

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL

DEHUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y

BIOQUÍMICA



Efecto antiespasmódico de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" sobre el íleon aislado de

***Cavia porcellus* "cobayo". Ayacucho, 2004**

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

PRESENTADO POR:

Bach. FERNÁNDEZ MEDINA, Tatiana

AYACUCHO, PERÚ

2005

A mis padres, Jorge y Betty

Por su invaluable esfuerzo,

cariño y dedicación durante

mi formación profesional.

A mis hermanos :

Nanie, Sayuri, Indira y Yarid

por su gran apoyo, paciencia

y afecto.

A mis Amigos

Por los momentos compartidos.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por brindarme la oportunidad de lograr mi profesión.

A la Facultad de Ciencias Biológicas en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y a los docentes que laboran en ella, por brindarme sus conocimientos y compartir sus experiencias durante mi formación profesional.

A mis asesores Mg. José Manuel Díez Macavilca y Q.F. Marco Rolando Aronés Jara, por su dedicación y orientación para el desarrollo del presente trabajo.

A todas las personas que de alguna forma contribuyeron con la ejecución de este trabajo de investigación.

ÍNDICE

	Pag.
AGRADECIMIENTO.	iii
RESUMEN.	vi
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. MARCO TEÓRICO.	3
2.1. Antecedentes.	3
2.2. Aspectos botánicos de la <i>Mentha aff. arvensis</i> L. "hierba buena".	7
2.2.1. Clasificación sistemática.	7
2.2.2. Características botánicas de la familia Lamiaceae.	8
2.2.3. Descripción de la especie <i>Mentha aff. arvensis</i> L. "hierba buena".	9
2.2.4. Habitación.	9
2.2.5. Agricultura.	10
2.2.6. Usos medicinales.	10
2.3. Droga, principios activos y descripción de los metabolitos secundarios.	11
2.4. Dolor.	13
2.4.1. Fisiopatología.	14
2.4.2. Tipos de dolor.	14
2.4.3. Causas desencadenantes del dolor abdominal.	15
2.4.4. Características del dolor abdominal.	16
2.4.5. Sintomatología acompañante.	17
2.5. Sistema nervioso.	17
2.5.1. Fármacos colinérgicos o parasimpaticomiméticos.	18
2.5.2. Fármacos bloqueantes colinérgicos.	19
2.6. Espasmo.	19
2.7. Antiespasmódico.	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS.	20
3.1. Ubicación.	20
3.2. Materiales.	20
3.3. Tamizaje fitoquímico.	21
3.4. Estudio farmacológico.	25
3.4.1. Método de Magnus.	25
3.4.2. Baño de órganos aislados.	25

3.4.3. Preparación del método de Magnus.	27
3.4.4. Íleon de cobayo.	28
3.4.5. Preparación de la infusión de la planta.	28
3.4.6. Animales de experimentación.	29
3.4.7. Construcción de la curva Dosis – Respuesta.	29
3.5. Técnicas de medición.	30
3.6. Análisis estadístico.	30
IV. RESULTADOS.	31
V. DISCUSIÓN.	39
VI. CONCLUSIONES.	44
VII. RECOMENDACIONES.	45
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	46
ANEXOS.	

“Efecto antiespasmódico de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” sobre el íleon aislado de *Cavia porcellus* “Cobayo”. Ayacucho, 2004”

Autor : Bachiller. Tatiana FERNÁNDEZ MEDINA.

Asesores : Mg. José Manuel, DIEZ MACAVILCA. y Q.F. Marco Rolando, ARONÉS JARA.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar el efecto antiespasmódico de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”, en segmentos de intestino (íleon) de cobayo a diferentes concentraciones: 10, 15, 20, 25 y 30%, para luego realizar estudios *in vitro* usando el método descrito por Magnus, los cuales se mantienen en líquido nutritivo de Tyrode; en un baño de órganos aislados con suministro permanente de oxígeno y a una temperatura de 37°C.

Se utilizó un quimógrafo para registrar la respuesta contráctil máxima del íleon en presencia de acetilcolina a diversas concentraciones de $5 \times 10^{-3}M$, $5 \times 10^{-4}M$, $5 \times 10^{-6}M$, $4.13 \times 10^{-6}M$ y $1.38 \times 10^{-6}M$. Los datos obtenidos sirvieron para calcular los valores relativos en milímetros de respuesta contráctil del órgano a la acetilcolina, en presencia de las diferentes concentraciones de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” y de atropina como fármaco de referencia a concentraciones de $5 \times 10^{-4}M$, $5 \times 10^{-5}M$, $5 \times 10^{-6}M$.

En el ensayo farmacológico se determinó que la infusión de la *Mentha aff. arvensis* L. posee efecto antiespasmódico debido a que disminuyeron de forma dosis dependiente la amplitud de las contracciones inducidas por el espasmógeno (acetilcolina $5 \times 10^{-4}M$) actuando en forma similar a la atropina.

En este ensayo se determinó que la infusión al 30% (4.00mm) tiene una eficiencia de 86.66% con respecto a la infusión al 10%. El efecto antiespasmódico de la infusión al 10% (17.0mm) es similar a la droga de referencia, atropina $5 \times 10^{-5}M$ (18.0mm).

El análisis fitoquímico de los extractos de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” reportó presencia de los siguientes metabolitos secundarios: aceites esenciales, alcaloides, cumarinas, lactonas, resinas, azúcares reductores, taninos, quinonas, mucilagos, principios amargos y saponinas.

Palabras claves: Plantas medicinales; Antiespasmódico; Atropina; Acetilcolina; *Mentha aff. arvensis* L.; Órganos aislados.

I. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional es un conjunto de conocimientos y prácticas que tiene como fundamento el saber médico ancestral de la población modificado a lo largo de los siglos por la influencia de la medicina popular, la religión cristiana, etc; es una práctica que se transmite por la tradición familiar o comunitaria, que tiene sus propios agentes de salud y sus ideas específicas sobre la enfermedad y curación.

Como se sabe las plantas elaboran dos productos químicos: los principios inmediatos y los principios activos, siendo estos últimos los que ejercen la actividad farmacológica.

En nuestro país y específicamente en nuestra región existen muchas plantas medicinales que son utilizadas en el tratamiento de diversas patologías, muchas de ellas carecen de base científica, por ello es necesario realizar estudios y de esta manera contribuir con el uso adecuado por la población.

Los procesos espasmódicos son afecciones que sufren la población frecuentemente ya sea por enfermedades del intestino, consecuencia de intoxicaciones o fermentaciones.

Entre las especies empleadas por sus propiedades antiespasmódicas se encuentra *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" y por esta razón se desarrolló el presente trabajo de investigación que estuvo orientado a conocer los

principales metabolitos secundarios mediante un tamizaje fitoquímico y corroborar el efecto antiespasmódico de la infusión de esta especie utilizando la técnica de órganos aislados en pruebas *in vitro* que son contrastados con drogas patrones, en este caso la acetilcolina que tiene una acción espasmogénica a nivel de la musculatura lisa intestinal.

Este trabajo se desarrollo teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Objetivos Generales:

- * Evaluar el efecto antiespasmódico de infusiones de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” en el íleon aislado de *Cavia porcellus* “cobayo”.

Objetivos Específicos:

- * Caracterizar la actividad basal *in vitro* del íleon aislado de *Cavia porcellus* “cobayo” con sus movimientos típicos de contracción-relajación rítmica alterñante.
- * Evaluar las respuestas contráctiles dependientes de las dosis de acetilcolina a diversas concentraciones sobre el íleon aislado.
- * Evaluar la respuesta contráctil por acción de la atropina bloqueando los efectos espasmódicos de la acetilcolina.
- * Evaluar las respuestas contráctiles de las infusiones de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” a diversas concentraciones y determinar variaciones significativas.
- * Identificar el metabolito secundario responsable de la actividad antiespasmódica.
- * Determinar la concentración óptima que tenga la mejor actividad antiespasmódica.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES.

El empleo de plantas medicinales, con fines curativos, es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Al principio se utilizaba a través de rituales mágicos. El uso, desde tiempos antiguos, de las plantas para curar se pone de manifiesto por la existencia de herbarios desde la época de los sumerios, los asirios, los babilonios o los fenicios. El Papiro de Ebers (1700 a.C.), con más de 20 m de longitud, encontrado en las ruinas de Luxor, ya recoge, por ejemplo, el uso medicinal de 700 plantas, como el ajo o la adormidera. En China y el resto de Asia el uso de plantas para tratar enfermedades se remonta a más de 10.000 años. Sin embargo, fueron griegos y romanos los primeros en sistematizar en Occidente, a través de sus escritos, el estudio de las plantas medicinales. Así, Dioscórides, en su obra *De Materia Medica*, describe más de 600 plantas de uso medicinal.

Se calcula en unas 260.000 las especies de plantas que se conocen en la actualidad, de las que el 10% se pueden considerar medicinales, es decir, se encuentran recogidas en los tratados médicos de fitoterapia, modernos y de épocas pasadas, por presentar algún uso. (Encarta® 2005).

Hoy por hoy en el mundo industrializado, donde hay una cierta desconfianza en los avances científico – tecnológicos y donde el valor de los productos de la industria farmacéutica se consideran “tóxicos” o repletos de “químicos”, el mercado de medicamentos basados en plantas medicinales a crecido notablemente (Estrella, E.1997).

No debemos olvidar que los remedios a base de plantas medicinales presentan una inmensa ventaja con respecto a los tratamientos químicos. En las plantas, los principios activos se hallan siempre biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias, que van a potenciarse entre si, de forma que en general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados. Sin embargo, a pesar de que han aumentado las investigaciones y estudios científicos de las plantas medicinales, todavía no se conocen muchos de los principios activos a los que deben las plantas sus extraordinarias cualidades. (Estrella, E. 1997).

Por otro lado, sabemos que desde siempre, los vegetales hacen posible la vida del organismo animal y condicionan su estado de salud, mediante la elaboración de dos clases de componentes químicos denominados: Principios Inmediatos y Principios Activos. Los primeros como los prótidos, glúcidos y lípidos son sustancias que no ejercen una actividad farmacológica directamente sobre las funciones fisiológicas del organismo animal, pero les son imprescindibles para mantener la vida. (Cornejo, V. 1996).

Los Principios Activos, son sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo. Su utilidad primordial a veces es específica, es servir como droga o medicamento que alivie la enfermedad o restablezca la salud perdida; es decir, que tiende a disminuir o neutralizar el desequilibrio orgánico que es la enfermedad.(Cornejo, V. 1986)

Las sustancias que las plantas elaboran y acumulan en sus tejidos son importantes desde el punto de vista farmacéutico, porque muchas poseen propiedades farmacológicas y pueden utilizarse en la preparación de los medicamentos. En algunos casos los medicamentos se preparan a partir de los extractos crudos de las plantas debido a que el principio activo no ha sido aislado, o bien, porque el extracto total tiene una mayor actividad en relación con otras sustancias que se encuentran asociadas al principio activo.

(URL:www.monografias.com/trabajos11/arom/arom.shtml).

Es por ello que nace el interés en esta especie vegetal que habita en nuestra región, y teniendo en cuenta que en nuestra Casa Superior de Estudio, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, se han venido realizando estudios de tipo fitoquímico y farmacológico fomentado por los profesionales farmacéuticos docentes de nuestra universidad, rescatando así los diversos aspectos de la Fitofarmacología y la Fitoterapia, buscando una investigación que procure mantener en uso y forma medicinal las plantas que la población viene usando y verificar si las formas medicamentosas (infusiones, tisanas, extractos) son las correctas, determinar sus principios activos y los efectos indeseables y en lo posible, luego, bajo un control de calidad y estandarización, alertar su uso. Así las plantas medicinales pueden sustituir a un buen número de medicamentos básicos, con beneficios económicos para la población.

En lo que refiere a las investigaciones realizadas sobre la actividad antiespasmódica que tienen determinadas especies, usando como método experimental el descrito por Magnus, (Guerra y Pérez, 1980).

Se ha venido desarrollando diversos trabajos entre los que mencionamos:

- Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* H.B.K. en intestino.

Se prepararon los extractos al 45 y 80 % y se evaluaron en yeyuno aislado de conejo a diversas concentraciones, frente a diferentes espasmógenos

(BaCl, acetilcolina e histamina). La papaverina se empleó como referencia. (Milián, A. 2001).

- Efecto de la tintura de *Melissa officinalis* L. “toronjil” sobre íleon aislado y en Modelo de Diarreas. Se llevó a cabo dos estudios: En el modelo *in vitro* en el íleon aislado de cobayo y el otro *in vivo*, en un modelo de diarrea en ratas, con el objetivo de corroborar la acción antiespasmódica de una tintura al 20% de *Melissa officinalis* L. encontrándose que las dosis de 0.084, 0.169 y 0.338 mg/ml de solución nutricia provocaron una disminución significativa ($p < 0.05$) de la contracción inducida con acetilcolina (10mg /mi). En ambos modelos el efecto era dependiente a la dosis. (Céspedes, A. 1996).
- Actividad Espasmolítica del Extracto de *Matricaria recutita* “Manzanilla” en órganos aislados, en donde se evalúa la actividad de un extracto fluido de *Matricaria recutita*, elaborado con un menstuo de etanol –agua al 30% en los modelos de yeyuno de conejo e íleon de curiel aislados y se empleo la papaverina como medicamento de regencia y utilizándose como espasmogeno a la acetilcolina, cloruro de bario e histamina. (Morón, F. 1996).
- Efecto sobre la Motilidad Intestinal y Toxicidad Aguda Oral del Extracto Fluido de *Ocimum gratissimum* L. “Orégano cimarrón”, se determinó la actividad antagonista sobre la motilidad intestinal y la toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Ocimum gratissimum* L. “orégano cimarrón” con menstuo al 70%, evaluándose el efecto sobre el íleon aislado de cobayo, utilizando como espasmogeno la acetilcolina y medicamento de referencia la papaverina. La toxicidad oral aguda se realizó en ratones mediante la determinación de la dosis letal media (DL 50). (Vega, R. 1999).

En nuestra Universidad se desarrolló el trabajo titulado:

- Efecto antiespasmódico de los extractos de *Melissa Officinalis* L. "Toronjil" en íleon aislado con el objetivo de determinar la acción espasmolítica de los extractos acuoso y alcohólico de *Melissa Officinalis* L. "Toronjil" a diferentes concentraciones (dosis): 5% y 15% .Se observó y registró la respuesta contráctil máxima del íleon en presencia de acetilcolina. Lo que sirvió de base para calcular los valores relativos en milímetros de respuesta contráctil del órgano a la acetilcolina, en presencia de los extractos acuoso y alcohólico al 5 y 15% y utilizando atropina como fármaco de referencia. Donde se llegó a determinar el efecto antiespasmódico (Espinoza, P. 2004).

2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS.

2.2.1. CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA DE LA *Mentha aff. arvensis* L.

Sistema de clasificación de Cronquist (1988):

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsysda
Sub clase	:	Asteridae
Orden	:	Lamiales
Familia	:	Lamiaceae
Genero	:	Mentha
Nombre científico	:	<i>Mentha aff. arvensis</i> L.
Nombre vulgar	:	"hierba buena".

(Anexo N° 20)

Fuente: Constancia emitida por el Museo de Historia Natural de la UNMSM.

2.2.2. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS DE LA FAMILIA LAMIACEAE.

La Familia Lamiaceae comprende plantas del más variado porte: hierbas (anuales o perennes), lianas, arbustos y pequeños árboles, generalmente con aceites esenciales y aromáticos.

Tallos y Ramas.- Cuadrangulares o tetrágonos, glabros o pubescentes, los pelos a menudo glandulosos.

Hojas.- Opuestas o verticiladas, simples o pinnati-partidas o raramente compuestas, pecioladas o sésiles, sin estipulas, mayormente pinnatinervias.

Inflorescencias.- en cimas formando verticilastros de pocas o muchas flores que se reúnen en pseudo espigas o capítulos.

Flores.- Solitarias a menudo sésiles en las axilas. Flores hermafroditas, zigomorfas o raramente actinomorfas, con o sin bracteolas, sésiles o pediceladas. Cáliz persistente, generalmente acrescente, imbricado, bilabiado o regular, a veces con 5, 10, 13 ó 15 costillas (nervios), tomentosos, pubescentes o glandulosos. Corola gamopétala, 5-lobulada, bilabiada, labio superior plano o cuculado, labio inferior trilobulado. Estambres 3 a 4 epipétalos, mayormente didínamos, libres(monadelfos en *Coleus*), anteras 2 a 1, loculares, con dehiscencia longitudinal; lóculos paralelos o divergentes, conectivos a veces muy desarrollados (salvia). Ovario supero, bicarpelar, 4-locular, placentación basal; óvulos 1 por lóculo, anátropos; estilo filiforme, ginobásico o terminal; estigma simple o bifido.

Fruto.- Tetraquenio, descompuesto en 4 núculas (muy raramente carnosos), incluso en el cáliz persistente y a veces acrescente.

Semillas.- Con endosperma escaso o nulo, (Mostacero, J. 1993).

La familia comprende unos 200 géneros con 3200 especies esparcidas en las zonas cálidas y templadas del globo, con el centro de la distribución en la

región mediterránea; del Perú se conocen 22 géneros entre espontáneos y cultivados. Entre sus géneros figuran el *Rosmarinus* (3 especies), *Salvia* (500-900 especies), *Satureja* (200 especies), *Stachys* (250-300 especies), *Melissa* (3-4 especies), *Mentha* (25-30 especies), *Mithostachys* (12 especies), *Ocimum* (50-60 especies), *Origanum* (25-30 especies), *Marrubium* (40 especies), *Marsypianthes* (3 especies), *Leonorus* (4 especies), etc, (Mostacero, J. 1993).

2.2.3. DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE *Mentha aff. arvensis* L.

La *Mentha aff. arvensis* L. es conocida también como menta japonesa. Es una planta herbácea de 50 a 90 cm de altura. Presenta un tallo cuadrangular, glabro, ramificado y con manchas violetas. Las hojas son opuestas con un pecíolo corto, acuminadas, con la base asimétrica y con los bordes del limbo acerrados. Las inflorescencias son falsas espigas con pequeñas bracteadas. Las flores son de un color violeta y tienen un olor característico fuerte a mentol. Es por ello que están reforzadas aquellas propiedades que son específicamente atribuidas al aceite y al mentol como las antisépticas, antiespasmódicas y fungicidas, (Leal, I. 1988).

En cuanto a su composición química la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" contiene un aceite esencial, utilizado en su casi totalidad para la extracción de mentol. Existen otros componentes identificados en la esencia como: acetato de mentilo, canfeno, limoneno, cariofileno, valerianato de mentilo, mentona, piperitona, furfurol, alcohol etílico, pineno, etc.

(URL: www.herbotecnia.com.ar/exotica.html).

2.2.4.- HÁBITAT:

La *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" es una planta nativa de la zona templada norte, naturalizada en Estados Unidos, introducida en Cuba y cultivada en muchos países a 1,500–2,700msnm. (Leal, I. 1988).

2.2.5.- AGRICULTURA:

La multiplicación puede ser realizada por estolones o plantines.

Por estolones: se separan de plantas madres de uno o dos años de edad, sanas y de inmediato se disponen una a continuación del otro en el fondo de surcos distanciados por 70 a 80 cm, a una profundidad no mayor de 8 cm; seguidamente se los cubre con tierra que se comprime ligeramente. El suelo debe contar con humedad suficiente.

Por plantines: en este caso deben prepararse plantines, para ello se eligen trozos de rizomas de plantas vigorosas que se plantan en invierno a 40 cm de distancia en todo sentido, con una profundidad de unos 4-8 cm. Al brotar, los rizomas originan numerosas plántulas que al alcanzar entre 10 y 15 cm de altura pueden transplantarse al lugar definitivo, a una distancia de 70 a 80 cm entre líneas y de 30 cm entre plantas de cada línea.

El transplante se realiza a principios de la primavera y puede efectuarse a mano, con plantador o con máquina plantadora. Debe tenerse la precaución de plantar en días nublados en un suelo con humedad suficiente.

(URL: www.herbotecnia.com.ar/exotica.html).

2.2.6. USOS MEDICINALES:

La infusión o decocción de la planta se usa por vía oral para tratar afecciones digestivas (cólico, indigestión, diarrea dispepsia, flatulencia, gastralgia, náusea, vómito), dismenorrea, dolores, reumatismo y neuralgia.

Tópicamente se usa en cataplasma y compresas para tratar abscesos, piodermis, reumatismo y tumores; en baños para desodorizar los pies, lavar heridas y raspones. La decocción y el jugo de hojas se aplican en cataplasma y baños para cáncer, endurecimientos, tumores y úlceras.

Se le atribuye propiedad analgésica, antiséptica, antiemética, calmante, carminativa, diaforética, digestiva, diurética, emenagoga, espasmolítica,

estimulante, estomáquica, expectorante, febrífuga, hipotensora, sudorífica y vermífuga, (Cáceres, A. 1996).

2.3. DROGA, PRINCIPIO ACTIVO Y DESCRIPCIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS.

La buena calidad de una droga es de importancia fundamental se debe tratar de alcanzar y mantener ese nivel de calidad, siendo los medios más importantes para cumplir con ese objetivo:

- La recolección de la droga de una fuente natural debe ser correcta, en el momento apropiado y de la manera adecuada.
- La preparación conveniente de la droga recolectada por limpieza, secado y pulverizado.
- La preservación de la droga pura, limpia y seca, (Tyler, V. 1979).

Droga.- Es una sustancia simple o compuesta, natural o sintética que puede emplearse en la elaboración de medicamentos, medios de diagnóstico, productos dietéticos, cosméticos u otra forma, que pueden o no modificar la salud de los seres vivos, (Cotillo, P. 1998).

Principio Activo.- Es la sustancia química mas importante desde el punto de vista farmacológico y la responsable de la acción farmacológica de la droga, por ejemplo la morfina y codeína en el opio, (Cotillo, P. 1998).

2.3.1. ACEITES ESENCIALES:

Son sustancias aromáticas, olorosas y volátiles. Se trata de mezclas de moléculas muy diversas, normalmente derivadas del terpeno, pero que también pueden contener alcoholes, fenoles, aldehídos, cetonas, ésteres e incluso nitrógeno y azufre. Se encuentran en cualquier parte del tejido vegetal normalmente se depositan en células especiales, vías o pelos oleaginosos.

Se encuentra en un número restringido de familias, pertenecientes a los órdenes de las Magnoliales, Laurales, Lamiales, Rutales y Asterales. (Lock, O. 1994).

2.3.2. SAPONINAS:

Son glicósidos de estructura triterpenoide o esteroide, dan soluciones jabonosas amargas, muy solubles en agua, disminuye la tensión superficial de esta, al agitar la solución acuosa forma espuma abundante y relativamente estable. Posee propiedades hemolíticas, (Lock, O. 1994).

2.3.3. CUMARINAS:

A las cumarinas se les atribuye diversas actividades farmacológicas tales como: acción anticoagulante y antibacterial, acción insecticida cabe destacar también aplicaciones de las cumarinas como saborizante y en la perfumería, (Limaylla, A. 1985).

2.3.4. TANINOS:

Los taninos son sustancias astringentes que abundan en los vegetales, disueltas en la savia celular. Se encuentran especialmente en la corteza de los árboles, en las hojas y en frutos inmaduros.

Su composición química es variable pero poseen una característica común, la de ser astringente y coagular los alcaloides, albuminas y metales pesados.

Externamente, los preparados a base de drogas ricas en taninos, como las decocciones, se emplean para detener pequeñas hemorragias locales; en inflamaciones de la cavidad bucal, catarros, bronquitis, quemaduras, etc.

Internamente son útiles contra la diarrea, enfriamiento intestinal, afecciones vesiculares, y como contraveneno en caso de intoxicación por alcaloide vegetal. (Evans, W. 1991).

2.3.5. ALCALOIDES:

Son sustancias orgánicas nitrogenadas, con propiedades básicas, de origen vegetal en su mayoría. Poseen una complejidad molecular que causa algunos potentes efectos fisiológicos en el cuerpo.

Parece que se forman a partir de aminoácidos; son de naturaleza básica y se unen a radicales ácidos para formar sales. Ej. Morfina, cocaína, atropina, etc. (Evans, W. 1991).

2.3.6. TRITERPENOS Y ESTEROIDES:

Son compuestos con un esqueleto carbonado basado en seis unidades de isopreno que derivan biogenéticamente del escualeno, hidrocarburo acíclico de 30 carbonos. Son de estructura relativamente compleja generalmente tetracíclico o pentacíclico con grupos hidroxilos, aldehidos o cetonas y ácido carboxílico. Muchos se encuentran como glicosidos formando las llamadas saponinas triterperoides.

Los esteroides biogenéticamente se relacionan con los triterperoides. Se clasifican como esteroides, saponinas esferoidales, glicosidos cardiacos, esteroalcaloides y las llamadas hormonas esferoidales, (Bruneton, J. 1991; Lock, O.1994 y Cáceres, A. 1996).

2.4. DOLOR.

Se define como una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada con una lesión tisular o potencial descrita en términos de lesión. También como un conjunto de repuestas para proteger el organismo ante un daño. Estas repuestas pueden describirse como términos que reflejan conceptos neurológicos, fisiológicos, del comportamiento y afectivos.

El dolor es un mecanismo protector del cuerpo. Se produce siempre que un tejido es lesionado y obliga al individuo a reaccionar en forma refleja para suprimir el estímulo doloroso, (Cotillo, P. 1998).

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

2.4.1. FISIOPATOLOGÍA:

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

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

(URL:www.abcmedicus.com/articulo/medicos/id/68/pagina/1/dolor_abdominal.html).

2.4.2. TIPOS DE DOLOR:

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

- **Dolor visceral:** El dolor procedente de las distintas vísceras abdominales o torácicas es uno de los pocos criterios que se pueden utilizar para diagnosticar la inflamación, las enfermedades u otras dolencias viscerales. En general, la víscera no posee receptores sensoriales para ninguna otra clase de sensaciones más que para el dolor.

Los estímulos dolorosos se transmiten por el sistema simpático hasta el ganglio raquídeo y de aquí al asta posterior medular por donde llegarán hasta el tálamo. Es un dolor de carácter sordo y de localización poco precisa, se puede acompañar de sintomatología vagal.

Cuando el dolor procede de la estructuras viscerales, se percibe como mal localizado descrito a menudo como profundo y opresivo, cuando es agudo es acompañado de náuseas, vómitos, sudoración, taquicardia y aumento de la presión arterial muchas veces, se irradia a otras áreas o es referido a ella,

- **Dolor parietal (somático):** Es la sensación dolorosa generada a través de la estimulación del peritoneo parietal por agentes nocivos. Este dolor se transmite por los nervios aferentes cerebroespinales que inervan el peritoneo y se localiza directamente sobre el área inflamada. Es un dolor agudo, intenso y bien localizado.

- **Dolor referido:** Se percibe en regiones anatómicas diferentes a la zona de estimulación y se produce por que esta zona de estimulación comparte segmento neuronal sensorial con el área dolorosa.

(URL:wikimania.wikimedia.org/kiwi/portada).

2.4.3. CAUSAS DESENCADENANTES DEL DOLOR ABDOMINAL:

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

- **Inflamatorias:** La liberación de sustancias ~~implicadas~~ en el proceso inflamatorio tanto físico como infeccioso es un poderoso estímulo doloroso, ocurre a nivel del Peritoneo, Viscera huecas, Visceras sólidas, Mesenterio, Órganos pélvicos.
- **Mecánicos:** Son la tracción, la distensión y estiramiento sobre las capas musculares de las vísceras huecas, el peritoneo y la cápsula de las vísceras macizas; es importante que se produzca de modo brusco pues una instauración progresiva puede no ocasionar dolor, produciéndose una obstrucción intestinal y biliar a nivel de las vísceras.
- **Isquémicos:** El cese de riego sanguíneo a una víscera, ya sea primario por embolia o trombosis o secundario por torsión de su pedículo vascular, provoca dolor debido a la irritación que provoca la concentración de determinados metabolitos tisulares.

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

2.4.4. CARACTERÍSTICAS DEL DOLOR ABDOMINAL.

A la hora de enfrentarnos a un paciente con un cuadro de dolor abdominal es necesario definir exactamente sus características, de esta manera podremos establecer un diagnóstico sindrómico que nos orientará para conducir su estudio y actitud terapéutica. Ante un dolor abdominal debemos considerar la edad, localización del dolor y la intensidad del dolor.

Características del dolor, Podemos clasificarlo en tres tipos fundamentales:

- **Dolor constante:** Es continuo en el tiempo y permanece con la misma intensidad, puede ser característico de patología inflamatoria.
- **Dolor intermitente:** El dolor presenta intervalos no dolorosos.
- **Dolor cólico:** Si existen variaciones en intensidad y cierto ritmo temporal; es típico de procesos obstructivos.

Sin embargo no siempre podemos encasillar un dolor abdominal en alguno de estos tres tipos. (URL:wikimania.wikimedia.org/kiwi/portada).

2.4.5. SINTOMATOLOGÍA ACOMPAÑANTE:

- **Anorexia:** La asociación de dolor abdominal y anorexia es variable pero su presencia es un síntoma precoz de un proceso inflamatorio agudo especialmente en apendicitis.
- **Nauseas y vómitos:** La distensión de una víscera hueca frecuentemente se asocia con episodios de vómito sin un estado nauseoso previo. El dolor que no cede luego del vómito, es característico de una obstrucción completa del intestino delgado, del tracto biliar o de las vías urinarias.
- **Alteraciones del hábito intestinal:** La mayoría de los casos de dolor abdominal se acompañan de alteraciones en la función intestinal. La ausencia de deposición o flatos por más de 24 horas puede estar relacionada bien sea con un proceso obstructivo del intestino o con un íleo adinámico secundario a un proceso inflamatorio. La diarrea se asocia con un cuadro de gastroenteritis pero también puede ocurrir en presencia de un absceso intrabdominal o de una peritonitis. La diarrea sanguinolenta acompaña a la enfermedad inflamatoria del colon y a la isquemia del colon.
- **Sintomatología urinaria y trastornos ginecológicos:** Muchas veces trastornos de esta esfera provocan cuadros de dolor abdominal es importante la historia menstrual, posibilidad de embarazo, antecedentes de infecciones urinarias, prostatismo, etc.

- **Otros síntomas:** Ictericia, coluria , fiebre, etc. también nos orientan para el diagnóstico. (URL:www.tuotromedico.com/temas/dolor_abdominal.htm)

2.5. SISTEMA NERVIOSO:

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

El sistema nervioso periférico se divide en somático, que efectúa el control voluntario sobre los músculos esqueléticos, y autónomo, que es involuntario y controla el músculo liso, el músculo cardíaco y las glándulas. El sistema nervioso autónomo se divide en dos: simpático y parasimpático. La mayoría de los músculos y las glándulas poseen una doble innervación; en tales casos las divisiones puede ejercer efectos opuestos. (Litter, M.1991).

2.5.1. FÁRMACOS COLINÉRGICOS O PARASIMPATICOMIMÉTICOS:

La acetilcolina (Ach) se biosintetiza en el citoplasma de las terminaciones axónicas, a partir de la colina y de la acetilcoenzima A (acetil-CoA) y la intervención de la enzima colinoacetiltransferasa (CAT), dejando libre a la coenzima y dando como resultado la acetilcolina, se almacenan en las vesículas, liberándose por estimulación neuronal, se destruye por la acetilcolinesterasa hidrolizándola a ácido acético y colina, (Flores, J. 1992).

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

En el sistema cardiovascular la acetilcolina posee una acción depresora que disminuye la frecuencia y amplitud de las contracciones hasta llegar al paro cardíaco. En el tracto gastrointestinal aumentan el tono, las contracciones y las

secreciones del estomago, activan en mayor grado las glándulas salivales y gástricas, aumentan el peristaltismo y la relajación de esfínteres produciendo cólicos, una brusca aceleración del transito intestinal. En el tracto urinario produce relajación del esfínter de la vejiga, favoreciendo la micción. En el tracto respiratorio contraen los bronquiolos y pueden provocar un acceso en pacientes asmáticos; la secreción bronquial también es aumentada. En el ojo produce miosis y en las glándulas aumenta las secreciones. (Litter, M. 1991).

La musculatura lisa posee receptores, que frente a la acetilcolina permiten que en las membranas permeables, se abran los canales iónicos, el potencial de membrana cambia, hay despolarización y se manifiesta la acción. (Goodman y Gilman, 1996).

2.5.2. FARMACOS BLOQUEANTES COLINÉRGICOS:

Los agentes antimuscarínicos como la atropina antagonizan la acción muscarínica de la acetilcolina. Actúan en los receptores de órganos inervados por nervios colinérgicos posganglionares del sistema autónomo pero carecen de la actividad intrínseca para estimular o inhibir el tejido. La atropina aparece en plantas del orden de las solanáceas (*Atropa belladonna*). (Litter, M. 1991).

Su administración se caracteriza por producir dilatación de la pupila en el ojo, Disminuyen la secreción pulmonar y producen bronco dilatación. Altas dosis afectan la frecuencia cardiaca, pequeñas dosis la disminuyen. Disminuyen la secreción y la motilidad gastrointestinal, se les denomina antiespasmódicos. Reducen la actividad del tracto urinario y las glándulas salivales. El antagonismo que manifiesta la atropina es competitivo "por superposición" en los receptores muscarínicos del músculo liso, miocárdico, glándulas exocrinas y sistema nervioso central. (Goodman y Gilman, 1996; Bevan, J. 1982).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- UBICACIÓN:

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga, durante los meses de Agosto a Diciembre del 2004.

Las muestras de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" fueron recolectadas durante los meses de Agosto y Setiembre del 2004, en el centro poblado de San José de Viñaca, Distrito de San José de Ticllas, Provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho.

Altitud: 2500 msnm.

Distancia, Ayacucho, San José de Viñaca: 23.5Km.

Longitud: 13°05'14".

Latitud: 741637.

Coordenandas: UTM 578,714– 8553,333.

3.2.- MATERIALES:

3.2.1. POBLACIÓN:

Todas las plantas de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" de los sembríos del centro poblado de San José de Viñaca, Provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho.

3.2.2. MUESTRA:

500g de hojas y tallos, fueron escogidas aleatoriamente a partir de los cuales se realizaron las diferentes infusiones de acuerdo a recomendaciones establecidas en la bibliografía.

3.2.3. MATERIAL BIOLÓGICO:

21 cobayos de ambos sexos con un peso entre 300 y 500 g. en ayunas adquiridos en el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA).

3.2.3.1. DESECACIÓN:

Las hojas y tallos fueron secados durante cuatro semanas a temperatura ambiente, bajo techo y previamente acondicionado, removiendo el vegetal para evitar la descomposición.

3.2.3.2. MOLIENDA:

Una vez seleccionado las hojas de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" se sometió a molienda hasta obtener un polvo fino.

3.3.-TAMIZAJE FITOQUÍMICO:

Se pesó 10 g de de la planta seca y pulverizada y se introdujo en un cartucho de papel de filtro y se sometió a tres extracciones sucesivas utilizando bencina, etanol y agua.

EXTRACTO BENCÍNICO:

10 g de planta seca y molida fue sometida a 250 mL de bencina por 18 horas, obteniéndose un extracto bruto (1.2866 g).

EXTRACTO ALCOHÓLICO:

El residuo del cartucho se secó en la estufa a una temperatura de 30 – 40° C, luego se sometió a una segunda extracción con 250 mL de alcohol etílico de 96° por un periodo de 15 horas, obteniéndose un extracto bruto (1.4863 g).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- UBICACIÓN:

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga, durante los meses de Agosto a Diciembre del 2004.

Las muestras de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" fueron recolectadas durante los meses de Agosto y Setiembre del 2004, en el centro poblado de San José de Viñaca, Distrito de San José de Ticllas, Provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho.

Altitud: 2500 msnm.

Distancia, Ayacucho, San José de Viñaca: 23.5Km.

Longitud: 13°05'14".

Latitud: 741637.

Coordenandas: UTM 578,714 – 8553,333.

3.2.- MATERIALES:

3.2.1. POBLACIÓN:

Todas las plantas de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" de los sembríos del centro poblado de San José de Viñaca, Provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho.

3.2.2. MUESTRA:

500g de hojas y tallos, fueron escogidas aleatoriamente a partir de los cuales se realizaron las diferentes infusiones de acuerdo a recomendaciones establecidas en la bibliografía.

3.2.3. MATERIAL BIOLÓGICO:

21 cobayos de ambos sexos con un peso entre 300 y 500 g. en ayunas adquiridos en el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA).

3.2.3.1. DESECACIÓN:

Las hojas y tallos fueron secados durante cuatro semanas a temperatura ambiente, bajo techo y previamente acondicionado, removiendo el vegetal para evitar la descomposición.

3.2.3.2. MOLIENDA:

Una vez seleccionado las hojas de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" se sometió a molienda hasta obtener un polvo fino.

3.3.-TAMIZAJE FITOQUÍMICO:

Se pesó 10 g de la planta seca y pulverizada y se introdujo en un cartucho de papel de filtro y se sometió a tres extracciones sucesivas utilizando bencina, etanol y agua.

EXTRACTO BENCÍNICO:

10 g de planta seca y molida fue sometida a 250 mL de bencina por 18 horas, obteniéndose un extracto bruto (1.2866 g).

EXTRACTO ALCOHÓLICO:

El residuo del cartucho se secó en la estufa a una temperatura de 30 – 40° C, luego se sometió a una segunda extracción con 250 mL de alcohol etílico de 96° por un periodo de 15 horas, obteniéndose un extracto bruto (1.4863 g).

EXTRACTO ACUOSO:

El residuo del cartucho se secó en la estufa a una temperatura de 30 – 40° C, luego se sometió a una tercera extracción con 250 mL de agua destilada por un período de 13 horas, luego el solvente fue recuperado utilizando el rotavapor, obteniéndose un extracto bruto (2.9408 g).

El tamizaje fitoquímico se realizó con la metodología propuesta por Miranda, M. (1996), basadas en pruebas de coloración y precipitación para la identificación de los principales metabolitos secundarios que contiene en los extractos bencínicos, alcohólicos y acuoso del *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena".

3.3.1. ANÁLISIS FITOQUÍMICO:

- **Ensayo de Dragendorff.** Esta prueba sirve para reconocer la presencia de alcaloides, en la realización de este ensayo se evaporó en baño de agua el solvente orgánico, luego el residuo se disolvió en 1mL de ácido clorhídrico al 1% en agua, si el extracto es acuoso agregar una gota de ácido clorhídrico concentrado. Agregar 3 gotas de reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado(+++).
- **Ensayo de Wagner.** Al igual que en el caso anterior de la solución ácida. Luego se añadió 2 a 3 gotas del reactivo, se clasifican los resultados igual que en el caso anterior.
- **Ensayo de Mayer.** Se procedió de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida, luego se añadió una pizca de de Cloruro de sodio en polvo, se agitó y filtró. Se añadió luego 2 a 3 gotas del reactivo de Mayer, si se observa opalescencia(+), turbidez definida(++), precipitado coposo(+++).
- **Ensayo de Baljet.** Nos permite reconocer compuestos con agrupamiento lactónico, en particular las cumarinas, para ello la muestra se evaporó en baño de agua y se disolvió en la menor cantidad de alcohol.

Se adicionó 1mL de reactivo y se considera positivo la aparición de de coloración o precipitado rojo.

- **Ensayo de Lieberman Burchard.** Este ensayo nos permitió reconocer la presencia de triterpenos y esteroides por poseer ambos un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5 – 6.

Se adicionó 1 mL de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejó resbalar 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado en zona. Un ensayo positivo se tiene por cambio rápido de coloración.

Rosado – azul muy rápido.

Verde intenso – visible aunque rápido.

Verde oscuro – negro, final de la reacción.

- **Ensayo de Sudán.** Este ensayo nos permite reconocer compuestos grasos, a una alícuota de la extracción se le añadió 1mL de una solución diluida en agua del colorante de Sudán III. Se calentó en baño maría hasta la evaporación del solvente. Es positivo si aparece una película coloreada de rojo.

- **Ensayo de Bortrager.** Nos permite reconocer la presencia de quinonas, para ello se evaporó el solvente y el residuo se disolvió con 1 mL de cloroformo. Se adicionó 1mL de hidróxido de sodio, de potasio o amonio al 5% en agua. Se agitó mezclando las fases y se dejó en reposo hasta su separación, si la fase alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo.

- **Ensayo de Catequinas.-** Se tomó de la solución alcohólica una gota con un capilar y se aplicó la solución en un papel de filtro, sobre la mancha se aplicó una solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz ultra violeta indica un ensayo positivo.

- **Ensayo de Ninhidrina.** Permite reconocer aminoácidos libres o de amina en general. Se tomó una alícuota del extracto, se mezcló con 2 mL de solución al 2% de Ninhidrina en agua. La mezcla se calentó 5 a 10 minutos en baño maría. Es positivo si desarrolla un color azul violáceo.

- **Ensayo de Shinoda.** Nos permite reconocer la presencia de flavonoides. La alícuota obtenida del extracto alcohólico se diluyó con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico.

Después de la reacción se esperó 5 minutos, se añadió 1 mL de alcohol amílico, se mezclaron las fases y se dejó reposar hasta que se separen. Se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo.

- **Ensayo de Kedde.** Para reconocer glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto de etanol se mezcló con 1 mL de reactivo y se dejó reposar durante 5 a 10 minutos. Un ensayo positivo es cuando se desarrolla una coloración violácea persistente durante 1 – 2 horas.

- **Ensayo de Resinas.** Para detectar este tipo de compuestos, se adicionó 2 mL de la solución alcohólica a 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado indica un ensayo positivo.

- **Ensayo de Fehling.** Permite reconocer la presencia de azúcares reductores. Para ello la alícuota debe estar en agua, se adicionó 2 mL del reactivo y se calentó en baño de agua de 5 a 10 minutos. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.

- **Ensayo de la espuma.** Este ensayo nos permite reconocer la presencia de saponinas tanto del tipo esteroideal triterpenica, de modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluyó con 5 veces su volumen en agua y se agitó la mezcla fuertemente durante 5 a 10 minutos.

Es positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura, persistente por más de 2 minutos.

3.4. ESTUDIO FARMACOLÓGICO:

3.4.1. MÉTODO DE MAGNUS:

El método *in vitro* de órganos aislados se realizó en la búsqueda de receptores específicos que midan la acción y potencia relativa luego de la administración del fármaco en el animal comparado con otros agonistas o antagonistas. Se comenzó a utilizar la técnica del órgano aislado como pieza ineludible en el estudio del mecanismo de acción de los fármacos.

Ventajas con respecto a los preparados *in vivo*:

- Posibilita la cuantificación de la respuesta o efecto
- Conocimiento exacto de la concentración del fármaco
- Eliminación de respuestas de carácter reflejo (neuronal) o retroalimentación humoral.

Desventajas:

También posee sus limitaciones ya que la técnica exige una gran minuciosidad y un correcto montaje del preparado. A pesar de intentar mantener las condiciones fisiológicas, debemos tener en cuenta que el órgano va a estar en un medio artificial.

3.4.2. Baño de órganos aislados

Se denomina así al conjunto de materiales que se utilizó para realizar experiencias en órganos aislados. En realidad, son varios elementos que constituyen un sistema que intenta reproducir las condiciones físico-químicas, fisiológicas necesarias para que el órgano responda.

a) Vaso de precipitado: Es un vaso en el que se dispuso la pieza de tejido mediante un sistema de sujeción (varilla). Este vaso se llenó de solución nutritiva y se situó inmersa en el “baño” propiamente dicho.

Recibe una entrada para aireación y una conducción regulable para el medio de incubación; para cambiar esta solución se recurre a una jeringa de 20 mL. En cualquier caso se debe comprobar que el llenado del vaso se efectúe siempre al mismo nivel.

Los fármacos se administraron con una pipeta en el interior del vaso. El volumen de solución de fármaco añadido no debe ser superior al 10% del volumen total de la copa.

b) Aireación: Se realizó a través de conducciones adecuadas, regulables, a partir de aireadores (aire) de gas carbógeno (95% O₂ y 5% CO₂). Cuando el medio como es este caso contiene NaHCO₃ como tampón, conviene utilizar carbógeno, ya que el oxígeno puro haría perder CO₂ y el pH se elevaría hasta valores mayores de 8, con el consiguiente deterioro de la actividad del órgano.

c) Temperatura: El control de la temperatura se realizó mediante un “baño maría” con un termostato, en el cual se encuentra introducido el vaso con los tejidos. La solución nutritiva se hizo circular a través de un serpentín sumergido, antes de alcanzar la preparación. Se debe evitar administrar las disoluciones de fármaco aún frías.

d) Solución Salina Fisiológica: Se entiende por solución salina fisiológica (SSF), aquella diseñada para mantener la viabilidad del órgano aislado. Diferentes preparados exigen distintas SSF de acuerdo a las características de cada uno. El principio que determina la composición de la SSF es la aproximación artificial a las condiciones fisiológicas del entorno en que se encuentra dicho órgano o tejido cuando forma parte del organismo.

e) Sistema de registro: Está dotado de amplificador y registrador. Los cambios de tensión, es decir la contracción o relajación del músculo liso del preparado utilizado, deben ser adecuadamente amplificados a fin de obtener un registro

que se pueda medir. Se utilizó un registro poligráfico, es decir, la señal mueve unas agujas las cuales dibujan en un papel la contracción del órgano.

3.4.3. PREPARACIÓN DEL MÉTODO DE MAGNUS

En primer lugar se mantuvieron a los animales 24h en ayunas luego se procedió al sacrificio, en este caso cobayos de ambos sexos de peso comprendido entre 300 y 500 g. Posteriormente procedimos a identificar y extraer el órgano según el método general de Magnus.

Los cobayos fueron sacrificados por dislocación cervical y por laparotomía, se obtuvieron segmentos de íleon de mas o menos 10 cm de longitud los cuales fueron sumergidos en un baño de órganos aislados que contenían solución nutritiva Tyrode a 37°C, los cuales fueron cortados en segmentos de 2cm de longitud y atados luego con seda quirúrgica ambos extremos sin ocluir la luz intestinal un lado al extremo del soporte y el otro al transductor.

Se colocó en baño para órganos aislados que contenía 40 mL de solución de Tyrode burbujeada con una mezcla de oxígeno 95% y 5% de dióxido de carbono a 37°C, colocando uno de los extremos del hilo de seda a una aguja inscriptora la cual estuvo conectado al tambor giratorio del quimógrafo y el otro a un extremo del soporte. Se utilizó 2 a 3 segmentos de intestino por cada animal.

La secuencia conveniente que se usó fue la siguiente:

- 0 min. Encender el quimógrafo
- 1 min. Agregar la droga
- 1 ½ min. Detener el quimógrafo y lavar la preparación
- 3 min. Encender el quimógrafo.

Se determinó una curva dosis respuesta de la acetilcolina y atropina a diferentes concentraciones molares para luego trabajar con concentraciones establecidas. La variable analizada fue el tamaño de la respuesta contráctil en

mm de la infusión al 10, 15, 20, 25 y 30% frente a la acetilcolina 5×10^{-4} M. La respuesta contráctil de la infusión de "hierba buena" fue comparada con la respuesta contráctil de la atropina 5×10^{-5} M.

3.4.4. ILEON DE COBAYO.

El cobayo fue sacrificado por dislocación cervical seguidamente se procedió a abrir el abdomen y se extrajo una porción de íleon, colocándolo en un recipiente que contenía solución de Tyrode; se ató un hilo a la parte de arriba, es decir, en la parte final del duodeno y el yeyuno, para que sirva de marca. Tomamos con mucho cuidado evitando dañar el músculo del intestino. Se retiró el mesenterio y las porciones de íleon son cortadas. El tejido dió respuestas a la droga aun a las 2 o 3 horas después de que el animal ha sido sacrificado. Si el animal ha sido alimentado recientemente, el intestino es lavado bien para su uso directo. De otro modo ya no es necesario lavar el contenido y esto se hace colocando un extremo del intestino en un extremo de la pipeta que contenía solución de Tyrode y aplicando poca presión (1 o 2 cm) e inclinando la pipeta. Una presión excesiva debe evitarse porque dañaría el tejido irreparablemente; esto es importante solo para forzar lavar el tejido cuando este ha tenido un tiempo de relajación extrema en la solución de Tyrode a 37°C.

3.4.5. PREPARACIÓN DE LA INFUSIÓN DE LA PLANTA.

La *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" fue recolectada en horas de la mañana las cuales fueron tomadas al azar, se dejó secar a temperatura ambiente y aproximadamente 500 g de hojas se pulverizaron y a partir de los cuales se realizaron las diferentes infusiones.

Se colocaron 10, 15, 20, 25 y 30 g de la muestra pulverizada en vasos de precipitado y se agregó hasta 100 mL con agua destilada hirviendo, se tapó y se dejó reposar por 5 a 10 minutos. Luego se pasó por un filtro y se procedió a trabajar.

3.4.6. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Se utilizaron cobayos de ambos sexos con un peso comprendido entre 300 y 500 g que fueron escogidos al azar, los cuales fueron mantenidos en ayunas 24 horas antes del experimento. Se formaron siete grupos de experimentación con tres cobayos cada uno.

Primer Grupo: Sirvió para realizar la curva de dosis – respuesta de la acetilcolina y así determinar la dosis óptima ($5 \times 10^{-4} \text{M}$), dosis en la que presenta una mejor respuesta contráctil con respecto al estado basal.

Segundo Grupo: Sirvió para determinar la dosis óptima de la atropina ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) dosis en la que se observa una mejor inhibición de la respuesta contráctil con respecto a la dosis de acetilcolina ($5 \times 10^{-4} \text{M}$), sirvió como referencia para realizar las diferentes infusiones de la *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”.

Tercer Grupo: Se administró la infusión al 10% de la *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”. Frente a la acetilcolina a la dosis de $5 \times 10^{-4} \text{M}$.

Cuarto Grupo: Se administró la infusión al 15% de la *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”. Frente a la acetilcolina a la dosis de $5 \times 10^{-4} \text{M}$.

Quinto Grupo: Se administró la infusión al 20% de la *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”. Frente a la acetilcolina a la dosis de $5 \times 10^{-4} \text{M}$.

Sexto Grupo: Se administró la infusión al 25% de la *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”. Frente a la acetilcolina a la dosis de $5 \times 10^{-4} \text{M}$.

Séptimo Grupo: Se administró la infusión al 30% de la *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”. Frente a la acetilcolina a la dosis de $5 \times 10^{-4} \text{M}$.

3.4.7. CONSTRUCCIÓN DE LA CURVA DOSIS - RESPUESTA

- **Para la Acetilcolina.-** Se adicionó al vaso del baño, 0.25 ml dosis de una solución de acetilcolina a concentraciones que van desde $5 \times 10^{-3} \text{M}$, $5 \times 10^{-4} \text{M}$, $5 \times 10^{-5} \text{M}$, $4.13 \times 10^{-6} \text{M}$ y $1.38 \times 10^{-6} \text{M}$, las cuales originaron contracciones rítmicas. Luego se procedió a lavar el mismo con solución nutritiva a 37°C .

- Para la Atropina.- Una vez relajado el íleon aislado se adicionó al baño 0.25 ml de una solución de atropina a concentraciones de $5 \times 10^{-4} \text{M}$, $5 \times 10^{-5} \text{M}$, $5 \times 10^{-6} \text{M}$. Luego se procedió a realizar otra curva-dosis respuesta del agonista acetilcolina repitiendo el protocolo anterior.

La representación gráfica del experimento resultó una curva. En el eje de ordenadas se representó en mm el efecto y en el de abscisas la concentración molar del agonista (acetilcolina). Una vez representada la curva, se calculó la dosis efectiva.

3.5. TÉCNICAS DE MEDICIÓN:

En cada registro se determinó las variables de amplitud de cada contracción en milímetros de desplazamiento, desde la línea de base hasta la máxima alcanzada, además se consideró la mayor contracción del estado basal como el 100 % y se calculó los valores porcentuales de las restantes.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para el análisis estadístico, todos los datos fueron sometidos al Análisis de Varianza y la prueba de Tukey mediante el software estadístico SPSS 7.5 para windows. Representado en cuadros y gráficos. Se realizó con un nivel de confianza de 95% para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos.

IV. RESULTADOS

CUADRO N° 01: Metabolitos secundarios presentes en el extracto bencínico de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”. Ayacucho, 2004.

METABOLITOS SECUNDARIOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
ALCALOIDES - Ensayo de Dragendorff - Ensayo de Hager - Ensayo de Wagner - Ensayo de Mayer	+ + + +	Formación de una opalescencia
LACTONAS Y CUMARINAS - Ensayo de Baljet	++	Formación de una coloración rojiza
TRITERPENOS Y ESTEROIDES - Ensayo de Lieberman y Burchard	+	Formación de dos fases: una superior de color verde y otra inferior de color rosado que fue oscureciendo.
ACEITES Y GRASAS - Ensayo de Sudan	+++	Hay formación de una película roja al borde del tubo

Resultados:

Escaso = (+)

Bueno = (++)

Excelente = (+++)

CUADRO N° 02: Metabolitos secundarios presentes en el extracto alcohólico de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena". Ayacucho, 2004.

METABOLITOS SECUNDARIOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
AZÚCARES REDUCTORES - Ensayo de Fehling - Ensayo de Benedict	+++ +++	Formación de precipitado rojo ladrillo
ALCALOIDES - Ensayo de Dragendorff - Ensayo de Hager - Ensayo de Wagner - Ensayo de Mayer	+ + ++ +	Formación de una opalescencia
TRITERPENOS Y ESTEROIDES - Ensayo de Lieberman y Burchard	+++	Formación de una coloración verde oscuro
LACTONAS Y CUMARINAS - Ensayo de Baljet	+++	Formación de una coloración roja
SAPONINAS - Ensayo de Espuma	++	Formación de espuma
CATEQUINAS	++	Formación de coloración verde carmelita a la luz UV
RESINAS	+++	Formación de precipitado blanco
QUINONAS - Ensayo de Borntrager	+++	La fase amilica es de color rojiza
FENOLES Y TANINOS - Ensayo de FeCl ₃	++	Formación de una coloración oscura
ANTOCIANINAS - Ensayo de Kedde	++	Fase amilica es de color anaranjado
FLAVONOIDES - Ensayo de Shinoda	-	No hay coloración en la fase amilica
AMINOACIDOS - Ensayo de Ninhidrina	-	No hay coloración azul violácea
GRASAS Y ACEITES - Ensayo de Sudan	++	Formación de una película roja al borde del tubo

Resultados: Ausente=(-) Escaso=(+) Bueno=(++) Excelente=(+++)

CUADRO N° 03: Metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”. Ayacucho, 2004.

METABOLITOS SECUNDARIOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
ALCALOIDES		
- Ensayo de Dragendorff	+	Formación de una opalescencia
- Ensayo de Hager	+	
- Ensayo de Wagner	++	
- Ensayo de Mayer	+	
AZUCARES REDUCTORES		
- Ensayo de Benedict	++	Formación de una ligera opalescencia
- Ensayo de Fehling	+++	
FENOLES Y TANINOS		
- Ensayo de Cloruro Ferrico	+++	Formación de una coloración negrusca
FLAVONOIDES		
- Ensayo de Shinoda	+	Ligera coloración amarilla en la fase amíllica
SAPONINAS		
- Ensayo de Espuma	+++	Formación de espuma
MUCÍLAGOS	++	Formación de un gel ligeramente blanco
PRINCIPIOS AMARGOS	++	Es amargo al paladar
GRASAS Y ACEITES	++	Formación de una coloración roja al borde del tubo

Resultados:

Escaso = (+) Bueno = (++) Excelente = (+++)

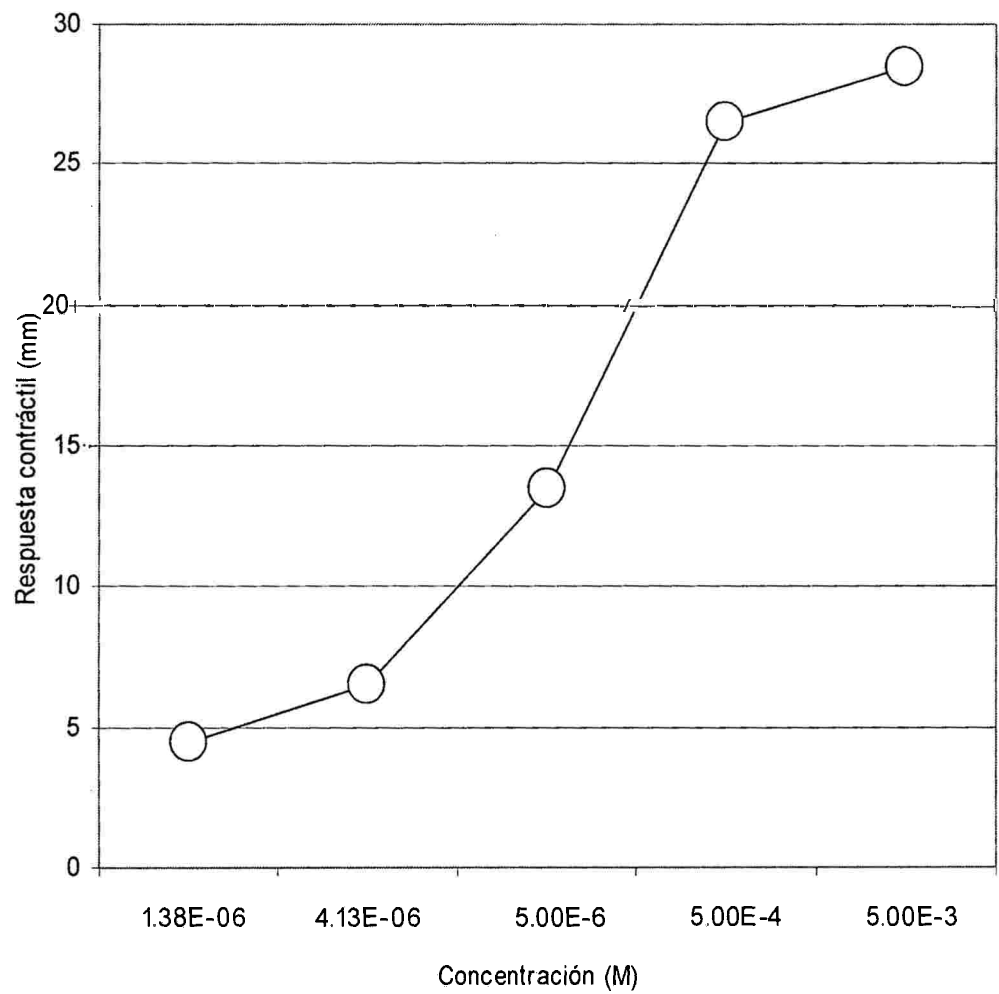


GRÁFICO N° 01: Curva dosis – respuesta de la acetilcolina a diferentes concentraciones molares evaluadas en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

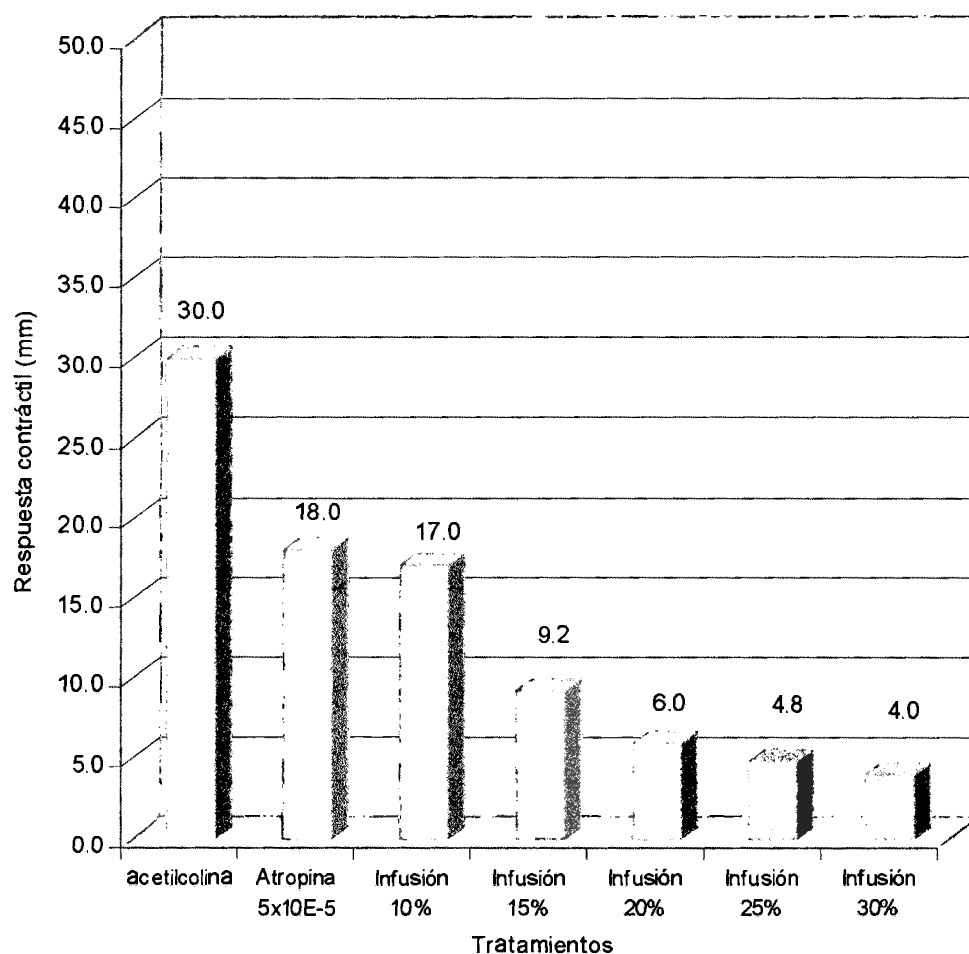


GRÁFICO N° 02: Respuesta contráctil de las infusiones de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” y atropina frente a la acetilcolina, en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

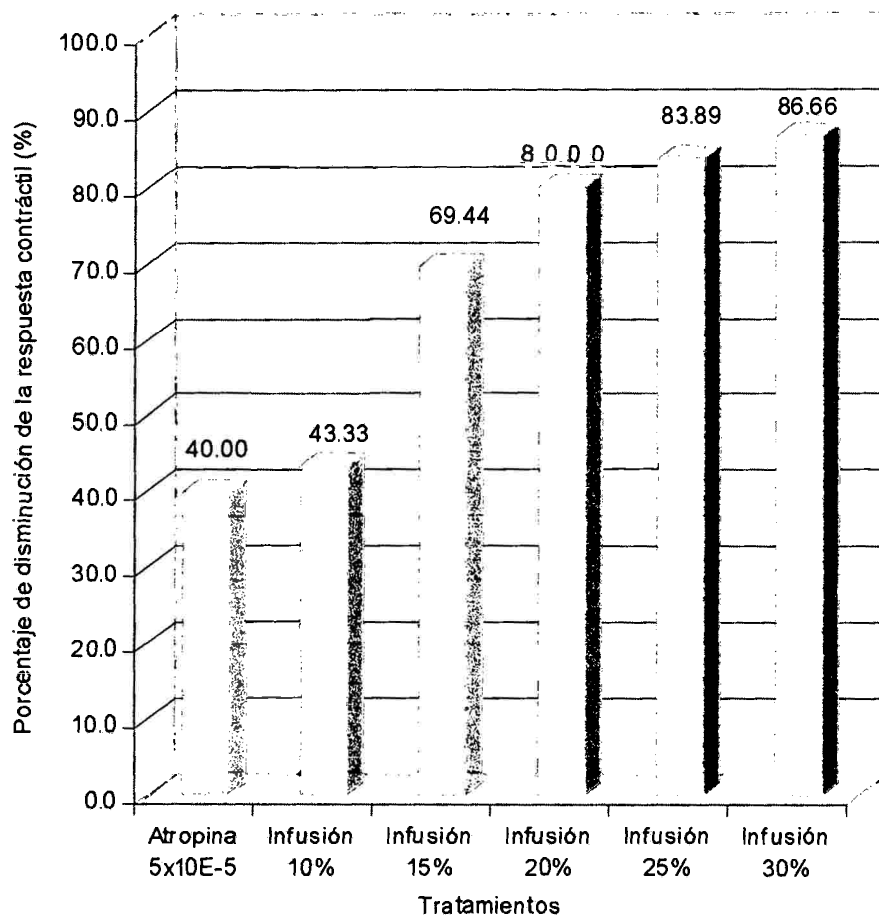


GRÁFICO N° 03: Efecto antiespasmódico de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” frente a la atropina, expresado en porcentaje de disminución de la respuesta contráctil inducida por la acetilcolina, en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

VI. DISCUSIÓN

La infusión de la *Mentha aff. arvensis L.* es utilizada por la población para tratar afecciones digestivas (cólico, indigestión, diarrea, flatulencia, náuseas, vómitos, etc.) lo que motivó a estudiar el efecto antiespasmódico de la infusión de esta especie sobre la motilidad espontánea y contracciones inducidas por la acetilcolina en órganos aislados.

Se realizó la extracción de la muestra utilizando solventes como la bencina, etanol y el agua, teniendo en cuenta la polaridad creciente de estos solventes.

En la extracción bencínica (cuadro N° 01), pudimos ver la presencia de alcaloides que es muy baja ya que se observó una ligera turbidez en las pruebas que se realizaron, también se evidencia la presencia de lactonas y cumarinas, observándose una coloración rojiza, triterpenos y esteroides, observando la formación de dos fases, grasas y aceites dió positivo a la prueba de Sudan III.

En el extracto alcohólico (cuadro N° 02), se observó la presencia de azúcares reductores ya que la prueba de Fehling y Benedict dió positivo, se evidenció también la presencia triterpenos y esteroides, lactonas y cumarinas, se observaron también alcaloides en mayor cantidad que en el extracto bencénico,

resinas y quinonas, saponinas, catequinas, antocianinas, fenoles y taninos, grasas y aceites.

En el extracto acuoso (cuadro N° 03), se observó la presencia de azúcares reductores dando positivo a la reacción de Benedict y Fehling, taninos observándose la formación de una coloración negrusca frente al Cloruro férrico, saponinas, alcaloides, flavonoides, mucílagos, grasas y aceites.

Los metabolitos secundarios en la menta japonesa que crece en nuestra región coinciden con los reportados por otros autores observándose reacciones positivas para: fenoles, taninos, triterpenos y esteroides, flavonoides, quinonas, azúcares reductores, alcaloides, principios amargos y aceites esenciales (Leal, I. 1988).

Teóricamente sabemos que el aceite esencial de la *Mentha aff. arvensis* L. esta compuesto por mentol en un 60%, otros componentes identificados en la esencia son: acetato de mentilo, canfeno, limoneno, cariofileno, valerianato de mentilo, mentona, piperitona, furfurool, alcohol etílico, pineno, etc.

(URL: www.Herbotechnia.com.ar/exotica.html).

El efecto antiespasmódico de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" se determinó por el método de Magnus, para lo cual se utilizó acetilcolina 5×10^{-4} M, como espasmógeno, atropina 5×10^{-5} M como fármaco de referencia y las infusiones al 10, 15, 20, 25 y 30%.

En el gráfico N° 01, Se observa la curva dosis – respuesta de la acetilcolina. La respuesta contráctil del íleon aislado se incrementa progresivamente a medida que se aumenta la concentración. De esta manera se determinó que la concentración óptima de acetilcolina es 5×10^{-4} M (se consideró como contracción de máxima amplitud y 100% de respuesta) ya que esta concentración permite una rápida recuperación del estado basal del íleon luego de enjuagar con la solución de Tyrode.

En el gráfico N° 02, Se observa que la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. redujo de modo significativo la contracción provocada por la acetilcolina sobre el íleon aislado de cobayo con dosis de 10, 15, 20, 25 y 30%. Este efecto se manifestó en forma dosis - dependiente, donde la infusión al 30% presentó un mejor efecto ya que inhibe marcadamente la respuesta contráctil (4.0mm) luego de la inducción del espasmo con la acetilcolina a la dosis de 5×10^{-4} M, comparando con la acetilcolina sola (30.0mm).

Se observa que la infusión al 10% tiene una respuesta contráctil de (17.0mm), luego de la inducción del espasmo con la acetilcolina y de forma similar la atropina a la dosis de 5×10^{-5} M que inhibe la respuesta contráctil en (18.0mm).

También se observa que la infusión al 15, 20 y 25% inhiben mejor la respuesta contráctil inducida por la acetilcolina (9.2mm, 6.0mm, 4.8mm respectivamente) en comparación con la atropina (18.0mm) que es el fármaco de referencia.

Teóricamente sabemos que la atropina disminuye el tono y las contracciones, especialmente si existe hiperactividad y espasmo provocados por drogas colinérgicas relajando el músculo liso del intestino lo que coincide con la parte experimental. En el anexo 07 se observa que en la frecuencia de contracciones hubo una tendencia a la disminución de 3mm aproximadamente lo cual atribuimos a las condiciones experimentales ya que también (Espinoza, P. 2004) encontró este mismo comportamiento.

Las diferentes concentraciones de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. se prepararon teniendo en cuenta la baja toxicidad de esta especie.

En el gráfico N° 03: Se observa el efecto antiespasmódico de los diferentes tratamientos, expresado en porcentaje de disminución de la respuesta contráctil inducida por la acetilcolina a la dosis de 5×10^{-4} M. La infusión al 10, 15,

20, 25, 30% presentan mejor efecto antiespasmódico, con un porcentaje de inhibición de (43.33%, 69.44%, 80.00%, 83.89% y 86.66% respectivamente) con respecto a la atropina que tiene (40.00%) de porcentaje de inhibición, como se ve es dosis dependiente.

En el anexo N° 01: Observamos el análisis de varianza del efecto antiespasmódico de las infusiones al 10, 15, 20, 25, 30% de la *Mentha aff. arvensis*-L. "hierba buena" luego de producir una disminución de la amplitud de las concentraciones inducidas por la acetilcolina a la dosis de 5×10^{-4} M, en el íleon aislado de cobayo, se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

En el anexo N° 03: Realizando comparaciones múltiples con la prueba de Tukey tomando como referencia la infusión al 10% (esta dosis presentó un efecto antiespasmódico similar a la atropina 5×10^{-5} M) y los demás tratamientos (infusión al 15, 20, 25 y 30%) afirmamos que los tratamientos no son iguales existiendo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Luego haciendo una comparación múltiple de esta misma infusión a la misma dosis, frente a la atropina a la dosis de 5×10^{-5} M, se afirma que los tratamientos son iguales no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

También al hacer una comparación múltiple de esta misma infusión a la misma dosis, frente a la acetilcolina, afirmamos que los tratamientos no son iguales existiendo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

En estudios realizados a esta planta (Lagarto, A. 1999) reportan que el extracto acuoso y etanólico tienen poca toxicidad, al igual que el mentol que es uno de los componentes del aceite esencial que posee una DL50 por vía oral de 3180 mg/Kg. Atendiendo a la DL50 estimada se clasifica a este extracto como no tóxico.

De igual manera se comprobaron sus propiedades antiinflamatorios y antihistamínicos (Leal, I. 1998), sin embargo nuestros resultados podemos compararlos con (Céspedes, A. 1996), quienes indican que la tintura de *Melissa officinalis* L. "toronjil", al 20% posee efecto antiespasmódico dependiente de la dosis en modelos de íleon aislado de cobayo y con el trabajo realizado en nuestra Universidad por (Espinoza, P. 2004) quien determinó que el extracto acuoso de *Melissa officinalis* L. "toronjil", al 15% posee mayor efecto antiespasmódico frente al extracto acuoso a la dosis de 5% y extractos alcohólicos al 5 y 10% en modelos de íleon aislado del cobayo.

Al analizar el efecto de nuestras infusiones sobre el íleon aislado de cobayo; encontramos que redujo la amplitud de las contracciones espontáneas y las inducidas por la acetilcolina, lo que valida la acción antiespasmódica referida en la medicina popular.

En el presente trabajo se observó que la infusión de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" a la dosis de 30% redujo significativamente la contracción provocada por la acetilcolina, sobre el íleon aislado de cobayo, este efecto se manifiesta en forma dosis dependiente.

La infusión al 10% de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" presentó un buen efecto espasmolítico que se manifiesta en forma dosis dependiente, de manera similar a la atropina de $5 \times 10^{-5} \text{M}$ que es el fármaco de referencia.

Los resultados obtenidos nos permiten afirmar que la infusión de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" tiene muy buena actividad antiespasmódica a nivel de la musculatura lisa intestinal lo que corrobora de forma experimental el uso que como antiespasmódico le atribuye la medicina popular por lo que se debe propiciar el empleo de esta planta en el tratamiento de afecciones del tracto gastrointestinal.

VI. CONCLUSIONES

- 1.- Las infusiones de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" presentan buen efecto antiespasmódico evaluados en el íleon aislado del cobayo.
- 2.- Se determinó la concentración de acetilcolina adecuada para obtener respuestas contráctiles por medio de la elaboración de una curva dosis-respuesta que es 5×10^{-4} M.
- 3.- Se determinó las respuestas contráctiles dependientes de la dosis de acetilcolina a las infusiones de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" al 10, 15, 20, 25 y 30% dando 17.0, 9.2, 6.0, 4.8 y 4.0mm respectivamente.
- 4.- La disminución de la respuesta contráctil de la atropina 5×10^{-5} M fue (18.0mm) similar a la infusión al 10% que fue de (17.0mm).
- 5.- En la disminución de la respuesta contráctil de las infusiones frente a la acetilcolina 5×10^{-4} M existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos a un nivel de confianza de 95%.
- 6.- La infusión al 30% fue la que mostró mayor efecto antiespasmódico (4.0mm) con respecto a la atropina (18.0mm).
- 7.- Los alcaloides de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" son los posibles responsables del efecto antiespasmódico.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a los estudiantes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica seguir realizando estudios de las plantas con actividad antiespasmódica.
2. Realizar estudios farmacológicos distintos a la actividad antiespasmódica de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena", puesto que la medicina popular le atribuye otras propiedades que son de gran importancia en la actualidad.
3. Formular preparados galénicos de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" ya que se demostró el efecto antiespasmódico de la infusión.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- 1.- ALDAVE, A. 1988. Botánica farmacéutica; Ed. Libertad EIRL. Trujillo - Perú.
- 2.- ANGULO, P. 1995. Plantas Medicinales y Medicamento Vegetal. Primer Symposium de Plantas Medicinales y Medicamento Vegetal en el Perú.
- 3.- ARROYO, J; AYLLÓN, M; CUEVA, M. 1997. Primer curso de farmacología experimental – Guía de Prácticas U.N.M.S.M.; Departamento de Ciencias Dinámica - de Facultad de Medicina; Lima – Perú.
- 4.- BEVAN, J. 1982. Fundamentos de farmacología; 2ª Edic.; Harper y Row Latinoamericana - México.
- 5.- BRUNETON, J. 1991. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Acribia S.A. Zaragoza – España.
- 6.- CÁCERES, A. 1996. Plantas Medicinales de Guatemala. Editorial Universidad San Carlos. Guatemala.
- 7.- CÉSPEDES, A.1996. Efecto de la tintura de *Melissa officinalis* L. Sobre el ileon aislado y en modelo de diarreas. Revista Cubana. La Habana – Cuba. (URL:www.infome.sld.cu/revistas/mil/vol25_1_96/milsu196.htm).
- 8.- CHÁVEZ, M. 1994. Estudio comparativo de drogas con actividad anticolinérgica. Edit. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNICA.
- 9.- CORNEJO, V. 1986. Las plantas medicinales y su correcta utilización. Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH. Ayacucho – Perú.
- 10.- COTILLO, P. 1990. Métodos Farmacológicos en la Investigación de Productos Vegetales. Publicado por Concytec.
- 11.- COTILLO, P. 1998. Farmacología, Mecanismos de Acción. Edit. UNSCH.
- 12.- CYTED, 1993. Manual de técnicas de investigación Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo; Sub-programa Química-Fina Farmacéutica.

- 13.- ERNEST, G. 1980. Botánica, Identificación taxonómica de especies vegetales. Edit. Interamericana, México.
- 14.- ESPINOZA, P. 2004. Efecto antiespasmódico de los extractos de *Melissa officinalis* L. "toronjil". Ayacucho, 2004. Tesis Químico Farmacéutico. UNSCH. Ayacucho, Perú.
- 15.- ESTRELLA, E. 1997. Plantas Medicinales Amazónicas: Realidad y Perspectivas. Tratado de Cooperación Amazónica. Lima, Perú.
- 16.- EVANS, W. 1991. Farmacognosia 13ava. Edic. Edit. Interamericana Mc. Graw Hill México.
- 17.- FLORES, J. 1992. Farmacología Humana, Ediciones Científicas y Técnicas, S.A; 2da Edición Barcelona España.
- 18.- FERNANDEZ, M. 1997. Medicina Tradicional, Edit. Rencar, UNMSM Lima, Perú.
- 19.- FONT QUER, P. 1981. Plantas Medicinales, Edit. Labor S.A. Barcelona, España.
- 20.- GANONG, W. 1995. Fisiología Médica. Edit. Manual Moderno, 15ª edic. México.
- 21.- GOODMAN y GILMAN. 1996. Las bases farmacológicas de la terapéutica; Mc Graw Hill Interamericana, México.
- 22.- GUERRA, F. 1982. Farmacología Experimental; Unión Tipográfica Editorial Hispano, Americana. México.
- 23.- GUERRA y PÉREZ, 1980. Métodos de Farmacología Experimental; Editorial. Hispanoamericana, México.
- 24.- LAGARTO, A. 1999. Toxicidad aguda oral de extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales; Revista Cubana. La Habana – Cuba.
(URL: bvs.sld.cu/revistas/pla/vol4_1_99/pla07199.pdf).

- 25.- LEAL, I. 1988. Estandarización de *Mentha arvensis* L. medicamento herbario con actividad antihistamínica; Revista Cubana. La Habana, Cuba.
(URL:www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol3_1_98/pla10198.htm).
- 26.- LIMAYLLA, A. 1985. Química de los Productos Naturales Tomo I. UNSCH. Ayacucho, Perú.
- 27.- LITTER, M. 1991. Compendio de Farmacología. Editorial. El Ateneo, 4ª edición. Buenos Aires, Argentina.
- 28.- LOCK De UGAZ, O. 1994. Investigación Fitoquímica. Fondo Editorial UPCL. Lima, Perú.
- 29.- MICROSOFT CORPORATION. 2005. Plantas Medicinales. Biblioteca de Consulta Microsoft ® Encarta ® 2005. © 1993-2004 Reservados todos los derechos.
- 30.- MILIÁN, A. 2001. Actividad antiespasmódica de extractos de *Piper auritum* H.B.K. en intestino. Revista Cubana. La Habana, Cuba.
(URL:www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol16_1_01/pla05101.pdf).
- 31.- MIRANDA, M. 1996. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos Ciudad de la Habana, Cuba.
- 32.- MORON, F. 1996. Actividad Espasmolítica del Extracto de *Matricaria recutita* "manzanilla" en órganos aislados. Revista Cubana. La Habana, Cuba.
(URL:www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol3_1_98/pla10198.htm).
- 33.- MOSTACERO, J. 1993. Taxonomía de Fanerógamas del Perú. Primera Edición. CONCYTEC.
- 34.- MUÑOZ, F. 1993. Plantas Medicinales y Aromáticas; 1ra Edic; Ed. Mundi – Prensa. Madrid, España.
- 35.- PAGE, C; CURTI, M; SUTTER, M; WALKER, M; BRIAN, H. 1997. Farmacología integrada Harcourt. España.

- 36.- PINTO, R y ARMAS, S. 1999. Manual de Prácticas de Fisiología. Determinación de actividad Anticolinérgica. Edit. Facultad de Medicina UNMSM.
- 37.- SERVICIO DE MEDICINA PRO VIDA, 1998. Medicamentos y Salud Popular. Edit. Servicios de Medicinas Pro Vida, Año 2 N° Junio 1988.
- 38.- TYLER, V. 1979. Farmacognosia 2da Edición. Editorial. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.
- 39.- VANDER, A. 1987. Plantas Medicinales: Las enfermedades y su tratamiento por las plantas. Editorial y Librería Sintesis. Barcelona, España.
- 40.- VEGA, R. 1999. Efecto sobre la Motilidad Intestinal y toxicidad Aguda Oral del Extracto Fluido de *Ocimum gratissimum* L. "Orégano cimarrón" Revista Cubana. La Habana, Cuba. URL:bvs.sld.cu/revistas/pla/vol4_1_99/pla.pdf.
- 41.- URL:www.abcmedicus.com/articulo/medicos/id/68/pagina/1/dolor_abdominal.html.
- 42.- URL:www.cfnavarra.es/bif/txt/14/141tabla5.html.
- 43.- URL:www.herbotecnia.com.ar/exotica.html.
- 44.- URL:www.tuotromedico.com/temas/dolor_abdominal.htm.
- 45.- URL:www.wikimania.wikimedia.org/kiwi/portada.

IX.- ANEXOS

ANEXO N° 01

Tabla de Análisis de varianza del efecto antiespasmódico de la atropina, las infusiones de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” frente a la acetilcolina. En ileon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

ANOVA

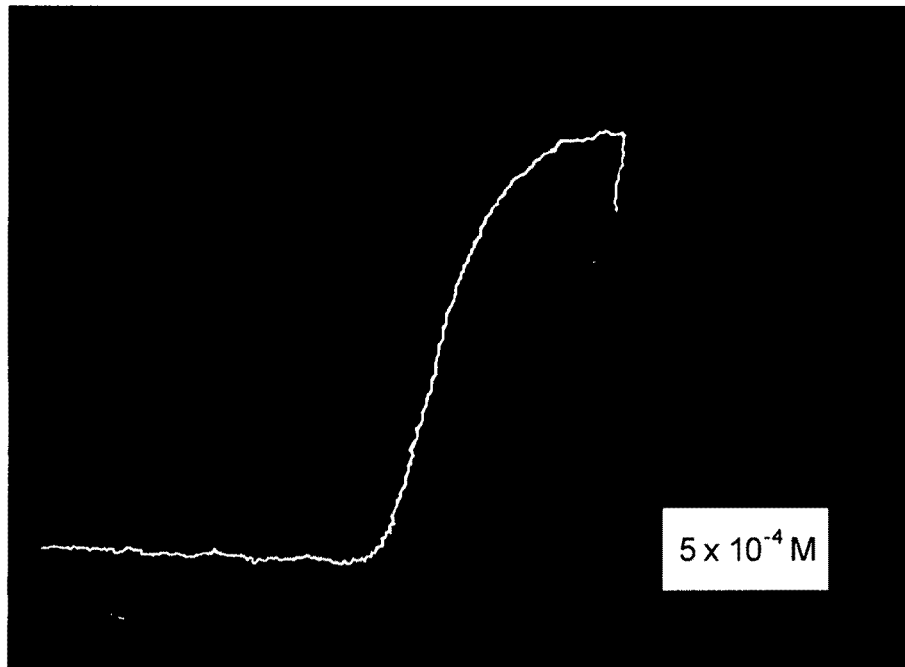
Respuesta contráctil (mm)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter- grupos	1622.5	6.0	270.4	143.8	9.01E-12
Intra- grupos	26.3	14.0	1.9		
Total	1648.8	20.0			

ANEXO N° 02

Tabla de Valores descriptivos de la respuesta contráctil de los diferentes tratamientos utilizados en la determinación del efecto antiespasmódico de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”. Ayacucho, 2004.

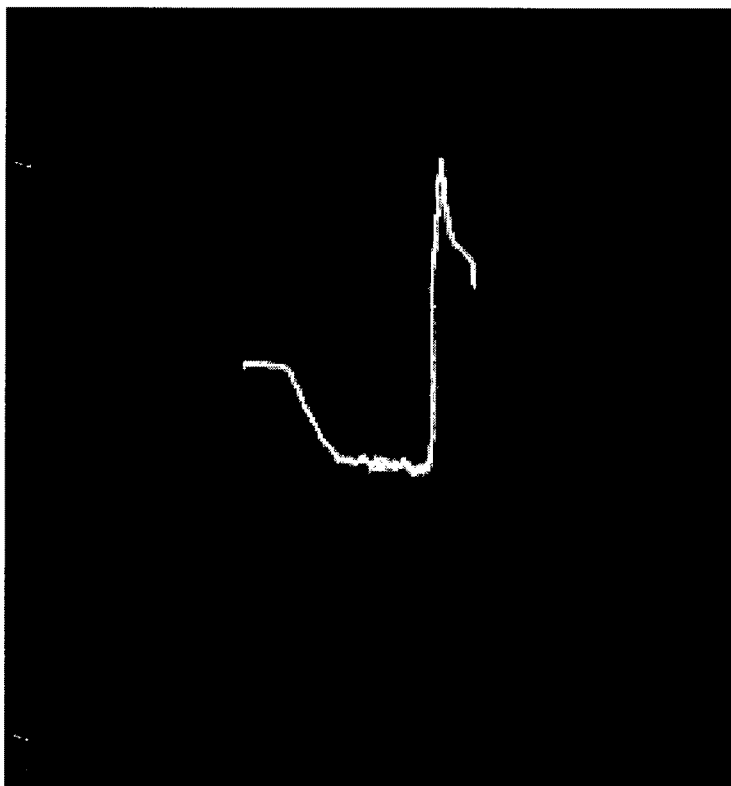
Tratamiento	Respuesta contráctil (mm)	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
	N				Límite inferior	Límite superior		
acetilcolina	3.0	30.0	1.0	0.6	27.5	32.5	29.0	31.0
Atropina 5x10E-5	3.0	18.0	2.6	1.5	11.4	24.6	15.0	20.0
Infusión 10%	3.0	17.0	2.0	1.2	12.0	22.0	15.0	19.0
Infusión 15%	3.0	9.2	0.3	0.2	8.4	9.9	9.0	9.5
Infusión 20%	3.0	6.0	1.0	0.6	3.5	8.5	5.0	7.0
Infusión 25%	3.0	4.8	0.3	0.2	4.1	5.6	4.5	5.0
Infusión 30%	3.0	4.0	0.0	0.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Total	21.0	12.7	9.1	2.0	8.6	16.8	4.0	31.0

ANEXO N° 06



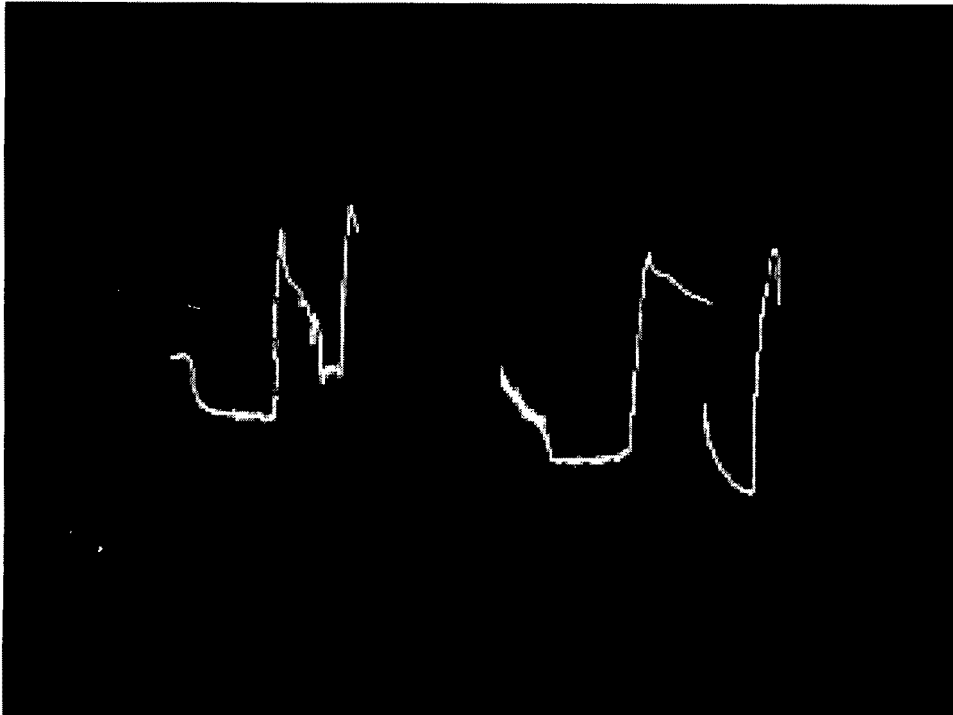
Respuesta contráctil de la Acetilcolina a la dosis de $5 \times 10^{-4} \text{ M}$, en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

ANEXO N° 07



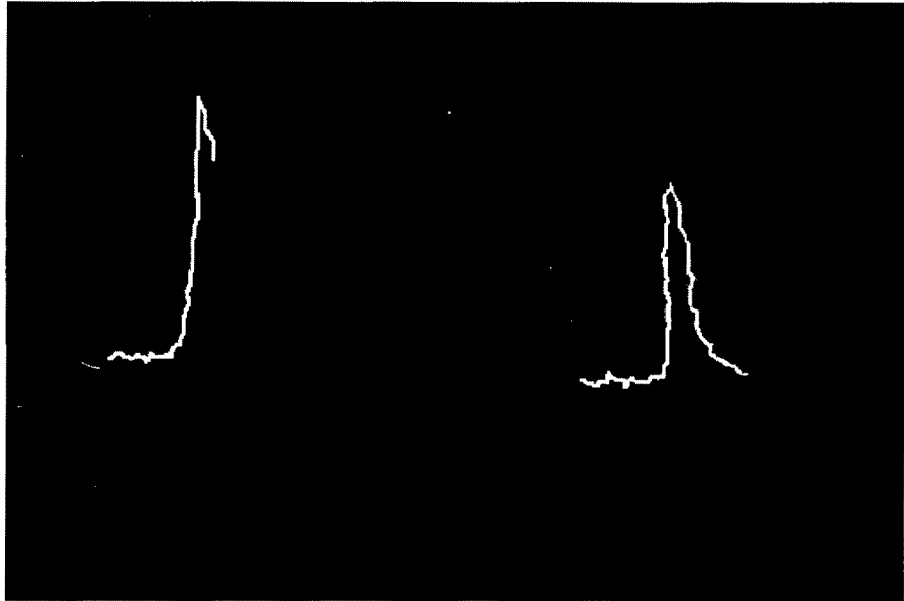
Respuesta contráctil de la Atropina a la dosis de 5×10^{-5} M más Acetilcolina a la dosis 5×10^{-4} M, en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

ANEXO N° 08



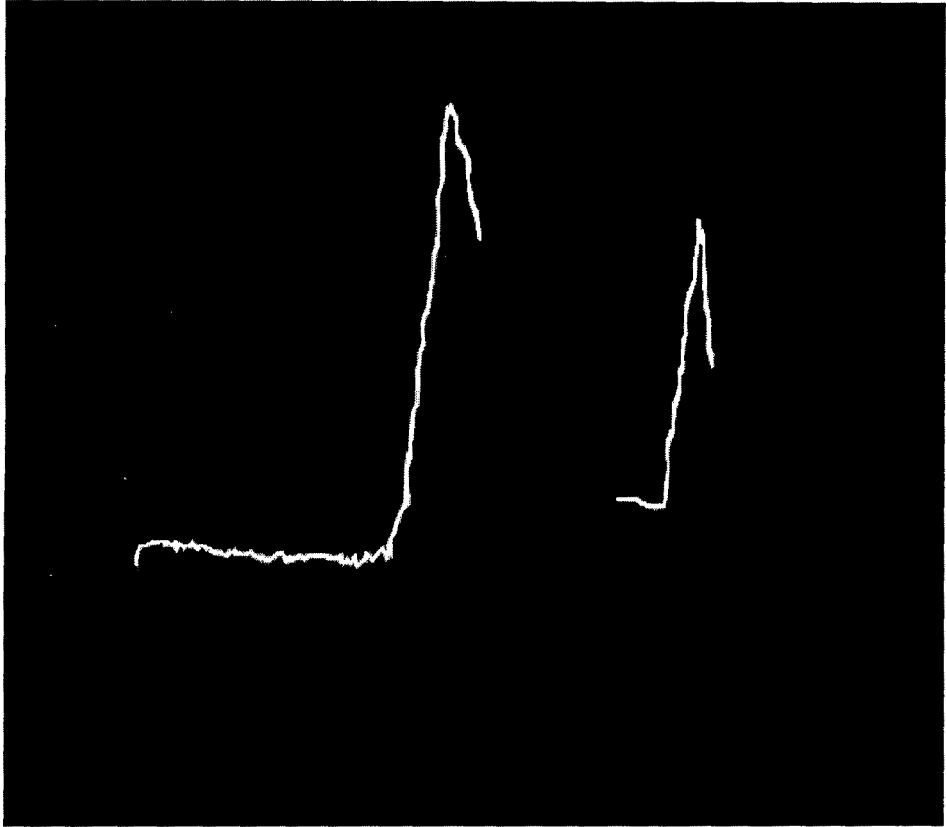
Respuesta contráctil de la Atropina (fig. izquierda) a la dosis de 5×10^{-5} M, (observése ligera disminución del peristaltismo basal del íleon de cobayo). Frente la respuesta contráctil de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” al 30% (fig. derecha). Ayacucho, 2004.

ANEXO N° 09



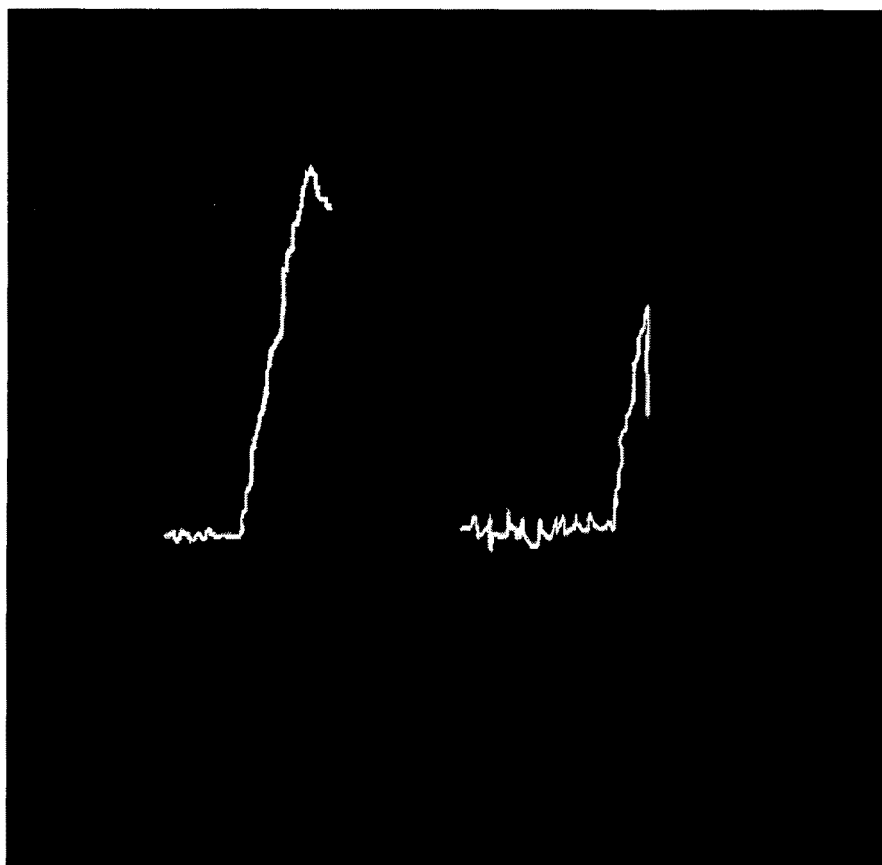
Respuesta contráctil de la infusión al 10% de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” frente a la Acetilcolina en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

ANEXO N° 10



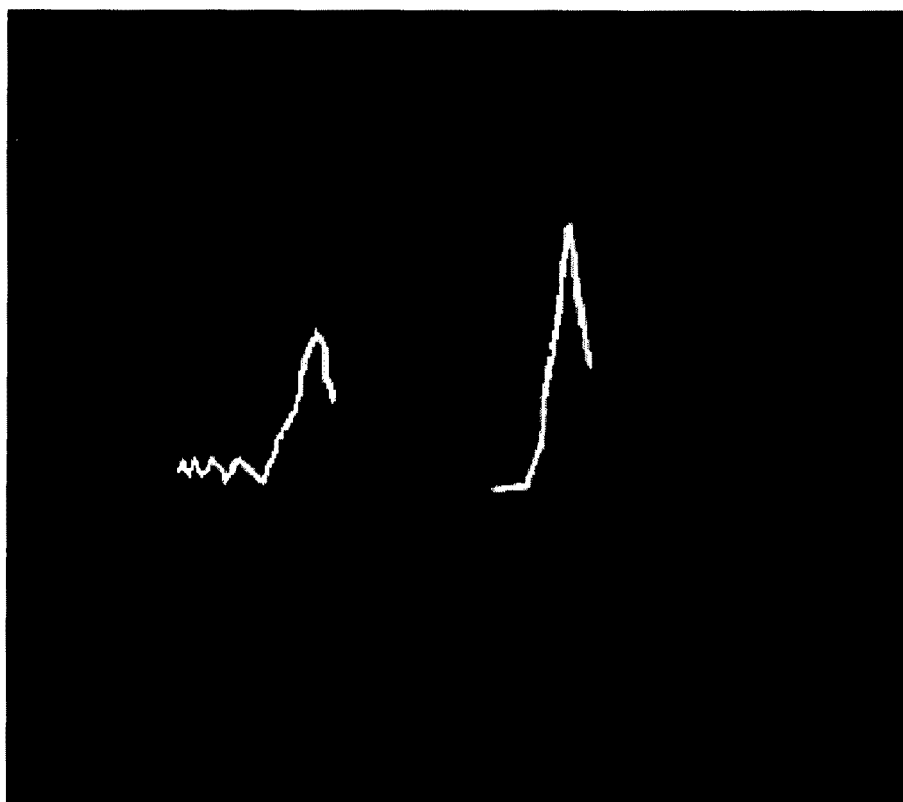
Respuesta contráctil de la infusión al 15% de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” frente a la Acetilcolina en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

ANEXO N° 11



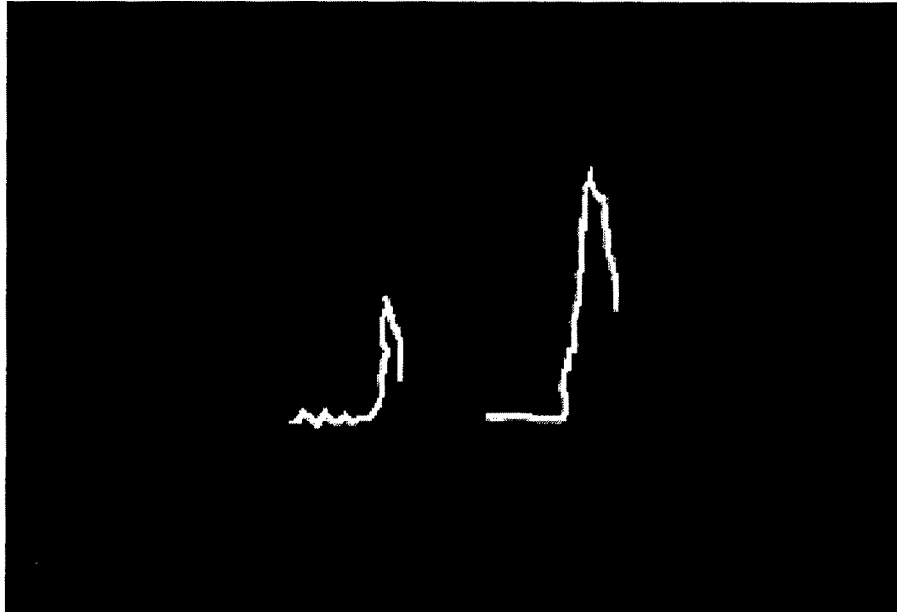
Respuesta contráctil de la infusión al 20% de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” frente a la Acetilcolina en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

ANEXO N° 12



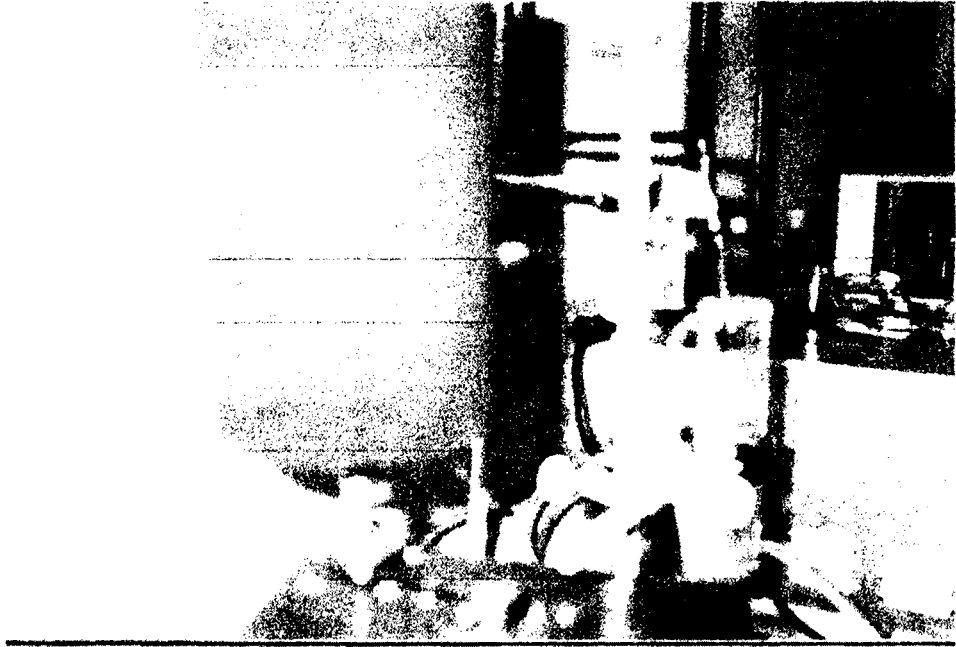
Respuesta contráctil de la infusión al 25% de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” frente a la Acetilcolina en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

ANEXO N° 13



Respuesta contráctil de la infusión al 30% de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” frente a la Acetilcolina en íleon aislado de cobayo. Ayacucho, 2004.

ANEXO N° 14



Fotografía N° 02: Equipo de Termostato, Quimógrafo y Baño maría, utilizado para determinar el efecto antiespasmódico de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”.

ANEXO N° 15

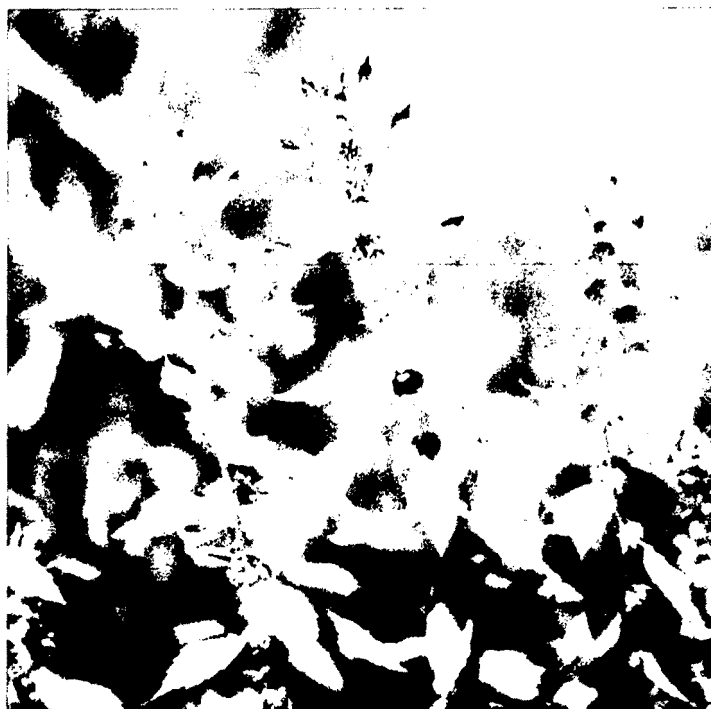
Fotografía N° 03: Equipo de Termostato, Quimógrafo y Baño maría utilizado para determinar el efecto antiespasmódico de la hojas de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”.

ANEXO N° 16



Fotografía N° 04: Desnucado y desangrado del cobayo para determinar el efecto antiespasmódico de la hojas de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena".

ANEXO N° 17



Fotografía N° 05: Vista fotográfica de las hojas de *Mentha aff. arvensis* L.
“hierba buena”.

ANEXO N° 18



Fotografía N° 06: Vista fotográfica de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”.

ANEXO N° 19



Fotografía N° 07: Vista fotográfica de las flores y cáliz de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena".

ANEXO N° 20



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



CONSTANCIA N°053-USM-2004

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (raíz, tallo y hojas) recibida de la Srta. TATIANA FERNANDEZ MEDINA, egresada de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga-Ayacucho, ha sido estudiada y clasificada como: *Mentha aff. arvensis* L., y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTES

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GENERO: *Mentha*

ESPECIE: *Mentha aff. arvensis* L.

Nombre vulgar: : "Hierba buena"

Determinación por: Mg. Joaquina Albán Castillo.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la interesada, para los fines que estimen conveniente.

Lima, 28 de Mayo de 2004.



Assuncion Cano Echevarria
Assuncion Cano Echevarria

JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

127/1006

Av. Arzobispo 1256, Jesús María
Apdo. 14-04 34, Lima 14, Perú

Teléfono: (511) 471-0117, 470-4471,
470-7918

Fax: (511) 265-6819
e-mail: marcos@unmsm.edu.pe

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA	MARCO TEÓRICO
"Efecto antiespasmódico de la infusión de <i>Mentha aff.</i>	¿Cual será la concentración de la infusión de <i>Mentha aff.</i>	Objetivos Generales: ➤ Evaluar el efecto antiespasmódico de infusiones de <i>Mentha aff.</i> <i>arvensis</i> L. "hierba buena" en el ileon aislado del cobayo. Objetivos Específicos: ➤ Caracterizar la actividad basal in vitro del ileon aislado del cobayo con sus movimientos típicos de contracción-relajación rítmica alternante. ➤ Evaluar las respuestas contráctiles dependientes de las dosis de acetilcolina a diversas concentraciones sobre el ileon aislado. ➤ Evaluar la respuesta contráctil por acción de la atropina bloqueando los efectos espasmódicos de la acetilcolina. ➤ Evaluar las respuestas contráctiles de las infusiones <i>Mentha aff.</i> <i>arvensis</i> L. "hierba buena" a diversas concentraciones y determinar variaciones significativas. ➤ Identificar el metabolito secundario responsable de la actividad antiespasmódica. ➤ Determinar la concentración óptima que tenga la mayor actividad antiespasmódica.	La infusión al 20% de <i>Mentha aff. arvensis</i> L. "hierba buena" poseen mejor efecto antiespasmódico que las infusiones al 10 y 30% evaluados en ileon aislado de cavia <i>porcellus</i> "cobayo".	Variable Independiente Diversas concentraciones de infusiones de <i>Mentha aff. arvensis</i> L. "hierba buena" Variable dependiente Respuesta contráctil del ileon aislado del cobayo. Indicadores: Temperatura, oxigenación, líquido nutritivo.	Se usará cobayos con un peso entre 300 y 500 g. La <i>Mentha aff. arvensis</i> L. "hierba buena" se empleará en forma de infusión a diferentes concentraciones Aislar el ileon del cobayo adecuadamente y colocarlo en el baño de órganos aislados con líquido nutritivo de Tyrode atemperado y oxigenado. Ligar con hilo los extremos del segmento aislado, Uno de los extremos del segmento se conectar a una aguja inscriptora que va dirigida al tambor del quimógrafo Registrar el peristaltismo basal. Observar y registrar la respuesta contráctil máxima del ileon en presencia de acetilcolina, en presencia de la infusión y de atropina.	La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor en el SNC y SNP. En el músculo liso estimula la fibra lisa de los aparatos gastrointestinales, urogenital y respiratorio aumentando el tono y la motilidad. Los agentes antimuscarínicos como la atropina antagonizan la acción muscarínica de la acetilcolina. Goodman – Gilman, 1996; Bevan J., 1992. La infusión o decocción de hojas de <i>Mentha aff. arvensis</i> L. "hierba buena" se usa para tratar afecciones digestivas (cólico, indigestión, diarrea, dispepsia, flatulencia, gastralgia, náusea, vómito), dismenorrea, dolores, reumatismo y neuralgia.

Efecto antiespasmódico de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” sobre el ileon aislado de *Cavia porcellus* “cobayo”. Ayacucho, 2004.

Tatiana Fernández¹, José Díez², Marco Aronés²

- 1 Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas– Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.
- 2 Laboratorio de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho Perú.

RESUMEN

La finalidad del estudio fue evaluar el efecto antiespasmódico en pruebas *in vitro* de las infusiones de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” en segmentos de intestino (ileon) de cobayo a diferentes concentraciones: 10, 15, 20, 25 y 30%, los que se mantienen en líquido nutritivo de Tyrode; en un baño de órganos aislados con suministro permanente de oxígeno y a una temperatura de 37°C. Se utilizó un quimógrafo para registrar la respuesta contráctil máxima del ileon en presencia de acetilcolina a diversas concentraciones que van desde 5×10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 4.13×10^{-6} M y 1.38×10^{-6} M. Los datos obtenidos sirvieron para calcular los valores relativos en milímetros de respuesta contráctil del órgano a la acetilcolina, en presencia de las diferentes concentraciones de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” y de atropina como fármaco de referencia a concentraciones de 5×10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 5×10^{-6} M.

En el ensayo farmacológico se determinó que la infusión de la *Mentha aff. arvensis* L. posee efecto antiespasmódico debido a que disminuyeron de manera dosis dependiente la amplitud de las contracciones inducidas por el espasmógeno (acetilcolina 5×10^{-4} M) en forma similar a la atropina.

La infusión al 30% (4.00mm) tiene una eficiencia de 86.66% es más efectiva con respecto a la infusión al 10% (17.00mm). Esta última es similar a la droga de referencia, atropina 5×10^{-5} M (18.0mm).

Palabras claves: plantas medicinales; antiespasmódico; Atropina; Acetilcolina; *Mentha aff. arvensis* L.; órganos aislados.

ABSTRACT

It was tested the antispasmodic effect of *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” infusions on cobayo (*Cavia porcellus*) isolated ileum segments, “*in vitro*”. The study was carried out during 2004.

To prove relaxing effect of *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” infusions; made ready infusions at varying concentrations: 10, 15, 20, 25 and 30%; likewise, *in vitro* experiments were designed according to Magnus's Method. It was worked with intestine segments (ileum), which were kept in Tyrode's nutritive liquid for isolated organs bath, with continuous supply of oxygen, at 37°C temperature, in addition to presence of acetylcholine-induced contractions, at varying concentrations too ranged from 5×10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 4.13×10^{-6} M to 1.38×10^{-6} M, and atropine as control drug at different concentrations: 5×10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 5×10^{-6} M. Indeed, in presence of infusions.

Information from assays readings was used to calculate relative values of organ's contractile response to acetylcholine, in millimetres. In order to register the peak contractile response it was used a Kymograph

Pharmacological tests revealed that *Mentha aff. arvensis* L. infusions possesses antispasmodic effect, since contractions wide to acetylcholine at 5×10^{-4} M decreased on dose dependent way, similar to atropine does. Also, 30 % infusion (4.00 mm) showed 86.66 efficiency, then was higher effective respect for 10 % infusion (17.00 mm), being this last alike to atropine 5×10^{-5} M (18.0mm).

On the light of results we could conclude that *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena” infusions at 30 %, has high potency as antispasmodic.

Key words: You plant medicinal; antispasmodic; Atropine; Acetylcolina; *Mentha aff. arvensis* L.; isolated Organs.

INTRODUCCIÓN

La *Mentha aff. arvensis* L. “hierba buena”, es una planta nativa de la Zona templada norte, cultivada en muchos países. Además de ser aromática, carminativa y saporífera, esta planta se utiliza en Japón para obtener el aceite esencial del que después se extrae el mentol, lo que dió origen a su nombre común menta japonesa. Su aceite esencial está compuesto por acetato de mentilo, canfeno, limoneno, cariofileno, valerianato de mentilo, mentona, piperitona, furfural, alcohol etílico, pineno, etc. Es por ello que están reforzadas aquellas propiedades que son específicamente atribuidas al aceite y al mentol como las antisépticas, antiespasmódicas y fungicidas.

La infusión de la *Mentha aff. arvensis* L. es utilizada por la población para tratar afecciones digestivas (cólico, indigestión, diarrea, flatulencia, náuseas, vómitos, etc.) lo que motivó a estudiar el efecto antiespasmódico de la infusión de esta especie sobre la motilidad espontánea y contracciones inducidas por la acetilcolina en órganos aislados.

La infusión de la *Mentha aff. arvensis* L. es utilizada por la población para tratar afecciones digestivas (cólico, indigestión, diarrea, flatulencia, náuseas, vómitos, etc.) lo que motivó a estudiar el efecto antiespasmódico de la infusión de esta especie sobre la motilidad espontánea y contracciones inducidas por la acetilcolina en órganos aislados.

Se estudió la actividad antiespasmódica de la *Mentha aff. arvensis* L. sobre la fibra lisa del tracto gastrointestinal mediante el uso de modelos *in vitro*, con infusiones, a las dosis de 10, 15, 20, 25 y 30%, que fueron contrastados con drogas patrones con el fin de corroborar el efecto antiespasmódico que se le ha atribuido tradicionalmente a esta planta. Esta planta fue recolectada en el centro poblado de San José de Vifaca, distrito de San José de Ticslas, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, a una altitud aproximada de 2500 msnm.

El trabajo experimental se realizó en el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Correspondencia:

Tatiana Fernández Medina. tatian63@hotmail.com
Fac. Cs. Biológicas UNSCH. Av. Independencia S/N Ciudad Universitaria.
Telf. (066)31-2510 Anexo 145 – (066)318553

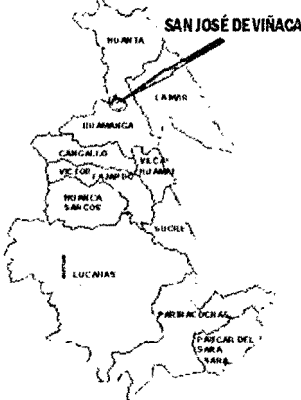
- Objetivos Generales:
- Evaluar el efecto antiespasmódico de infusiones de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" en el íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo".
- Objetivos Específicos:
- Caracterizar la actividad basal in vitro del íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo" con sus movimientos típicos de contracción-relajación rítmica alternante.
 - Evaluar las respuestas contráctiles dependientes de las dosis de acetilcolina a diversas concentraciones sobre el íleon aislado.
 - Evaluar la respuesta contráctil por acción de la atropina bloqueando los efectos espasmódicos de la acetilcolina.
 - Evaluar las respuestas contráctiles de las infusiones *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" a diversas concentraciones y determinar variaciones significativas.
 - Identificar el metabolito secundario responsable de la actividad antiespasmódica.
 - Determinar la concentración óptima que tenga la mejor actividad antiespasmódica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra: El material vegetal *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" se recolectó en horas de la mañana del centro poblada de San José de Viñaca, los que fueron tomados al azar, se dejó secar a temperatura ambiente y aproximadamente 500g de hojas, se pulverizaron y a partir de los cuales se realizaron las diferentes infusiones.

Se colocó 10, 15, 20, 25 y 30g de la muestra molida en vasos de precipitado y se agregó 100mL de agua destilada hirviendo, se tapó y se dejó reposar por 5 a 10 minutos. Luego se pasó por un filtro y se procedió a trabajar.

AYACUCHO - PERÚ



Material Biológico: 21 cobayos de ambos sexos con un peso comprendido entre 300 – 500 g, adquiridos en el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA).

Método: En primer lugar se mantuvieron a los animales 24h en ayunas luego se procedió al sacrificio del animal. Posteriormente procedimos a identificar y extraer el órgano según el método general de Magnus.

Los cobayos fueron sacrificados por dislocación cervical y por laparotomía, se obtuvieron segmentos de íleon de mas o menos 10cm de longitud los cuales se introdujeron en baño de órganos aislados que contenía solución nutritiva Tyrode a 37°C, se cortó en segmentos

de 2cm de longitud y atándoles luego con seda quirúrgica ambos extremos sin ocluir la luz intestinal un lado al extremo del soporte y el otro al transductor. Se colocó en 40mL de solución de Tyrode burbujeada con una mezcla de oxígeno 95% y 5% de dióxido de carbono a 37°C, se ató uno de los extremos del hilo de seda a una aguja inscriptora la cual estuvo conectada al tambor giratorio del quimógrafo y el otro extremo a un extremo del soporte. Se utilizó 2 a 3 segmentos de intestino por cada animal. Se determinó una curva dosis respuesta de la acetilcolina y atropina a diferentes concentraciones molares para luego trabajar con concentraciones establecidas. La variable analizada fue el tamaño de la respuesta contráctil en mm de la infusión al 10, 15, 20, 25 y 30% frente a la acetilcolina 5×10^{-4} M. La respuesta contráctil de la infusión de "hierba buena" fue comparada con la respuesta contráctil de la atropina 5×10^{-5} M.

Los registros se realizaron siempre en el siguiente orden: basal, dosis de la droga; dosis de acetilcolina (contracción de máxima amplitud); lavado tres veces con la solución nutritiva de Tyrode, estabilización (5 minutos).

Análisis Estadístico: El análisis estadístico se realizó a través del Análisis de Varianza y la prueba de Tukey, representando en histogramas y gráficos, trabajándose a un 95% de significación.

RESULTADOS:

CUADRO N° 01: Metabolitos secundarios presentes en el extracto bencínico de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena". Ayacucho, 2004.

METABOLITOS SECUNDARIOS	OBSERVACIONES	RESULTADOS
ALCALOIDES - Ensayo de Dragendorff - Ensayo de Hager - Ensayo de Wagner - Ensayo de Mayer	Formación de una opalescencia Formación de una opalescencia Formación de una opalescencia Formación de una opalescencia	+ + + +
LACTONASY CUMARINAS - Ensayo de Baljet	Formación de una coloración rojiza	++
TRITERPENOS Y ESTEROIDES - Ensayo de Lieberman y Burchard	Formación de dos fases: una superior de color verde y otra inferior de color rosado que fue oscureciendo.	+
ACEITES Y GRASAS - Ensayo de Sudan	Hay formación de una película roja al borde del tubo	+++

Resultados:

Escaso = (+)
Bueno = (++)
Excelente = (+++)

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Bach. Tatiana FERNÁNDEZ MEDINA

R.D.N°254-05-FCB-D

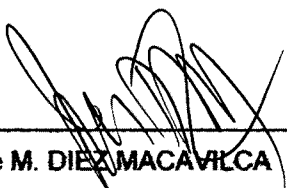
TESIS: Efecto antiespasmódico de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" sobre el ileon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo" Ayacucho - 2004.

En la ciudad de Ayacucho a los veintisiete días del mes de Diciembre del año dos mil cinco, siendo las cuatro de la tarde, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas los profesores: Mg. José Manuel Diez Macavilca como presidente (e) quien preside el acto de sustentación en merito al memorando N.- 560-05-UNSCH-FCB-D por el cual el decano le encarga la presidencia del acto de sustentación de tesis, actuando como secretario docente el Blgo. Víctor Luis Cárdenas López y como miembros del jurado calificador el Q.F. Emilio Germán Ramírez Roca, Mg. José Manuel Diez Macavilca y el Mg. Jesús De la Cruz Arango quienes recepcionarán la sustentación de la tesis presentada por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Tatiana Fernández Medina cuyo título es: Efecto antiespasmódico de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" sobre el ileon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo". Ayacucho, 2004, con la cual pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica. Acto seguido el presidente (e) solicitó al secretario docente dar lectura a la Resolución Decanal N.-254-05-FCB-D del veinte de noviembre del año dos mil cinco y al Memorando N.-560-05-UNSCH-FCB-D. Del veintiuno de Diciembre del dos mil cinco, luego el presidente (e) invito a la sustentante a exponer su trabajo de investigación en el tiempo de 45 minutos como máximo contemplados en el Reglamento. Concluida la sustentación de la tesis, el presidente invitó a los Miembros del Jurado Calificador a realizar las aclaraciones y preguntas que ellos consideren pertinentes. Finalizado el acto de sustentación, el presidente invitó a la

la Srta. Sustentante y al público asistente a abandonar el Auditorio por unos momentos con la finalidad de que los miembros del Jurado Calificador realicen las deliberaciones y calificaciones correspondientes en estricto privado, cuyos resultados son los siguientes:

Miembro Jurado	Exposición	Respuesta	Promedio
Q.F. Emilio G. Ramírez Roca	16	16	16
Mg. José M. Díez Macavilca	17	17	17
Mg. Jesus De la Cruz Arango	16	17	17
PROMEDIO			17

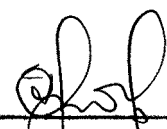
Como resultado la sustentante ha obtenido la nota de diecisiete (17) de la cual dan fe los Miembros de Jurado Calificador, estampando sus firmas al pie del presente acta, finalizando el acto de sustentación a las cinco y treinta de la tarde.



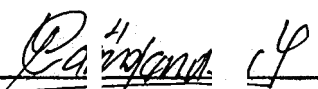
Mg. José M. DÍEZ MACAVILCA
Presidente (e)



Q.F. Emilio G. RAMÍREZ ROCA
Miembro



Mg. Jesús DE LACRUZ ARANGO
Miembro



Blgo. Víctor L. C. CARDENAS LÓEZ
Secretario - Docente