembras). Las diferencias entre las medias se evaluaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza al 95%.

RESULTADOS

CUADRO Nº 01: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco". Ayacucho – 2012

Metabolitos Secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Catequinas	Ensayo de catequinas	(+++)	Color verde carmelita
Azúcares reductores	Ensayo Benedict	(+)	Coloración roja
Lactonas	Ensayo Baljet	(+++)	Precipitado café
Triterpenoides – esteroides	Ensayo Lieberman-Buchard	(+++)	Coloración verde oscuro-negro-azul
Saponinas	Ensayo espuma	(+++)	Espuma persistente
Fenoles y taninos	Ensayo Cl ₂ Fe	(+++)	Coloración verde intensa
Aminoácidos	Ensayo ninhidrina	(+)	Coloración azul
Quinonas	Ensayo Bornträger	(+++)	Coloración roja
Flavonoides	Ensayo Shinoda	(++)	Coloración amarilla
Alcaloides	Ensayo Dragendorff	(+++)	Precipitado naranja
Alcaloides	Ensayo Mayer	(+)	Suspensión verde lechosa
Alcaloides	Ensayo Wagner	(++)	Precipitado verde
Principios amargos		(+++)	

Leyenda:

(+) Escaso, (++) Moderado, (+++) Abundante

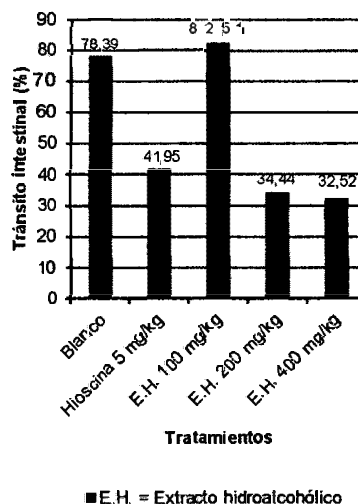


GRÁFICO Nº 01: Porcentaje del tránsito intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho – 2012.

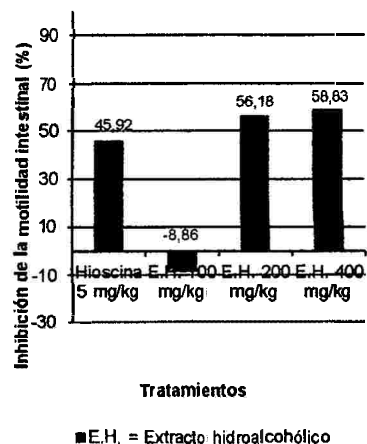


GRÁFICO Nº 02: Porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho – 2012.

Correspondencia:

Liliana Tapahuasco Cárdenas: eveln_05_12@hotmail.com
 Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
 Fac. Ciencias Biológicas - Av. Independencia s/n
 Ciudad Universitaria

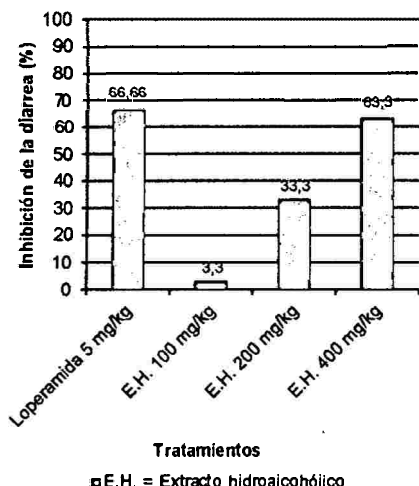


GRÁFICO N° 03: Porcentaje de inhibición de la diarrea por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en ratones albinos. Ayacucho- 2012.

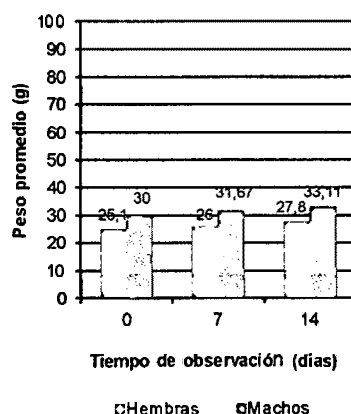


GRÁFICO N° 05: Variación de peso corporal en ratones según tiempo de observación. Ayacucho – 2012.

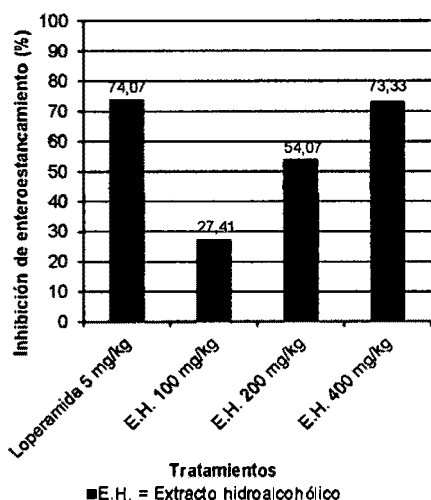


GRÁFICO N° 04: Porcentaje de inhibición de enterostancamiento por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho – 2012.

DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" usada comúnmente en la medicina tradicional para tratar síntomas gastrointestinales.

De acuerdo a los resultados expresados en el Cuadro N° 01 el tamizaje fitoquímico reporta la presencia de catequinas, lactonas, triterpenoides - esteroides, saponinas, fenoles y taninos, quinonas, flavonoides, alcaloides y principios amargos resultados similares a los obtenidos por Cruz en el año 2009.

Para evaluar la actividad antiespasmódica se realizaron tres pruebas farmacológicas *in vivo*: prueba de motilidad intestinal, diarrea inducida por aceite de ricino y enterostancamiento inducido por aceite de ricino.

En la prueba de motilidad intestinal se calcularon el porcentaje de tránsito intestinal y el porcentaje de inhibición de la motilidad.

En el porcentaje de tránsito intestinal la hioscina obtuvo un valor de 41,95%, los resultados del extracto a dosis orales de 200 mg/kg y 400mg/kg fueron de 34,44% y 32,52% respectivamente (Gráfico N° 01). Al evaluar las diferencias estadísticas en el efecto producido por cada uno de los tratamientos se demuestra que la dosis de 100 mg/kg y el blanco son similares y no se comparan estadísticamente al estándar. Asimismo, la dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg estadísticamente poseen el mismo comportamiento farmacológico.

En cuanto al porcentaje de inhibición de la motilidad intestinal la hioscina obtuvo un valor de 45,92%. En cuanto al extracto a dosis orales de 200 mg/kg - 400 mg/kg los resultados fueron 56,18% y 58,83% respectivamente. A la dosis de 100 mg/kg no se obtuvo el efecto esperado (Gráfico N° 02). Del análisis realizado podemos considerar que la dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg poseen resultados similares a la hioscina.

En la prueba de diarrea inducida por aceite de ricino la loperamida obtuvo un porcentaje de inhibición de la diarrea de 66,66%. En cuanto al extracto a dosis orales de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg los resultados fueron 3,3%, 33,3 % y 63,3% respectivamente (Gráfico N° 03). Del análisis realizado podemos considerar que la dosis de 400 mg/kg posee resultados similares a la loperamida, en cuanto a la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg disminuyen el número de deposiciones líquidas en los ratones pero estos resultados no se comparan a la loperamida.

En la prueba de enteroestancamiento inducido por aceite de ricino la loperamida obtuvo un valor de 74,07%. En cuanto al extracto a dosis orales de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg los resultados fueron 27,41%, 54,07% y 73,33% respectivamente (Gráfico N° 04). Del análisis realizado podemos considerar que la dosis de 400 mg/kg posee resultados similares a la loperamida, en cuanto a la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg disminuyen la acumulación del líquido intraluminal pero estos resultados no se comparan a la loperamida.

La motilidad gastrointestinal está regulada por numerosos mediadores, principalmente acetilcolina, que logra sus efectos contráctiles a través de un aumento de Ca^{2+} citosólico (Bigovic, 2010) y que media su acción por la estimulación de receptores muscarínicos M_3 (Gilani y Col., 2005). Precisamente los trastornos de la motilidad se tratan mediante fármacos anticolinérgicos (Hardman y Limbird, 2003) como la hioscina, un antagonista muscarínico (Bustamante y Morales, 2003).

La diarrea se considera generalmente como una consecuencia de la alteración de la motilidad y la acumulación de fluido en el tracto gastrointestinal (Ammon y Thomas, 1974). La loperamida (fármaco anti-diarréico) incluye efectos sobre la motilidad intestinal y secreción intestinal (Hardman y Limbird, 2003).

Los resultados de este estudio revelan que el extracto produjo una protección significativa frente a los espasmos inducidos por el aceite de ricino y se encontró que tiene una efectividad similar a la hioscina y a la loperamida, fármacos utilizados ampliamente en espasmos y trastornos de la diarrea respectivamente, ambos relacionados con la inhibición de la motilidad.

Respecto a los flavonoides, Hamman y Abdalla, (1997) mostraron los efectos inhibitorios sobre la motilidad en ileon aislado de rata de 11 flavonoides, determinando el siguiente orden de potencia de mayor a menor: galangina, quercetina, crisina, xantomicol, flavona, naringenina, fisetina, morina y flavanona. Mata y Rojas, (1997), y Capasso y Col. (1988) mostraron los efectos inhibitorios sobre el músculo liso intestinal de los flavonoides (quercetina, apigenina, kaempferol y rutina).

Siendo las lactonas sesquiterpénicas y compuestos fenólicos los compuestos mayoritarios, además de haber evidencias científicas de que presentan actividad antiespasmódica podríamos atribuir los resultados obtenidos a estos metabolitos. Dichos metabolitos pueden interferir con la movilización de calcio de los depósitos intracelulares.

Así nuestros resultados confirman la actividad antiespasmódica de *Ambrosia arborescens* Mill. apoyando y justificando su uso popular para tratar problemas gastrointestinales.

El resultado de los efectos toxicológicos confirma que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" no es tóxico a las dosis de 2 000 mg/kg. El extracto fue bien tolerado por los animales, no hubo muertes registradas después de la administración oral ni durante el periodo de observación, lo cual se manifestó mediante el aumento del peso corporal en ambos grupos (Gráfico N° 05).

En realidad no se han realizado estos estudios a profundidad para determinar el poder tóxico de la planta, tal como lo mencionan Naranjo y Col. (2007) y Vera (2008) quienes atribuyen esta propiedad a las sesquiterpenlactonas presentes en la especie.

CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" presenta actividad antiespasmódica significativa ($p < 0,05$).
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" son: catequinas, azúcares reductores,

lactonas, triterpenoides - esteroides, saponinas, fenoles, taninos, aminoácidos, quinonas, flavonoides y alcaloides.

3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" posee actividad antiespasmódica la cual se evidencia en los diferentes modelos experimentales in vivo (prueba de motilidad intestinal, diarrea inducida por aceite de ricino y enteroestancamiento inducida por aceite de ricino) frente al grupo control.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mill. "marco" no demostró ser tóxica a la dosis 2 000 mg/kg.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ammon, P. and Thomas, P. 1974. Effects of oleic and ricinoleic acids net jejuna water and electrolyte movement. J. Clin. Invest 53:374 - 379. United States.
2. Bigovic, D. 2010. Relaxant effect of the ethanol extract of *Helichrysum pilcalum* (Asteraceae) on isolated rat ileum contractions. Molecules 15:3391 - 3401. United States.
3. Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, fitoquímica y plantas medicinales. Tercera edición. Editorial Acribia. Zaragoza.
4. Bustamante, S. y Morales, M. 2003. Farmacología de los antagonistas muscarínicos. Biblioteca Virtual Universal. Argentina.
5. Buznego, M.; Llanio, M.; Fernández, M.; Alonso, N.; Acevedo, M. and Pérez, H. 1998. Perfil neurológico de la *Ambrosia paniculata* (Willd) O.E. Schulz (Artemisa). Rev. Cubana Planta Med. 3:45 - 46. United States.
6. Buznego, M. and Pérez, H. 2004. Acute effect of an extract of *Ambrosia paniculata* (Willd.) O. E. Schultz (mugwort) in several models of experimental epilepsy. Epilepsy & Behavior. 5:847 - 851. United States.
7. Capasso, F.; Pinto, A.; Mascolo, N.; Autore, G. y Franco, M. 1988. Effect of flavonoids on PGE2 - and LTD4 - induced contractions on the guinea pig isolated ileum. Pharmacol Res Commun; 20(suppl.1):201 - 2. United States.
8. Chalchat, C.; Maksimovic, A.; Petrovic, D.; Gorrunic, S.; Dodervic, S. and Mraovic, M. 2004. Chemical composition and antimicrobial activity of *Ambrosia artemisiifolia* L. essential oil. Journal of essential oil research. 16: 270 - 273. United States.
9. Cruz, P. 2009. Tesis. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba - Ecuador.
10. Emendorfer, F.; Emendorfer, F.; Bellato, F.; Floriani, V.; Cechinel, V.; Yunes, R.; Delle, F. and Mala, A. 2005. Antispasmodic activity of fractions and Cynaropicrin from *Cynara scolymus* on guinea - pig ileum. Notes Biol. Pharm. Bull. 28(5) 902 - 904. Vol. 28, N° 5. United States.
11. Gilani, A.; Bashir, S.; Janbaz, K. and Shah, A. 2005. Presence of cholinergic and calcium channel blocking activities explains the traditional use of *Hibiscus rosasiniensis* in constipation and diarrhoea. Journal of ethnopharmacology 102:289 - 294. United States.
12. Hammad, H. and Abdalla, S. 1997. Pharmacological effects of selected flavonoids on rat isolated ileum: structure - activity relationship. Gen. Pharmac., 28: 767 - 771. United States.
13. Hardman, J. and Limbird, L. 2003. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. McGraw - Hill Interamericana. México.

Correspondencia:

Liliana Tapahuasco Cárdenas: evelin_05_12@hotmail.com
 Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
 Fac. Ciencias Biológicas - Av. Independencia s/n
 Ciudad Universitaria

14. Herz, W.; Anderson, G. and Raulais, D. 1968. Sesquiterpen lactones of some *Ambrosia* species. *Phytochemistry*. 5, 877 - 889. United States.
15. Kuklinski, C. 2003. *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Editorial Omega. Barcelona - España.
16. Lastra, A.; Ramírez, T.; Salazar, L.; Martínez, M. and Trujillo, F. 2004. The ambrosanolid cumain inhibits macrophage nitric oxide synthesis: some structural considerations. *Journal Ethnopharmacology*. 95:221 - 227. United States.
17. Lock, O. 1994. *Investigación fitoquímica: Método en el estudio de productos naturales*. Segunda edición. Editorial Fondo. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima - Perú.
18. Mata, R. and Rojas, A. 1997. Smooth muscle relaxing flavonoids and tepenoids from *Conyza filaginoides*. *Planta Med*. 63(1): 31 - 5. United States.
19. Miranda, M. y Cuéllar, A. 2000. *Manual de Prácticas de Laboratorio, Farmacognosia y Productos Naturales*. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba.
20. Morón, F.; Martínez, M. y Morón, D. 1999. Disminución del tránsito intestinal en ratones por tintura de guayaba (*Psidium guajava* L.) oral. *Rev. Cubana Planta Med* 1999, vol. 3. N° 2 p. 54 - 56. Cuba.
21. Naranjo, B.; Braca, A.; De Leo, M. y Cioni, P. 2007. Universidad de Pisa. Trabajo no publicado.
22. OECD. 2001. *Guideline for testing of chemicals. Acute oral toxicity - Acute toxic class method*. N° 423. France.
23. Pérez, R.; Irasema, A.; Cruz, T. y Mota, J. 2012. Principios antiespasmódicos de las algas de agua dulce *Reticulatum hydrodictyon*. *Medicinal Chemistry Research*. Volumen 21. pp. 1023 - 1029. United States.
24. Pietrellini, F. 2007. *Las plantas medicinales en un piso alto y mesoandino. Estudio etnobotánico de la zona de Puquio - Ayacucho*. Copyright. Perú.
25. Ukwuani, A.; Salihu, S.; Anyanwu, F.; Yanah, Y. and Samuel, R. 2012. Antidiarrhoea activity of Aqueous Leaves Extract of *Vitex doniana*. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research* 4(3): 40 - 44. United States.
26. Vera, B. 2008. Tesis. Estudio fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador: *Ambrosia arborescens*. Escuela Politécnica del Ejército. Departamento de Ciencias de la Vida. Tesis en Ingeniería en biotecnología. Ecuador.
27. Wang, P.; Hua, C. and Xian, C. 2006. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Ambrosia trifida* L. *Molecules*. 11:549 - 555. United States.
28. Yañez, C., Ríos, N.; Mora, F.; Rojas, L. Díaz, T.; Velasco, J.; Ríos, N. y Meléndez, P. 2011. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ambrosia peruviana Willd.* de los llanos venezolanos Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. *Rev. Perú. Biol* 18(2): 149 - 151.
29. Zorañ, M. 2008. In vitro antioxidant activity of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L., Asteraceae) *Herb. Industrial Crops and Products*. 28:356 - 336. United States.

Correspondencia:

Liliana Tapa huasco Cárdenas: evelin_05_12@hotmail.com
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
Fac. Ciencias Biológicas - Av. Independencia s/n.
Ciudad Universitaria

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N° 005 – 13 – FCB – D

Bach. Liliana Tapahuasco Cárdenas

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro con doce minutos del día viernes doce de abril del dos mil trece, en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presidencia del señor Decano Dr. Tomás Castro Carranza, se reunieron los miembros jurados: Mg. Marco Aronés Jara, Mg. Enrique Aguilar Felices, Mg. Marta Romero Viacava (Miembro y Secretaria Docente) para recepcionar la sustentación de la tesis titulada: Actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ambrosia arborescens* Mili. "marco" en intestino de ratones albinos. Ayacucho – 2012, presentada por la bachiller Liliana Tapahuasco Cárdenas, con la que pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutica. Se da inicio al acto de sustentación, el presidente de la comisión evaluadora invitó a la secretaria a dar lectura de la documentación correspondiente, luego del cual dio las pautas básicas a la sustentante, para que pueda exponer su trabajo de investigación en un tiempo no mayor de 45 minutos.

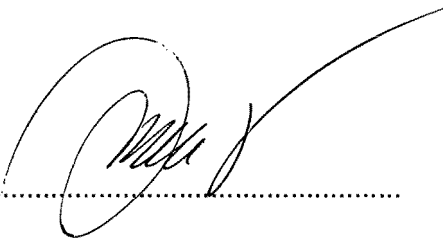
Culminado la exposición del trabajo se dio inicio a segunda etapa del acto Académico, en la que el presidente invitó a los docentes miembros jurados a iniciar con sus observaciones, aclaraciones y/o preguntas a fin de ser respondidas por la sustentante.

Finalizada esta etapa el presidente de la comisión invitó a la sustentante y al público asistente a retirarse momentáneamente del auditorio a fin de que los miembros del jurado pueda deliberar en privado la calificación obteniéndose las siguientes calificaciones

Miembro Jurado	Exposición	Respuesta preguntas	Promedio
Mg. Marco Aronés Jara	17	17	17
Mg. Enrique Aguilar Felices	17	17	17
Mg. Marta Romero Viacava	17	17	17

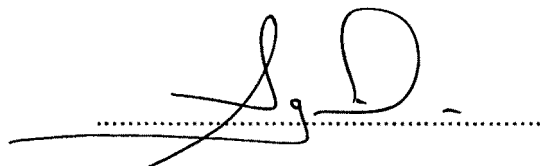
Finalizada la evaluación por parte de los miembros jurados la sustentante obtuvo la calificación promedio final de DIECISIETE (17) de lo cual dan fe los miembros del Jurado calificador estampando sus firmas al pie del presente.

Concluyendo el acto de sustentación de tesis, siendo las seis y diez de la noche.



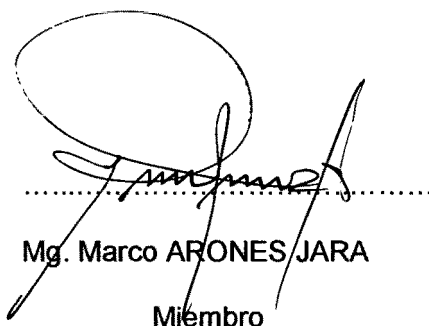
Dr. Tomás CASTRO CARRANZA

Presidente



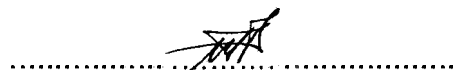
Mg. Enrique AGUILAR FELICES

Miembro – Asesor



Mg. Marco ARONES JARA

Miembro



Mg. Marta ROMERO VIACAVAL

Miembro