

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIESPASMÓDICO QUE POSEEN LAS
HOJAS DE **AMBROSIA CUMANENSIS** (ALTAMISA), **PSIDIUM GUAJABA**
(GUAYABO), **ALOE VERA** (SÁBILA) SOBRE EL MÚSCULO LISO AISLADO EN
ANIMALES DE EXPERIMENTACION.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:
CLAUDIA DOLORES CANALES BURGOS
ROXANA LIZZETTE CUBIAS VILLALTA
LUZ MARGARITA PEREZ VIDES

16 DE FEBRERO
DE 1841
PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

DICIEMBRE DE 2004

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA

Dra. María Isabel Rodríguez.

SECRETARIA GENERAL

Licda. Alicia Margarita Rivas de Recinos

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

Lic. Salvador Castillo Arévalo

SECRETARIA

MSc. Miriam Ramos de Aguilar

COMITÉ DE TRABAJOS DE GRADUACIÓN

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

**ASESORA DE ÁREA DE GESTIÓN AMBIENTAL, TOXICOLOGIA Y
QUIMICA LEGAL**

Licda. María Luisa Ortiz de López

**ASESORA DE ÁREA DE INDUSTRIA FARMACEUTICA, COSMÉTICA Y
VETERINARIA**

Licda. Mercedes Rossana Brito de Gámez

DOCENTE DIRECTOR

Lic. Salvador Castillo Arévalo

AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradecemos a Dios todo poderoso por prestarnos salud para llevar a cabo esta investigación y de manera especial a las siguientes personas e institución que nos brindaron su apoyo.

- Universidad de San Carlos, Guatemala

- Licda. Amarillis Saravia, por su colaboración y Apoyo

- Lic. Salvador Castillo Arévalo, por su confianza, enseñanza, orientación y tiempo brindado como asesor.

- Licda. Maria Concepción Odette Rauda Acevedo, Licda. Maria Luisa Ortiz de López, Licda. Mercedes Rossana Brito de Gámez, nuestro jurado gracias por orientarnos en nuestro trabajo.

Y a todas aquellas personas que de una u otra manera nos brindaron su apoyo de forma desinteresada, finalmente gracias.

Claudia, Lizzette y Luz.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a Dios Todo poderoso, por haberme dado la vida, salud, sabiduría y todo lo que soy, para poder llegar a alcanzar mis metas.

A mi Madre: Carmen Burgos Mixco, por estar a mi lado en todo momento apoyándome, dándome su amor y confianza, a quién amo con todo mí corazón.

A mí Padre: Guillermo Canales Gavidia, por sus consejos, y ayuda lo quiero mucho.

A mi Abuelita: Rosario Burgos Mixco, a quién quiero como una segunda madre, la cual me ha dado sus sabios consejos, apoyo, confianza y amor.

A mis Hermanos: Manuel Antonio Baires y Ana Alvarez, por brindarme su apoyo, cariño, y su tiempo a quienes quiero mucho.

A mis Tíos: Marta Burgos y Ricardo Burgos, por estar siempre a mi lado, y encontrar un gran apoyo en el momento que más los necesite, los quiero mucho.

A mis Sobrinos: Manuel Alejandro, Carlos Manuel Y Diego José por su amor y cariño, los que quiero mucho.

A mi Novio: Humberto Artiga. Por su apoyo, amor y confianza, a quién amo mucho.

A mis Amigas: Claudia Contreras, Lilian, Karen, Mayra, Violeta, por su ayuda, sinceridad, y por estar siempre unidas, a las cuales aprecio y quiero mucho.

A mis Amigas de Tesis, porque supimos apoyarnos, comprendernos y trabajar juntas como un buen equipo, así como también a todas aquellas personas que de alguna manera colaboraron con la realización de este trabajo.

Que Dios los bendiga

Claudia Canales

DEDICATORIA

A DIOS TODOPODEROSO

por proporcionarme la fuerza y sabiduría para alcanzar esta meta.

A MI QUERIDO ESPOSO

Juan Manuel, por el inmenso amor, apoyo y comprensión durante nuestra vida universitaria, así como por conformar un hogar lleno de sueños y aspiraciones. Gracias ,mi amor.

A MI AMADA HIJA

Paola Alejandra, por ser la más grande inspiración, para culminar este trabajo, brindándome desde mi vientre, las fuerzas necesarias para sobreponerme a las situaciones difíciles. Te amo hijita.

A MIS QUERIDOS PADRES

Ana Luisa y Baudelio, por el sacrificio y la confianza depositados en mí, durante toda mi formación académica, así como por inculcarme los principios y valores humanos necesarios para hacer frente a la vida... los quiero mucho.

A MIS HERMANAS

Jasmine y Ana Evelyn, por todos esos momentos especiales desde nuestra niñez, los cuales constituyen la base para apoyarnos en todo momento.

A MI SOBRINITA

Andrea Nicole, cuya sana alegría me sirvió de inspiración.

A MIS TIOS PRIMOS Y ABUELOS

Quienes se encuentran formando parte de este logro.

A MIS COMPAÑERAS DE TESIS

Claudia y Luz, por compartir todos estos esfuerzos y sacrificios hasta alcanzar nuestro objetivo común... Gracias amigas.

AL PERSONAL DE LABORATORIOS PHARMEDIC

Por su respaldo incondicional, especialmente al Lic. Oscar Escobar.

A MIS AMIGAS

Que de una u otra forma se encuentran formando parte de este logro... Gracias.

Roxana Lizzette.

DEDICATORIA

A DIOS Y LA SANTÍSIMA VIRGEN MARIA, por darme la sabiduría, fortaleza y guía necesaria para alcanzar esta nueva meta en mi vida.

A MIS PADRES José Humberto Pérez y Blanca de Pérez, por ser el regalo más grande que Dios me ha dado, por su apoyo y amor incondicional, todo lo que soy es por ustedes. Los amo mucho y gracias por ser mis padres.

A MIS HERMANOS Blanca, Alex y Ernesto, por que han sido mi apoyo y siempre han estado conmigo en todo momento. Los quiero mucho.

A Claudia y Liz, porque este trabajo es el resultado del esfuerzo de cada una, por nuestra amistad, porque hicimos un buen equipo, este logro es de las tres.

AL PERSONAL DE FARMACIA DEL HOSPITAL DE EMERGENCIA Y DIAGNOSTICO, especialmente a Licda. Sermeño, Claudia, Sandrita y Paty ,por su amistad, tiempo y apoyo brindado.

A todos mis familiares y amigos que de una u otra manera me han brindado su apoyo gracias.

Luz Margarita

INDICE

	Pág.
Resumen	
Introducción	xv
Objetivos	
1.0 Objetivo General	
2.0 Objetivos Específicos	
Marco teórico	18
Capítulo	
I DISEÑO METODOLOGICO	24
1.0 Investigación Bibliografica	25
1.1 Monografías de especies vegetales	25
1.1.1 Altamisa	25
1.1.2 Guayabo	27
1.1.3 Sábila	29
2.0 Parte Experimental	31
2.1. Recursos Materiales	31
2.2 Metodología de Análisis	31
2.2.1 Recolección y Preparación de las Plantas	31
2.2.2 Tratamiento previo a la extracción para Ambrosia cumanensis (Altamisa) y Psidium guajaba (Guayabo)	32
2.2.3 Obtención de los extractos de las hojas de Ambrosia cumanensis (Altamisa) y Psidium guajaba (Guayabo)	32
2.2.4 Proceso de Extracción del acÍbar del Aloe vera (Sábila)	32
2.2.5 Proceso para la obtención de resina de Ambrosia cumanensis (Altamisa) y Psidium guajaba (Guayabo)	33

2.2.6	Pruebas de Identificación Fitoquímicas	33
2.2.7	Ensayos para determinar Alcaloides	33
2.2.8	Ensayo para la determinación de Antraquinonas	34
2.2.9	Ensayo para determinar Taninos	34
2.2.10	Ensayos para identificar Sesquiterpenlactonas	36
2.2.11	Ensayos para determinar Glicósidos Saponínicos	37
2.2.12	Ensayos para determinar Glicósidos Flavonoides	38
2.2.13	ACCION SOBRE EL PERISTALTISMO (cualitativamente)	38
2.2.14	ACCION SOBRE ÓRGANO AISLADO (Cuantitativamente)	40
II.	RESULTADOS	43
III.	DISCUSION DE RESULTADOS	50
3.1	Discusión de Análisis Fitoquímico Preliminar	51
3.2	Interpretación de resultados del Análisis Fitoquímico Preliminar	52
3.3	Discusión de Resultados de acción sobre el Peristaltismo (cualitativamente)	54
3.4	Interpretación de Resultados de acción sobre el Peristaltismo (cualitativamente)	55
3.5	Discusión de Resultados en la Acción sobre Órgano Aislado (Cuantitativamente)	56
3.6	Interpretación de Resultados en la Acción sobre Órgano Aislado (Cuantitativamente)	57
IV.	CONCLUSIONES	58
V.	RECOMENDACIONES	60
	BIBLIOGRAFÍA	
	GLOSARIO	
	ANEXOS	

INDICE DE TABLAS

TABLA	Página
1. RESULTADO DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO	44
2. RESULTADOS DE LAS CONCENTRACIONES PROBADAS EN EL INTESTINO DELGADO (DUODENO) DE CONEJOS (IN VIVO)	45
3. RESULTADOS DE LAS CONCENTRACIONES PROBADAS EN EL INTESTINO DELGADO (DUODENO) DE CONEJOS (IN VIVO)	46
4. RESULTADOS DE LAS CONCENTRACIONES PROBADAS EN EL INTESTINO DELGADO (DUODENO) DE RATAS (IN VIVO)	46

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	Página
1. REGISTRO DE ALTAMISA CONCENTRACION DE 1.0 mg / mL.	47
2. REGISTRO DE GUAYABO CONCENTRACION DE 1.0 mg / mL	48
3. REGISTRO DE SABILA CONCENTRACION DE 1.0 mg / mL	49

ABREVIATURAS

ATP	Trifosfato de Adenosina
ADP	Difosfato de Adenosina
Kg.	Kilogramo
°C	Grados Centígrados
g.	Gramos
mL.	Mililitro
mg / mL.	Miligramo por Mililitros
Aco.	Acetilcolina

RESUMEN

La investigación desarrollada consiste en la determinación del efecto antiespasmódico que poseen las hojas de ***Ambrosia cumanensis*** (Altamisa), ***Psidium guajaba*** (Guayabo) y ***Aloe vera*** (Sábila) sobre la motilidad del intestino delgado en animales de experimentación (conejos y ratas albinas).

El trabajo se desarrolló en 2 etapas:

1 – Investigación Bibliográfica

2 – Investigación de Campo

Etapa I. Investigación Bibliográfica:

Esta etapa comprende la investigación teórica de las 3 especies vegetales, sus monografías, usos terapéuticos populares y generalidades del funcionamiento del intestino delgado (duodeno).

Etapa II. Investigación de Campo:

Esta etapa se divide en recolección de las plantas y la investigación de laboratorio. La recolección de las plantas se realizó en el Cerro el Carmen de Ayutuxtepeque, la Colonia Montebello y los jardines de la Universidad de El Salvador en el Departamento de San Salvador efectuándose dicha actividad el mes de Noviembre de año 2003.

La investigación de laboratorio se divide básicamente en 3 partes:

- a) Análisis Fitoquímico Preliminar
- b) Acción sobre el Peristaltismo (cualitativamente)
- c) Acción sobre el Órgano Aislado (cuantitativamente)

a) Análisis Fitoquímico Preliminar:

En esta se realizó el estudio de las 3 especies vegetales mediante pruebas químicas que permiten la identificación de los diferentes metabolitos, los cuales son extraídos de la plantas, por medio de los extractos etanólicos, que sirvieron de base para determinar la presencia de Alcaloides, Antraquinonas, Taninos, Sesquiterpenlactonas, Glicósidos Saponínicos y Glicósidos Flavonoides.

b) Acción sobre el Peristaltismo (cualitativamente)

Etapas en la cual se emplearon conejos y ratas albinas en los que se probó a diferentes concentraciones los extractos de las 3 especies vegetales para comprobar visualmente el efecto antiespasmódico sobre el duodeno.

c) Acción sobre el Órgano Aislado (cuantitativamente)

En este ensayo se aisló un fragmento del intestino delgado (duodeno) de ratas albinas, el cual se colocó en el aparato de órgano aislado para cuantificar el efecto observado anteriormente por medio de registros del polígrafo.

Con esta investigación se pretende contribuir al desarrollo y expansión de los conocimientos existentes sobre los usos terapéuticos de especies vegetales, generando estudios preliminares que orienten a investigaciones más específicas sobre la actividad de estas.

INTRODUCCION

La Medicina actual tiene avances tecnológicos día con día en la mayor parte del mundo, la disciplina de plantas medicinales ha evolucionado de manera considerable en los últimos años, especialmente gracias al progreso de la química de productos naturales (Dilucidación de estructuras) y la biogénesis de metabolitos secundarios con actividad terapéutica.

En el país son muy comunes los trastornos gastrointestinales, la mayoría de ellos acompañados por espasmos, que alteran el bienestar de la salud, por lo que la población se haya en la necesidad de recurrir a medicamentos eficaces que disminuyan o eliminen este dolor.

Uno de los problemas actuales que afrontan los países en vías de desarrollo, es que muestran una tendencia creciente a buscar otras alternativas que incluyan el uso de plantas medicinales para aliviar o curar enfermedades. Las razones atribuibles a esta búsqueda son un mayor acercamiento a la naturaleza y un rechazo por los altos costos de los medicamentos convencionales.

A pesar de que las plantas medicinales se han usado durante muchos siglos, el conocimiento de los remedios de origen natural, se ha convertido en el fruto de un interés científico riguroso que estudia la droga bajo aspectos muy diversos

y así, posteriormente realizar investigaciones farmacológicas para validar la información popular acerca de la propiedad terapéutica de las plantas medicinales. Utilizando el método de Reflujo se obtendrán extractos etanólicos para realizar las pruebas Fitoquímicas que determinarán los metabolitos secundarios presentes en las hojas de ***Ambrosia cumanensis*** (Altamisa), ***Psidium guajaba*** (Guayabo) y ***Aloe vera*** (Sábila), posteriormente los extractos etanólicos se llevarán a consistencia resinosa con los cuales se obtendrán el rango de concentraciones para realizar la evaluación farmacológica in vivo en el intestino delgado (duodeno) de conejos y ratas albinas, luego se efectuará el método del aislamiento del intestino delgado (duodeno) , obteniéndose registros por medio del Polígrafo con el que se comprobará la propiedad antiespasmódica de las plantas en estudio, y así sustentar las bases para la realización de futuras investigaciones, que ayuden a determinar las propiedades atribuibles a las plantas según el uso y conocimiento popular.

OBJETIVOS

1.0 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto antiespasmódico que poseen las hojas de *Ambrosia cumanensis* (Altamisa), *Psidium guajaba* (Guayabo), *Aloe vera* (Sábila) sobre la motilidad del intestino delgado en animales de experimentación.

2.0 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.1 Obtener extractos hasta resina sólida de las hojas de *Ambrosia cumanensis* (Altamisa), *Psidium guajaba* (Guayabo) y *Aloe vera* (Sábila).
- 2.2 Comprobar la presencia de metabolitos secundarios presentes en los extractos de las tres especies vegetales.
- 2.3 Establecer el rango de concentración en que los extractos presentan el efecto antiespasmódico sobre el intestino delgado (duodeno) en animales de experimentación.
- 2.4 Realizar el aislamiento del intestino delgado (duodeno) en animales de experimentación.

MARCO TEORICO

En las alteraciones de la motilidad de los diferentes órganos (estómago, intestino delgado, colon) suele suscitarse dolor abdominal tipo cólico, a menudo después de comer. La localización del dolor puede indicar la fuente de origen más probable; epigastrio en estómago, periumbilical o generalizado en el intestino delgado o en los cuadrantes inferiores, en el caso del colon. De hecho, el dolor referido a partir de la localización anatómica, puede surgir en cualquiera de los cuadrantes abdominales.

(10)

Para fines de la investigación, es necesario conocer los siguientes términos:

- Cólico: dolor visceral agudo originado por torsión, obstrucción, o espasmo del músculo liso de un órgano hueco o tubular, como el uréter o los intestinos.(4)
- Cólico Intestinal: dolor espasmódico en los trastornos intestinales.(3)
- Espasmo: contracción muscular involuntaria de aparición brusca como contracciones habituales.(4)
- Antiespasmódico: que previene o cura las afecciones espasmódicas. Agente que suprime el espasmo.(4)

Las funciones motoras gastrointestinales dependen del músculo liso cuyas características específicas son las siguientes: fibras pequeñas (habitualmente de 2 a 5 micras de diámetro y tan sólo 20 a 500 micras de longitud). El músculo liso de cada órgano se distingue del de la mayoría de órganos de varias maneras: dimensiones físicas, organización en haces o vainas, respuestas a diferentes tipos de estímulos, características de su inervación y función. El músculo liso se divide en dos tipos principales: músculo liso multiunitario y músculo liso unitario (o de unidad única). ⁽¹⁰⁾

Músculo liso multiunitario: este tipo de músculo liso, está compuesto de fibras musculares lisas separadas, cada fibra opera independientemente de las otras y con frecuencia es inervada por una única terminación nerviosa, la característica más importante de las fibras musculares lisas multiunitarias es que cada fibra puede contraerse independientemente de las otras y que su control se ejerce principalmente por señales nerviosas. Algunos ejemplos de éste músculo son el iris del ojo, el músculo ciliar del ojo, etc. ⁽¹⁰⁾

Músculo liso unitario: significa que una masa de cientos a millares de fibras musculares pueden contraerse juntas como si fueran una sola unidad. Las fibras están habitualmente asociadas en capas o haces, y sus membranas celulares se adhieren unas a otras en muchos puntos de forma que la fuerza generada en una

fibra muscular puede transmitirse a la siguiente . Además, las membrana celulares están unidas por muchas uniones intercelulares comunicantes que permiten el flujo libre de iones de una célula a otra, de forma que los potenciales de acción de los iones pueden viajar de una fibra muscular a la siguiente y hacer que las fibras se contraigan a la vez. Este tipo de músculo liso se conoce también como músculo liso sincitial, debido a las interconexiones sincitiales entre sus fibras. Este músculo se encuentra en las paredes de la mayoría de las vísceras del cuerpo incluyendo el intestino, útero, conductos biliares, se conoce también como músculo liso visceral. (10)

La base Química de la contracción del músculo liso es que contiene filamentos de actina y de miosina, el proceso contráctil se activa por iones calcio y la energía para la contracción es suministrada por la degradación del trifosfato de adenosina (ATP) a difosfato de adenosina (ADP). (10)

El músculo liso gastrointestinal se excita por la actividad eléctrica que recorre las membranas de las fibras musculares. Esta actividad muestra dos tipos básicos de ondas eléctricas: Ondas lentas y puntas (agujas). (10)

Ondas lentas: la mayoría de las contracciones gastrointestinales son rítmicas y este ritmo está determinado por la frecuencia de las llamadas ondas lentas del potencial de membrana del músculo liso. Estas ondas, no son potenciales de acción, sino que constituyen cambios lentos y ondulantes del potencial de membrana en reposo.

Su intensidad suele variar entre 5 y 15 milivoltios y su frecuencia oscila en las distintas partes del aparato digestivo entre 3 y 12 por minuto. (10)

Potenciales en aguja: son verdaderos potenciales de acción. Se generan automáticamente cuando el potencial de reposo de la membrana del músculo liso gastrointestinal alcanza un valor más positivo que -40 milivoltios (el potencial normal en reposo de la membrana de las fibras del músculo liso gastrointestinal, varía de -50 a -60 milivoltios). (10)

Peristaltismo : es el movimiento básico de propulsión del tubo digestivo, alrededor del intestino se crea un anillo de contracción que se desplaza hacia delante, de forma análoga cuando se colocan los dedos alrededor de un fino tubo distendido, se contraen los dedos y se deslizan a lo largo del tubo. Cualquier material situado adelante del anillo de contracción se desplaza hacia adelante. El peristaltismo tiene la propiedad inherente a muchas estructuras tubulares con músculo liso sincitial; la estimulación de cualquier punto del mismo produce la aparición de un anillo de contracción en el músculo circular intestinal que, a continuación se propaga a lo largo del tubo. Así, el tubo digestivo, los conductores biliares, otros conductos glandulares del organismo, los uréteres y muchos otros tubos de músculo liso existentes en el organismo disponen de peristaltismo.

El estímulo habitual para el peristaltismo es la distensión del tubo digestivo. Esto es, si se concentra una gran cantidad de alimento en algún punto del tubo digestivo, la distensión de las paredes de éste estimula el sistema nervioso entérico para que contraiga la pared gastrointestinal situada 2 ó 3 cm. por encima de dicha zona, con lo que se forma un anillo de contracción que inicia el movimiento peristáltico.

Otros estímulos que desencadenan el peristaltismo son la irritación química o física del epitelio. Asimismo, muchas señales nerviosas parasimpáticas hacia el tubo digestivo inducen un fuerte peristaltismo.⁽¹⁰⁾

Características del Conejo: los conejos son omnívoros, pertenecen a la familia de los lagomorfos, suelen utilizarse como animales de experimentación debido a la anatomía y fisiología que estos presentan, el peso del conejo adulto es de 2-4 Kg. La temperatura corporal de 38° a 40° C, frecuencia respiratoria de 30-60 por minuto. Tiene un sistema digestivo con un ciego amplio, a la salida del íleon en el ciego hay una dilatación conocida como saco rotundo cuyas paredes contienen tejido linfático, el largo ciego esta enrollado como una espiral y su última parte tiene una gran cantidad de tejido. ⁽⁸⁾

De los anestésicos los barbitúricos han sido los de uso más difundido en las últimas décadas. Son compuestos derivados del ácido barbitúrico, constituyen un importante grupo entre los depresores del Sistema Nervioso Central, en la actualidad hay muchos entre ellos el pentotal sódico que es uno de los más empleados ya que inducen hipnosis y anestesia, se encuentra en solución al 6%, la dosis recomendada varía según la especie y el peso del animal de experimentación, por lo que se calcula para conejos 35 mg por Kg. de peso y para ratas 20 mg por Kg. de peso.(2)



CAPITULO I
DISEÑO METODOLOGICO

1. INVESTIGACIÓN BIBLIOGRAFICA

1.1 MONOGRAFIAS DE ESPECIES VEGETALES

1.1.1 ALTAMISA

Nombre Científico: ***Ambrosia cumanensis***

FAMILIA: Compuestas

Otros Nombres Comunes: Altamiz

Sinónimo: ***Ambrosia paniculata***

Lugar de Recolección: Zona central de País (Universidad de El Salvador)

Descripción Botánica

Planta usualmente erecta, de hojas pinnadas en pecíolos cortos o largos, triangulares o ovoides de 3 – 10 cm. de largo. Son perennes generalmente de menos de 1 metro de alto, simples ó ramificadas, las hojas color verde blanquecinas cubiertas en la parte inferior de largas vellosidades y profundamente bipinnatificadas.

Usos:

- Antiespasmódico
- Contra flujos femeninos

Análisis Fitoquímico Preliminar

Las hojas contienen : Alcaloides, Flavonoides, Taninos, Glicósidos

Saponínicos, Sesquiterpenlactonas y aceites esenciales.

1.1.2 GUAYABO

Nombre Científico: ***Psidium guajaba***

FAMILIA: Myrtacea

Otros Nombres Comunes: Guayaba (o)

Sinónimo: ***Psidium aromaticum***

Psidium pomiferum blanco

Psidium pyriferum jacq

Psidium sapidissimum c

Lugar de Recolección: Zona central del País (Cerro El Carmen Ayutuxtepeque)

Descripción Botánica

Es un árbol pequeño, más o menos de 2 - 4 metros de alto, con tallos ramificados, tortuosos, de madera dura, compacta y corteza con ritidoma de color rojizo; hojas opuestas, sencillas, coriáceas, elípticas, con 12.5 cm. de largo y 5.5 cm. de ancho regularmente; flores blancas colocadas en las axilas de las hojas con numerosos estambres y muy fragantes, el fruto es baya frecuentemente de 5 cm. de diámetro, liso con pulpa rosada ó blanca y numerosas semillas con la testa dura.

Usos:

- Antidiarreico
- Antiespasmódico
- Antiemético
- Antiparasitario
- Contra la disentería

Análisis Fitoquímico Preliminar

Las hojas contienen Flavonoides, Taninos, Sesquiterpenlactonas y aceites esenciales.

1.1.3 SABILA.

Nombre científico: ***Aloe vera***

FAMILIA: Liliáceas

Otros nombres comunes: Acíbar y Spicata

Sinónimo: ***Aloes vulgaris***

Lugar de recolección: Zona central del país (Colonia Montebello)

Descripción Botánica

La sábila es una planta muy cultivada en jardines, presenta un tallo corto y hojas grandes, carnosas, gruesas, rectas y convexas, miden entre 30 y 60 cm. de largo por 7 - 8 cm. de ancho, dispuestas en forma de rosetas basales (hasta 20). Suelen ser numerosas, alargadas, cóncavas en la parte superior y convexas en el envés, color verde o verde grisáceo (ocasionalmente manchadas) y con espinas de tonos claros en los bordes, rematadas con 2 ó 3 espinas pequeñas en el extremo. En las bases de las hojas se encuentran vasos conductores llenos de un látex de color amarillo oscuro de olor rancio y sabor amargo.

Sus flores presentan una tonalidad variable, rojiza amarillenta en forma de espiga piramidal, conformada por 6 piezas a lo largo de un pedúnculo de 25-35 cm. de altura. El fruto es una cápsula triangular delgada que encierra en su interior a las

semillas ,en su mayor parte son híbridas, crecen en suelos calcáreos, no muy ricos ni con demasiado sol ya que el mismo deseca las hojas y les confiere un tono amarronado. Su jugo o exudado es un líquido viscoso, cristalino de color café parduzco y muy amargo , el cuál es el resultado de la incisión de las hojas, denominado Acíbar (del griego : jugo de Aloe).

Usos

- Purgante
- Antiespasmódico
- Antiinflamatorio

Análisis Fitoquímico Preliminar

El acíbar contiene: alcaloides. Antraquinonas, taninos, Sesquiterpenlactonas, Glicósidos Saponínicos.

2.0 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 RECURSOS MATERIALES

2.1.1 Especies vegetales estudiadas (ver anexo N°1)

2.1.2 Especies animales de experimentación (ver anexo N°1)

2.1.3 Cristalería y materiales (ver anexo N°36)

2.1.4 Equipo (ver anexo N°37)

2.1.5 Reactivos (ver anexo N°37)

2.2 METODOLOGIA DE ANÁLISIS

2.2.1 Recolección y preparación de las plantas

Identificar botánicamente las especies vegetales en estudio. El lugar de recolección de las plantas, fue en los Jardines de la Universidad de El Salvador en el caso de ***Ambrosia cumanensis*** (Altamisa), cerro El Carmen de Ayutuxtepeque para ***Psidium guajaba*** (Guayabo) y la colonia Montebello en el caso de ***Aloe vera*** (Sábila), efectuándose dicha actividad en el mes de noviembre de 2003. La recolección de las plantas se llevó a cabo, cuidando que cada una de las hojas no estuvieran dañadas, ni afectadas por insectos, plagas y sin material extraño.

2.2.2 Tratamiento previo a la extracción para ***Ambrosia cumanensis*** (Altamisa) y ***Psidium guajaba*** (Guayabo).

Cortar las hojas de Altamisa y Guayabo, lavar con abundante agua de chorro, enjuagar con agua purificada y secar al aire libre durante una semana. Luego triturar las hojas secas manualmente a partículas más pequeñas.

2.2.3 Obtención de los extractos de las hojas de ***Ambrosia cumanensis*** (Altamisa) y ***Psidium guajaba*** (Guayabo).

Pesar 50 gramos de materia vegetal seca en un beaker de 1000 mililitros. Transferirlos a un balón fondo plano con capacidad de 1500 mililitros y agregar 1000 mililitros de alcohol etílico de 95° necesarios para cubrir la muestra. Posteriormente realizar la extracción por el método de reflujo por un período de 16 horas. Transcurrido este tiempo filtrar en caliente y almacenar los extractos etanólicos en frascos de vidrio color ámbar debidamente identificados, para protegerlos del polvo, la luz y la humedad.

De los extractos etanólicos obtenidos almacenar en otros frascos, 200 mililitros de cada uno de ellos, para posteriormente realizar las pruebas de identificación Fitoquímicas

2.2.4 Proceso de extracción del acíbar de ***Aloe vera*** (Sábila)

Cortar toda la planta desde el tallo, lavar con agua de chorro y luego con agua purificada, realizar una incisión en las hojas cerca del tallo para obtener su jugo o

exudado denominado acíbar. Pesar 50 gramos del acíbar obtenido y adicionar 100 mililitros de alcohol etílico de 95° y dejar macerar por 16 horas para luego envasar en frasco de vidrio color ámbar.

2.2.5 Proceso para la obtención de resina de *Ambrosia cumanensis*

(Altamisa) y *Psidium guajaba* (Guayabo)

Transferir por separado los extractos etanólicos de Altamisa y Guayabo, al Rotavapor (ver figura 5) y activarlo a 37 °C, concentrar hasta consistencia resinosa y envasar al final del proceso en frascos de vidrio color ámbar bien cerrados, protegidos de la luz y la humedad.

En el caso de la Sábila para realizar las pruebas cualitativamente en animales de experimentación , utilizar otra planta para obtener el acíbar y de esta manera preparar las concentraciones a utilizar para el ensayo in vivo.

2.2.6 Pruebas de identificación Fitoquímicas ⁽⁵⁾

De cada uno de los extractos etanólicos tomar 40 mililitros y concentrar en baño de maría hasta 20 mililitros y realizar pruebas de identificación Fitoquímicas para comprobar la presencia de los siguientes metabolitos secundarios.

2.2.7 Ensayos para determinar Alcaloides

A cada uno de los extractos concentrados, adicionar 25 mililitros de cloroformo y acidificar con ácido clorhídrico 1 N hasta pH entre 1 y 2

separar la capa ácida, dividir en tres porciones (ver figura 16) y realizar las siguientes pruebas:

- Dragendorff : a la primera porción, adicionar el reactivo de Dragendorff un precipitado anaranjado indica la presencia de alcaloides.(ver figura 17)
- Mayer : a la segunda porción, adicionar reactivo de Mayer. La formación de un precipitado amarillento indica la presencia de alcaloides.(ver figura 18)
- Wagner : a esta porción, adicionar el reactivo de Wagner. La formación de un precipitado café rojizo indica la presencia de alcaloides.(ver figura 19)

2.2.8 Ensayo para la determinación de Antraquinonas

Esta determinación se realiza mediante la siguiente prueba:

- Borntrager : evaporar a sequedad 5 mililitros del extracto concentrado , disolver el residuo con 30 mililitros de ácido clorhídrico 1N y filtrar, adicionar al filtrado 10 mililitros de Benceno, después añadir a la capa bencénica 5 mililitros de amoníaco. La formación de una coloración rosada intensa a roja en la capa alcalina indica la presencia de Antraquinona.(ver figura 20)

2.2.9 Ensayo para determinar Taninos

En este ensayo se realizarán las siguientes pruebas:

- Prueba con solución de Acetato de Plomo TS : a 2 mililitros de extracto concentrado agregar 1 mililitro de solución de acetato de plomo.

La formación de un precipitado amarillo indica la presencia de Taninos.
(ver figura 21)

- Prueba con solución de Tricloruro de Hierro al 5% : a 2 mililitros del extracto concentrado agregar tres gotas de solución de tricloruro de hierro . El desarrollo de coloraciones que van de azul oscuro a verde y a gris oscuro indica la presencia de taninos.(ver figura 22)
- Prueba con solución de Gelatina al 10%: a 2 mililitros del extracto concentrado agregar 2 mililitros de solución de gelatina. La formación de un precipitado color blanco indica la presencia de taninos.(ver figura 23)
- Prueba con solución de Clorhidrato de Quinina 1% : agregar a 2 mililitros del extracto concentrado , 2 mililitros de solución de Clorhidrato de Quinina . La formación de un precipitado blanco amarillento indica la presencia de Taninos. (ver figura 24)
- Prueba con solución de Dicromato de Potasio al 5% : agregar a 2 mililitros de extracto, 10 gotas de Dicromato de Potasio al 5%. La formación de un precipitado color café indica la presencia de taninos.(ver figura 25)
- Prueba con solución de agua de Bromo TS : a 2 mL del extracto agregar 3 gotas de agua de Bromo. La formación de un precipitado ligeramente verde indica la presencia de taninos.(ver figura 26)

2.2.10 Ensayos para identificar Sesquiterpenlactonas

Tratamiento previo del extracto etanólico: precipitar la clorofila del extracto con cantidad suficiente de solución de sub acetato de plomo TS , dejar reposar por 30 minutos y filtrar. Colocar el filtrado en una ampolla de separación y extraer con 2 porciones de 20 mL de cloroformo, cada una y luego eliminar el exceso de acetato de plomo con lavados de agua destilada, dividir el extracto clorofórmico en 3 porciones, evaporar a sequedad en baño maría, cada una de ellas separadamente.(ver figura 27)

- Pruebas de Hidroximatos Férricos : la fracción uno más solución de Clorhidrato de Hidroxilamina y Cloruro Férrico al 1% en Hidróxido de potasio da una coloración violeta que indica la presencia de Sesquiterpenlactonas (ver figura 28)
- Prueba con reactivo de Baljet : agregar a la fracción dos el reactivo de Baljet . El viraje de coloración anaranjado a rojo oscuro indica la presencia de Sesquiterpenlactonas.(ver figura 29)
- Prueba con reactivo de Legal : agregar a la fracción tercera 2 a 3 gotas de piridina, 5 gotas de Nitroprusiato de sodio 0.5%, y de 2 a 5 gotas de Hidroxido de sodio al 2 N. La formación de una coloración rojo intenso indica la presencia de Sesquiterpenlactonas.(ver figura 30)

2.2.11 Ensayo para determinar Glicósidos Saponínicos

- Prueba de Índice de Espuma : a 5 mL del extracto etanólico adicionar 10 mL de agua destilada , agitar 30 segundos y dejar reposar por 5 minutos. La presencia de una espuma mayor de 3 centímetros arriba de la superficie del líquido la cual debe permanecer por un período no menor de 5 minutos indica la presencia de Glicósidos Saponínicos.(ver figura 31)
- Prueba de Lieberman – Burchard : concentrar 40 mL del extracto etanólico hasta 20 mL, tomar 10 mL del extracto concentrado y agregar 5 mL de ácido Sulfúrico diluido al 10 %. Hervir cuidadosamente durante 10 minutos; enfriar y colocar en un embudo de separación, adicionar 20 mL de cloroformo y agitar. Separar el extracto cloroformico y concentrar hasta 2 mL, añadir 1 mL de anhídrido Acético y 3 gotas de ácido Sulfúrico concentrado . La formación de un anillo violeta indica la presencia de Glicósidos Saponínicos (esta prueba se debe de realizar en baño de hielo).(ver figura 32)
- Prueba de Salkowski : tomar 3 mL del extracto concentrado y agregar 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado, gota a gota por las paredes del tubo. La formación de un anillo color vino indica la presencia de Glicósidos Saponínicos. Esta prueba debe realizarse en baño de hielo) (ver figura 33)

2.2.12 Ensayos para determinar Glicósidos Flavonoides

- Prueba de Shinoda o de la Cianidina : concentrar 10 mL del extracto hasta 5 mL, al concentrado añadir una lámina de magnesio metálico y 1 mL de ácido Clorhídrico concentrado el color rojo indica la presencia de Glicósidos Flavonoides.(ver figura 34)

Para determinar las concentraciones utilizadas para los ensayos *in vivo* y de órgano aislado, tanto las resinas obtenidas a partir de los extractos etanólicos de Altamisa y de Guayabo, como el acíbar obtenido de una nueva planta de Sábila, fueron sometidos a un nuevo procedimiento con el objeto de establecer el rango de concentración al cual se presentó el efecto antiespasmódico sobre el intestino delgado (duodeno).

Para ello se realizaron diferentes diluciones, utilizando agua destilada como solvente, y la adición de una gota de propilenglicol, para facilitar la formación de una solución homogénea. De esta forma, se prepararon las siguientes concentraciones, a partir de las resinas y acíbar respectivamente, de las tres especies vegetales: 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 1.5 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5.0 mg/mL.

2.2.13 ACCIÓN SOBRE EL PERISTALTISMO (cualitativamente)

PRIMER ENSAYO:

Realizar las pruebas con 3 conejos como animales de experimentación, uno para cada especie vegetal, Altamisa, Guayabo y Sábila. mantener los conejos en ayunas

por 24 horas, pesar cada uno en una balanza granataria (ver figura 6) y luego inyectar intramuscularmente con Pentotal Sódico 6% en la parte dorsal tomando como base para el conejo 35 mg/Kg. de peso, colocarlo en una bandeja de disección (ver figura 7) y esperar de 3 – 8 minutos que esté bien anestesiado, proceder a rasurar y realizar una incisión de 3 – 5 cm. en la región baja del tórax, explorar específicamente en el duodeno (ver figura 8 y 9) y observar los movimientos peristálticos del intestino normales, luego agregar 3 gotas de Acetilcolina a una concentración de 1/50.000 , con el fin de estimular los movimientos peristálticos del músculo liso (duodeno), es decir provocar el espasmo, posteriormente agregar 3 gotas de extracto a las siguientes concentraciones (0.5 mg/ mL, 1.0 mg/mL, 1.5 mg/mL, 2.5mg/mL, 5.0mg/mL) al comprobar el efecto antiespasmódico con la concentración de 0.5 mg/mL, observar la disminución de los movimientos peristálticos, luego lavar el intestino con la solución de Ringer la cual mantiene el estado fisiológico normal de este, adicionar nuevamente 3 gotas de Acetilcolina y probar la siguiente concentración, realizar el mismo procedimiento con cada una de las concentraciones.

SEGUNDO ENSAYO:

Realizar el mismo procedimiento que en el primer ensayo con otros 3 conejos y con 3 ratas albinas las cuales son empleadas una para cada especie vegetal, dejarlas por 24 horas en ayuno antes del experimento, pesar cada una en balanza

granataria e inyectar intramuscularmente con Pentotal Sódico al 6% tomando como base 20 mg/Kg. de peso y para el conejo la cantidad establecida en el primer ensayo, una vez anestesiados, realizar la incisión en la parte baja del tórax y explorar el intestino delgado (duodeno) agregar 3 gotas de Acetilcolina 1/50.000, probar con 3 gotas de las concentraciones siguientes : 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL y 5.0 mg/mL, lavar con Ringer después de cada concentración, y observar la disminución de los movimientos peristálticos del intestino. Estas 3 concentraciones probadas in vivo se utilizarán como parámetro para el ensayo de órgano aislado Cuantitativamente.

2.2.14 ACCIÓN SOBRE ÓRGANO AISLADO (cuantitativamente)

Para determinar el efecto Antiespasmódico producido por el extracto de las hojas de ***Aloe vera*** (Sábila), ***Ambrosia cumanensis*** (Altamisa) y ***Psidium guajaba*** (Guayabo) sobre el músculo liso del duodeno, utilizar ratas albinas de un peso aproximado a 180g. en ayuno después de 24 horas , hacer una disección de las carótidas, tomar inmediatamente la región baja del tórax (laparotomía) (ver figura 10) mediante un fragmento de 8 a 10 cm. de duodeno libre de su mesenterio (ver figura 11 y 12), sumergir en un baño con Tyrode y lavar con jeringa. Aislar un fragmento de 1.5 a 2 cm. y hacer dos ligaduras flojas, colocar el órgano aislado en la cuba especial y efectuar el siguiente montaje:

ELEMENTOS Y MONTAJE DE UN BAÑO DE ORGANOS

En un baño de órganos se consideraron los siguientes elementos importantes:

(ver figura 14 y 15)

- Cuba de vidrio para órgano : en la que se dispone la preparación mediante un sistema de sujeción, es decir el extremo inferior del órgano aislado fijar a una varilla oxigenadora y el otro extremo a una varilla de inscripción . La cuba está inmersa en el baño y debe permanecer llena de solución nutritiva. Para cambiar la solución vaciar por drenaje inferior. En cualquier caso, el llenado se efectúa siempre al mismo nivel, es decir, con el mismo volumen. El volumen de solución del extracto añadido, no debe ser mayor del 10% del volumen total.
- Termostato: controla la temperatura del baño , que es diferente según la preparación, en este caso de 36.5 – 37 °C , El sistema de termostato debe ser preciso, ya que oscilaciones de más o menos 1 °C, pueden afectar notablemente la reactividad del preparado.
- Reservorio de solución nutritiva: que se sitúa suspendido a mayor altura que el baño para permitir el llenado de la cuba.
- Serpentin : que inmerso dentro del baño, calienta la solución nutritiva (Tyrode) en su recorrido desde el reservorio hasta la cuba.
- Aireación : a través de conducciones adecuadas a partir de aireadores o botellas de oxígeno o carbógeno (95 % de O₂ y 5 % de CO₂).

normalmente termina en una boquilla burbujeadora en forma de L, inmersa en la cuba en cuyo extremo se une la parte inferior de la preparación (duodeno aislado).

El intestino aislado debe quedar en reposo durante aproximadamente 20 minutos haciendo durante ese intervalo de tiempo, varios lavados con Tyrode tibio, al tener el fragmento del intestino estable se inicia el experimento adicionándole 3 gotas la sustancia espasmódica (Acetilcolina 1/50,000) esta provoca sobre el duodeno una contracción rápida, después de unos minutos agregar 3 gotas del extracto de Altamisa a una concentración de 0.5 mg /mL con la cuál se disminuyen las contracciones , hacer tres lavados con Tyrode tibio y un reposo de unos dos minutos entre cada prueba, repetir con la misma concentración hasta obtener una respuesta idéntica. Para este experimento probar concentraciones de 0.5 mg/mL , 1.0 mg/mL y 5.0 mg/mL, para cada uno de los extractos, y comprobar por medio del registro del polígrafo el efecto antiespasmódico .

CAPITULO II
RESULTADOS

TABLA N°1 RESULTADOS DE ANALISIS FITOQUIMICO

Metabolitos Secundarios	Especie vegetal		
	Altamisa (<i>Ambrosia cumanensis</i>)	Guayabo (<i>Psidium guajaba</i>)	Sábila (<i>Aloe vera</i>)
ALCALOIDES			
Dragendorff	(+)	(-)	(+)
Mayer	(+)	(-)	(+)
Wagner	(+)	(-)	(+)
ANTRAQUINONAS			
Borntrager	(-)	(-)	(+)
TANINOS			
SIn de Acetato de Plomo TS	(+)	(+)	(+)
Tricloruro de Hierro al 5%	(+)	(+)	(+)
Solución de Gelatina al 10%	(+)	(+)	(+)
Clorhidrato de Quinina al 1%	(+)	(+)	(+)
Dicromato de Potasio al 5%	(+)	(+)	(+)
Agua de Bromo TS	(+)	(+)	(+)
SESQUITERPENLACTONAS			
Hidroximato Férrico	(+)	(+)	(+)
Baljet	(+)	(+)	(+)
Legal	(+)	(+)	(+)
GLICOSIDOS SAPONINICOS			
Índice de espuma	(+)	(-)	(+)
Lieberman-Burchard	(+)	(-)	(+)
Salkowski	(+)	(-)	(+)
GLICOSIDOS FLAVONOIDES			
Shinoda o Cianidina	(+)	(+)	(-)

(+) = Positivo

(-) = Negativo

TABLA No.2 RESULTADO DE LAS CONCENTRACIONES PROBADAS EN
EL INTESTINO DELGADO (DUODENO) DE CONEJO IN VIVO

Especie Vegetal	CONCENTRACIONES	TIEMPO
	mg/mL	Min.
	0.5	4.0
	1.0	3.0
ALTAMISA	1.5	2.0
	2.5	2.0
	5.0	1.0
	0.5	5.0
	1.0	4.0
GUAYABO	1.5	3.0
	2.5	3.5
	5.0	2.0
	0.5	6.0
	1.0	5.5
SABILA	1.5	3.0
	2.5	3.0
	5.0	2.5

TABLA No. 3 RESULTADO DE LAS CONCENTRACIONES PROBADAS EN EL
INTESTINO DELGADO DE CONEJO IN VIVO

Especie Vegetal	CONCENTRACIONES	TIEMPO
	mg/mL	Min.
ALTAMISA	0.5	4.0
	1.0	3.0
	5.0	1.0
GUAYABO	0.5	5.0
	1.0	4.0
	5.0	2.0
SABILA	0.5	6.0
	1.0	5.5
	5.0	2.5

TABLA No. 4 RESULTADOS DE LAS CONCENTRACIONES PROBADAS EN EL
INTESTINO DELGADO DE RATA IN VIVO

Especie Vegetal	CONCENTRACIONES	TIEMPO
	mg/mL	Min.
ALTAMISA	0.5	2.5
	1.0	2.0
	5.0	1.0
GUAYABO	0.5	4.0
	1.0	3.0
	5.0	1.0
SABILA	0.5	5.0
	1.0	4.5
	5.0	2.0

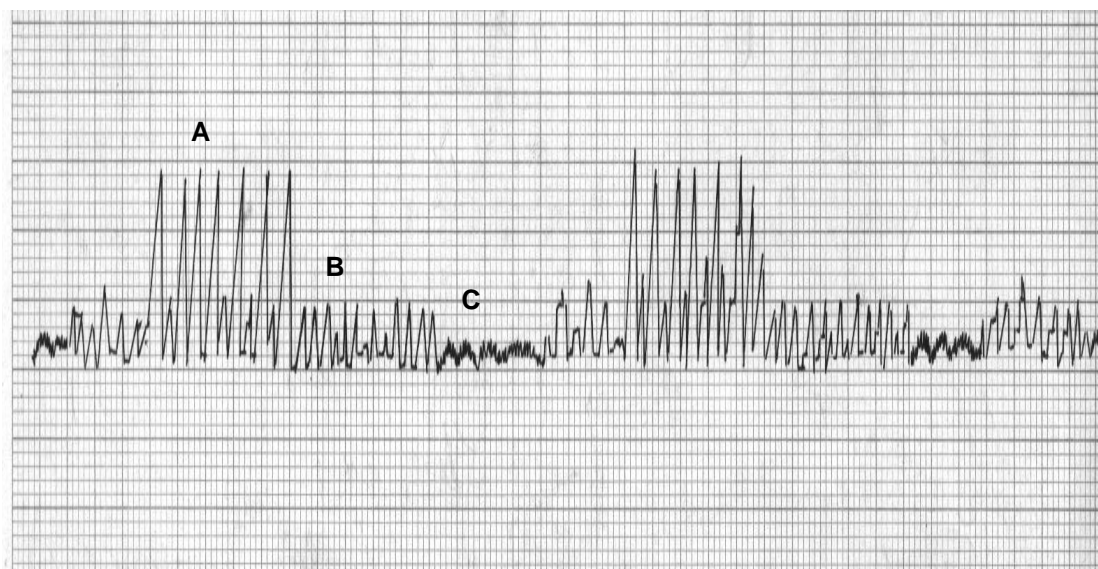


Figura N°1 Grafica de Registro de Altamisa a una concentración de 1.0 mg/mL

A : Acetilcolina

B : Extracto de Altamisa 1.0 mg/mL

C : Lavados con solución de Tyrode

El registro indica la adición de Acetilcolina (A) que provoca el espasmo , posteriormente al adicionar el extracto de Altamisa (B) la altura de las agujas disminuye un 50%, luego se registran los movimientos normales del intestino (C) al adicionar la solución de Tyrode.

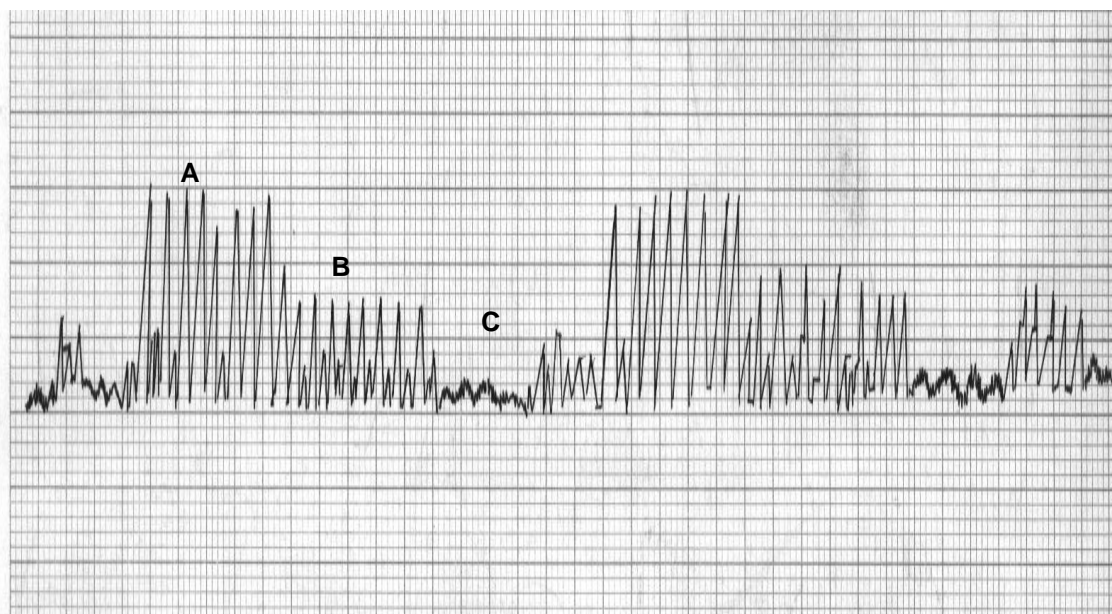


Figura N°2 Grafica de Registro de Guayabo a una concentración de 1.0 mg/mL

A : Acetilcolina

B : Extracto de Guayabo 1.0 mg/mL

C : Lavados con solución de Tyrode

El registro indica la adición de Acetilcolina (A) que provoca el espasmo , posteriormente al adicionar el extracto de Guayabo (B) la altura de las agujas disminuye un 55%, luego se registran los movimientos normales del intestino (C) al adicionar la solución de Tyrode.

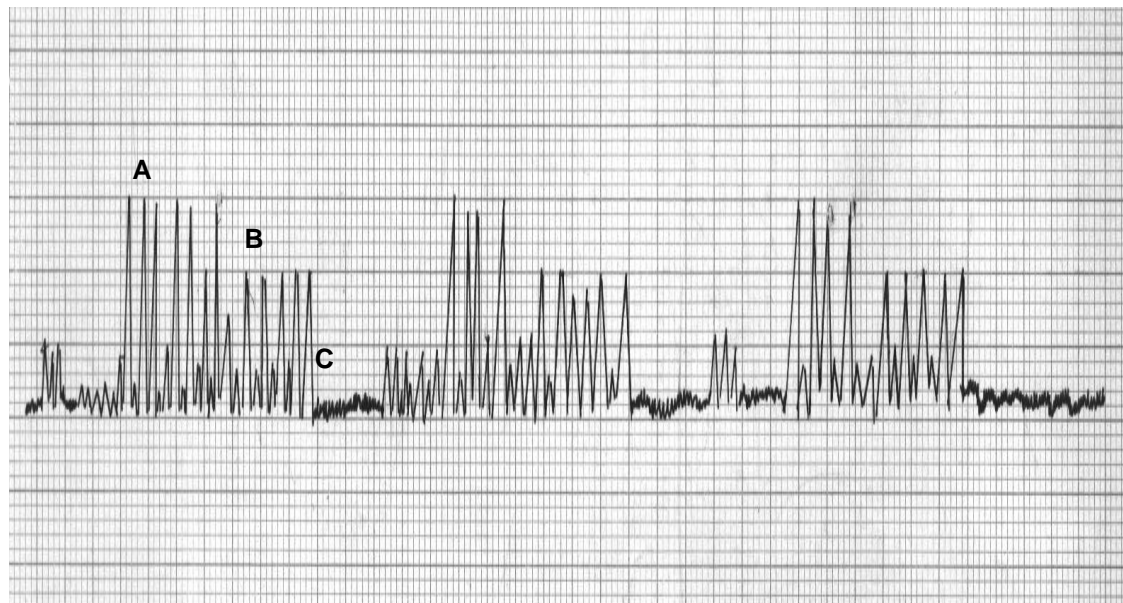


Figura N°3 Grafica de Registro de Sábila a una concentración de 1.0 mg/mL

A : Acetilcolina

B : Extracto de Sábila 1.0 mg/mL

C : Lavados con solución de Tyrode

El registro indica la adición de Acetilcolina (A) que provoca el espasmo , posteriormente al adicionar el extracto de Sábila (B) la altura de las agujas disminuye un 60%, luego se registran los movimientos normales del intestino (C) al adicionar la solución de Tyrode.

CAPITULO III
DISCUSION DE RESULTADOS

3.1 Discusión del Análisis Fitoquímico Preliminar.

Después de realizar el análisis Fitoquímico preliminar, es importante destacar que en las tres especies vegetales estudiadas, el 99% dan positivo a la prueba de Taninos y Sesquiterpenlactonas, mientras que únicamente el 1% da positivo a la prueba de Antraquinonas. En cuanto a los demás metabolitos, están presentes en porcentajes intermedios, por ejemplo: los Alcaloides, Glicósidos Flavonoides y Glicósidos Saponínicos, se encuentran en un 65% (Ver tabla N°1).

En cuanto a las plantas que mayor número de metabolitos poseen, se encuentran la Altamisa y Sábila, con cinco metabolitos, exceptuando en la Altamisa las Antraquinonas, y en la Sábila los Glicósidos Flavonoides. Mientras que el Guayabo presenta positivas las pruebas para Taninos, Sesquiterpenlactonas y Glicósidos Flavonoides (Ver tabla N°1).

3.2 Interpretación de los resultados del Análisis Fitoquímico Preliminar.

La presencia de metabolitos secundarios, es la responsable no sólo de la actividad antiespasmódica, sino de cualquier efecto que pueda provocar en el ser humano; por lo cual son estas sustancias las que representan el objeto de estudio de las especies vegetales.

Los metabolitos investigados fueron: Alcaloides, Antraquinonas, Taninos, Sesquiterpenlactonas, Glicósidos Saponínicos y Glicósidos Flavonoides, para los que se utilizaron técnicas de análisis específicas en cada uno de ellos.

En los resultados del análisis de las especies vegetales estudiadas (ver tabla N°1) se puede observar que la mayoría contiene Taninos, debido a que éstos le sirven a la planta como mecanismo de defensa, para la formación de los ácidos de los frutos y farmacológicamente poseen propiedades astringentes, antidiarreicas y antibacterianas (debido a que al precipitar las proteínas, destruyen la pared celular de las bacterias). En cuanto a las Antraquinonas, sólo se confirmó su presencia en el extracto de Sábila, ya que estos compuestos son más escasos en la naturaleza, y sólo se han encontrado derivados antraquinónicos, en la familia de las Liliáceas, como el caso de la Sábila. Farmacológicamente poseen propiedades analgésicas y antiinflamatoria

Resultados positivos que confirman la presencia de Glicósidos Flavonoides, se presentaron en un 65% de las pruebas realizadas. Estas sustancias son las responsables de proporcionar color o pigmentación a las diferentes partes de las

plantas, específicamente a las flores. Farmacológicamente tienen actividad antiespasmódica, la cual contribuye a aliviar procesos diarreicos.

Las pruebas para determinar la presencia de Sesquiterpenlactonas, dieron positivo en los extractos de las tres especies vegetales estudiadas. Se encuentran en las partes aéreas de la familia de las compuestas (Altamisa). Entre las características farmacológicas de las Sesquiterpenlactonas, se encuentran las propiedades analgésicas, amebicidas y antimicrobianas.

Las pruebas para determinar la presencia de Glicósidos Saponínicos, dieron positivo en el 65% de los extractos preparados de las tres especies. Estos aumentan la absorción de sustancias como los alcaloides, coadyuvando así, a aliviar muchas enfermedades como la diarrea.

Las pruebas para determinar la presencia de Alcaloides, dieron positivo en el 65% de los extractos de las tres especies. Son compuestos que constituyen un grupo heterogéneo de base vegetal nitrogenada, tienen propiedad fisiológica y farmacológicamente como anestésicos locales, antisépticos y analgésicos.

Las pruebas realizadas para la determinación de la presencia de los diferentes metabolitos, lo hacen de una forma general, es decir que no son capaces de identificar o diferenciar cada uno de los derivados de cada grupo. En ese sentido, no se puede especificar a qué metabolito corresponde la actividad antiespasmódica, ya que también existe la posibilidad de un sinergismo entre todos los componentes.

3.3 Discusión de resultados de Acción sobre el Peristaltismo

(Cualitativamente)

En un primer ensayo se probaron cada uno de los extractos de las tres especies vegetales a las siguientes concentraciones: 0.5 mg/mL , 1.0 mg/mL , 1.5 mg/mL , 2.5 mg/mL y 5.0 mg/mL , se toma el tiempo en que cada concentración realiza el efecto antiespasmódico en el intestino delgado (duodeno) de conejo (ver tabla N° 2) . Es importante mencionar que de estas concentraciones en un segundo ensayo solo se emplearon: 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL y 5.0 mg/mL, probándose en el intestino de tres ratas albinas y tres conejos.(ver tabla N° 3 y 4)

De las cinco concentraciones se descartaron 1.5 mg/mL y 2.5 mg/mL ya que los movimientos peristálticos observados no se definían muy bien y en estas concentraciones eran similares.

Con la concentración de 0.5 mg/mL se visualiza una disminución de los movimientos peristálticos a un mayor tiempo, en el caso de 1.0 mg/mL a un menor tiempo se observa que los movimientos peristálticos en el duodeno se asemejan a los movimientos que presenta el intestino delgado (duodeno) en condiciones normales y a una concentración de 5.0 mg/mL en un tiempo muy corto produce una espasticidad es decir casi se paralizan los movimientos peristálticos del intestino delgado. Observándose este efecto en un mayor grado en Altamisa en comparación con el Guayabo y Sábila.

3.4 Interpretación de los resultados de Acción sobre el Peristaltismo

(Cualitativamente)

Con esto se determinará si las plantas en estudio poseen la actividad antiespasmódica.

Con la concentración de 0.5 mg/mL con el extracto de Altamisa en un tiempo de 4 minutos se visualizó una disminución de los movimientos peristálticos, observándose esta disminución en menor tiempo en la Altamisa con respecto a al Guayabo y Sábila.

En el caso de la concentración de 1.0 mg/mL en el extracto de Altamisa en un tiempo de 3 minutos se visualiza una disminución del peristaltismo mucho más marcada que en la concentración anterior y en menor tiempo que la misma concentración del Guayabo y Sábila.

Con la concentración de 5.0 mg/mL en el extracto de Altamisa en un tiempo de 1 minuto se observa una disminución casi total de los movimientos peristálticos del intestino delgado (duodeno), similar efecto se observa en el Guayabo y Sábila pero a diferente tiempo.

Este ensayo se realizó con las mismas concentraciones en ratas albinas y conejos, y da la pauta para realizar posteriormente los ensayos en órgano aislado (cuantitativamente)

3.5 Discusión de resultados en la Acción sobre Órgano Aislado

(Cuantitativamente)

Para llevar a cabo este ensayo se utilizan las concentraciones de 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL y 5.0 mg/mL, los cuales se probaron en el intestino delgado (duodeno) aislado de ratas albinas, un animal para cada extracto.

Luego de haber ensayado con las tres concentraciones de cada una de las tres especies vegetales, el que define mejor el efecto antiespasmódico es con la concentración de 1.0 mg/mL para cada uno de los tres extractos, el órgano aislado unido a un transductor amplifica la señal eléctrica y la registra por medio de un polígrafo, en el registro queda plasmado la tendencia de la actividad de Acetilcolina (sustancia que provoca el espasmo), el extracto de especie vegetal (antiespasmódica) y solución de Tyrode (solución nutritiva).

(ver grafica N°1,2 y 3)

3.6 Interpretación de los resultados en la Acción sobre órgano Aislado

(Cuantitativamente)

Para determinar el efecto antiespasmódico producido por el extracto de Altamisa, Guayabo y Sábila sobre duodeno aislado, se hicieron varios ensayos con las concentraciones anteriormente mencionadas, utilizando tres ratas albinas, a las cuales se les extrajo una porción del intestino (duodeno) que se mantuvo viva en un baño de órganos a 37 °C , manteniéndolo en Tyrode y haciendo pasar una corriente de aire continúa constituida por : 95 % de oxígeno y 5% de CO₂.

Al inicio del ensayo los movimientos peristálticos eran normales ; inmediatamente después , se agregó a la porción del intestino 3 gotas de la sustancia espasmódica (Acetilcolina 1/50.000) este provoca sobre el duodeno una contracción de 2 – 4 cm. de alto sobre el aparato registrador (polígrafo) , después de unos minutos de agrega 3 gotas del extracto de Altamisa a una concentración de 1.0 mg/mL observándose en el registrador que la curva disminuye de un 45 – 55 % de la contracción provocada por la Acetilcolina es decir se esta dando el efecto antiespasmódico, hacer tres lavados con Tyrode tibio y reposar 2 minutos entre cada prueba, repetir el ensayo con la misma concentración hasta obtener una respuesta idéntica en el registro.

CAPITULO IV
CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1 - Los tres extractos etanólicos de las tres especies vegetales presentaron el efecto antiespasmódico a diferentes concentraciones y tiempos.
- 2 - Los resultados positivos de las pruebas Fitoquímicas preliminares pueden representar el punto de partida para futuros trabajos de investigación en los cuales los principios activos pueden aislarse para identificar específicamente cuál es el metabolito causante del efecto antiespasmódico.
- 3 - El método de maceración es el más adecuado para obtener los extractos vegetales, puesto que hay menos posibilidad de destrucción de los componentes termolábiles.
- 4 - En el estudio se comprobó que con el rango de concentración de 0.5 mg/mL a 5.0 mg/mL se da el efecto antiespasmódico.
- 5 - En el extracto de Altamisa se observó que con la concentración de 1.0 mg/mL la disminución de los movimientos peristálticos en el duodeno fue más notoria a un menor tiempo en comparación con el extracto de Guayabo y Sábila, comprobándose cuantitativamente por medio de los registros obtenidos.

CAPITULO V
RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES.

- 1 - Para la realización de estudios farmacológicos se recomienda crear un bioterio, o en su ausencia, establecer convenios estratégicos con otras Instituciones que tengan este tipo de centros de investigación.

- 2 - En base a las investigaciones farmacognósticas, farmacológicas y preclínicas, es necesario continuar con futuros estudios toxicológicos y clínicos, para garantizar la calidad, eficacia y seguridad, de las plantas en estudio.

- 3 - Al utilizar plantas medicinales para prevenir o curar una dolencia, no se debe abusar del consumo de éstas, ya que con tratamientos muy prolongados puede desencadenar efectos adversos que pueden ser perjudiciales para la salud del ser humano.

- 4 - Al realizar el proceso de extracción de los metabolitos en especies vegetales, se recomienda trabajar a temperaturas no muy altas, debido a que éstas poseen componentes termolábiles. Por lo cual es conveniente utilizar los métodos de maceración o percolación.

- 5 - Es necesario identificar la naturaleza de los metabolitos secundarios que se presentan en los extractos, dándole continuidad a estos estudios a fin de aislar los principios activos, para posteriormente elaborar una forma farmacéutica que ayude a curar o aliviar procesos espasmódicos.

- 6- Se recomienda que se lleve a cabo un diseño estadístico que involucre más animales de experimentación, para obtener así resultados más confiables que comprueben el efecto antiespasmódico.

BIBLIOGRAFIA

1. Bennett, JC. 1997. Cecil Tratado de Medicina Interna. 20 ed. Distrito Federal, Me. Mc Graw-Hill Interamericana. v.1, p. 718-796.
2. Cursillo de Capacitación sobre cuidado , manejo y uso de animales de Laboratorio (1,2003, Guatemala, Gu) 2003. Guatemala, Gu. p. 90-98.
3. Diccionario enciclopédico Terranova. Editores Colombia . 1996. 1520 P.
4. Diccionario Mosby de Medicina y Ciencias de la Salud. 1995. Madrid, Es. Mosby / Doyma libros. 1087 p.
5. Domínguez, XA . 1973. Métodos de Investigación fitoquímica . Distrito Federal, Me. Editorial Limusa.
6. Evans, WCh. 1991. Farmacognosia Trease y Evans. 13 ed. Distrito Federal, Me. Mc Graw - Hill Interamericana. 901 p.
7. Germosén – Robineau , L y otros. 1997. Farmacopea Vegetal Caribeña. Santo Domingo, RD. Editorial Tramil. 361 p.
8. Gordon , A . 1986 . Zoología General . Distrito Federal , Me . Editorial Continental. p. 125-126.
9. Gupta, M. 1995. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Santa Fé de Bogotá, Co. Editorial Presencia Ltda. 617 p.
10. Guyton , AC . 2001 . Tratado de Fisiología Médica. 10 ed. Distrito Federal, Me. Mc Graw-Hill Interamericana. 1280 p.

11. OPS (Organización Panamericana de la Salud) Seminario Nacional de Plantas Medicinales y II Exposición Nacional de Plantas Medicinales y Productos Derivados (5, 1990, Alta Verapaz, Gu) 1990 . Memorias. Alta Verapaz, Gu. Oficina Sanitaria Panamericana, 120 p
12. OPS (Organización Panamericana de la Salud) Seminario Nacional de Plantas Medicinales y VI Exposición Nacional de las Plantas Medicinales y Productos Derivados (9, 1996, Izabal, Gu) 1996. Biodiversidad de plantas medicinales: Conservación y Manejo. Izabal, Gu. Oficina Sanitaria Panamericana, 140 p.
13. OPS (Organización Panamericano de la Salud) Seminario Nacional de Plantas Medicinales y X exposición Nacional de Plantas Medicinales y Productos Derivados (2000, Ciudad de Guatemala, Gu) 2000. Planta Medicinales para el Nuevo Milenio: Educación para su uso. Ciudad de Guatemala, Gu. Organización Panamericana de la Salud, 122 p.
14. UES (Universidad de El Salvador) y otros. 1989. PLANTER, Obtención y Aprovechamiento de Extractos Vegetales de la flora Salvadoreña. El Salvador. v.1, 619 p.

GLOSARIO (3)

- Antiespasmódico: que previene o cura las afecciones espasmódicas.

Agente que suprime el dolor.

- Aovado: de figura de huevo . Hoja redondeada en la parte del pecíolo.

- Baya: fruto de ciertas plantas, carnoso y jugoso, que contiene semillas rodeadas de pulpa.

- Carótida : cada una de las dos arterias que se encuentran a cada lado del cuello

- Cólico: dolor visceral agudo originado por torsión, obstrucción o espasmo del Músculo liso de un órgano hueco o tubular, como el uréter o los intestinos.

- Cólico intestinal: dolor espasmódico en los trastornos intestinales.

- Coriácea : hoja de consistencia dura.

- Duodeno: primero de los intestinos delgados; comunica directamente con el estómago y remata en el yeyuno.

- Espasmo: contracción muscular involuntaria de aparición brusca como Contracciones habituales.

- Látex: jugo lechoso de composición muy compleja contenido en los vasos laticíferos de los vegetales y del que se obtiene muy diversas sustancias.

- Mesenterio: repliegue del peritoneo que mantiene en su posición los intestinos, sujetándolos a las paredes abdominales.

- Parénquima: cualquiera de los tejidos vegetales constituidos por células de forma aproximadamente esférica o cúbica.
- Pecíolo: pezón de las hojas.
- Perenne: que vive más de dos años, es decir que permanece vivo en invierno.
- Peristaltismo: conjunto de contracciones ondulatorias que ocurren en todo el trayecto digestivo.
- Resina: se asigna a productos más o menos sólidos, amorfo y de naturaleza química compleja. Por calentamiento se ablandan y finalmente funden.
- Ritidoma: conjunto de tejidos periféricos muertos de un árbol.
- Tortuoso: que tiene vueltas y rodeos, solapado.

ANEXOS

ANEXO N° 1

Especies vegetales estudiadas

Nombre científico	Nombre común
<i>Ambrosia cumanensis</i>	Altamisa
<i>Psidium guajaba</i>	Guayabo
<i>Aloe vera</i>	Sábila

Especies animales de experimentación

Nombre científico	Nombre común
<i>Oryctolagus curiculus</i>	Conejo
<i>Rattus norvegicus</i>	Rata albina

ANEXO N° 2

Ambrosia cumanensis

Nombre científico

Familia: Compositae

Nombre Común: Altamisa



Figura 1 *Ambrosia cumanensis* (Altamisa)

ANEXO N° 3

Psidium guajaba

Nombre científico

Familia: Myrtaceae

Nombre Común: Guayaba (o)



Figura 2 *Psidium guajaba* (Guayabo)

ANEXO N° 4

Aloe vera
Nombre científico

Familia: Liliáceas

Nombre Común: Sábila

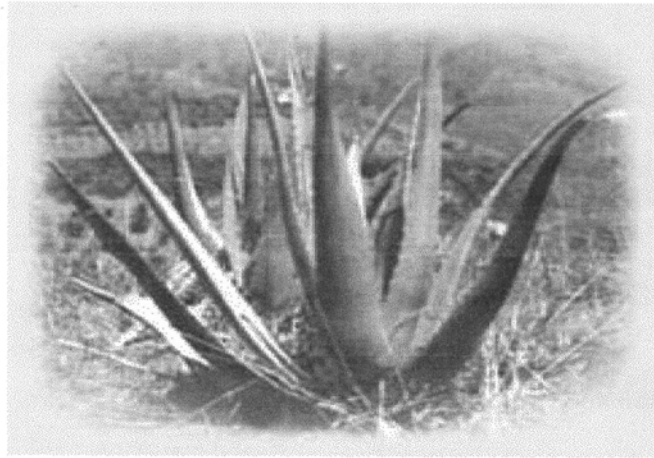


Figura 3 *Aloe vera* (sábila).

ANEXO N° 5

BASE QUIMICA DE LA CONTRACCION DEL MUSCULO LISO

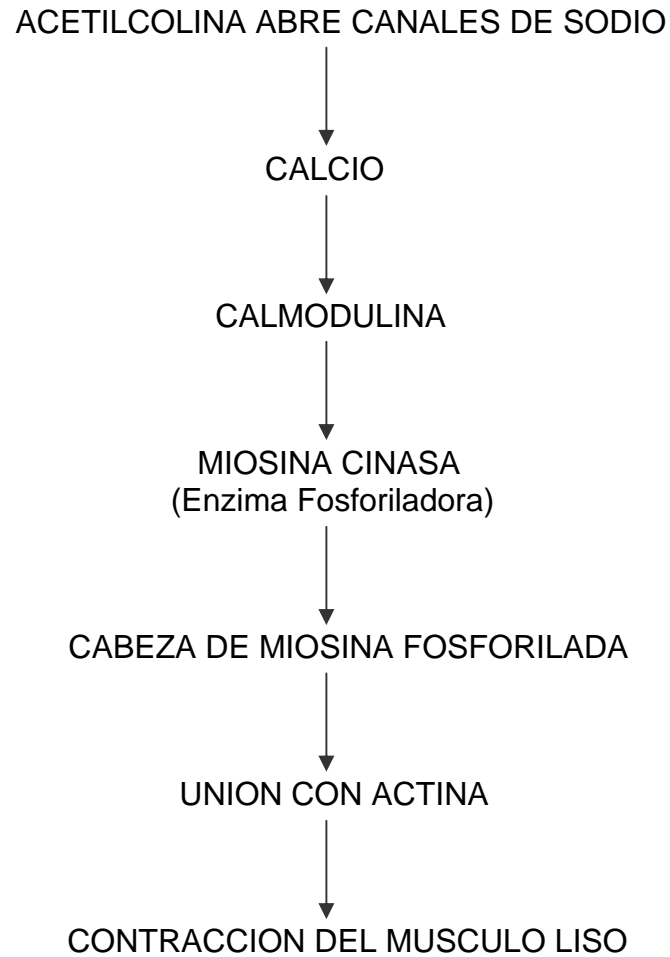


Figura N° 4 Esquema de la base química de la contracción del músculo liso.

ANEXO Nº 6



Figura 5 Rotavapor utilizado para la obtención de resina.

ANEXO N° 7



Figura 6 Pesada de conejo.

ANEXO Nº 8



Figura 7 Conejo anestesiado.

ANEXO N° 9



Figura 8 Intestino de conejo.

ANEXO N° 10

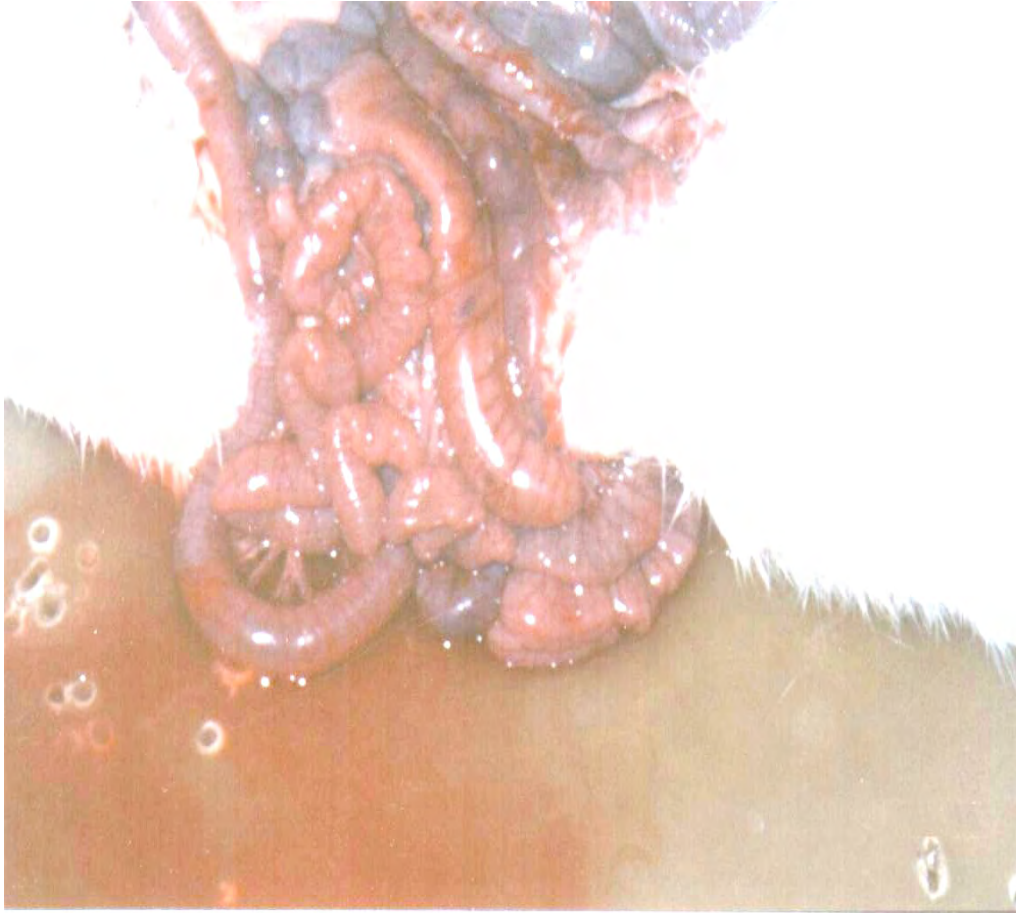


Figura 9 Porción intestinal de conejo.

ANEXO Nº 11

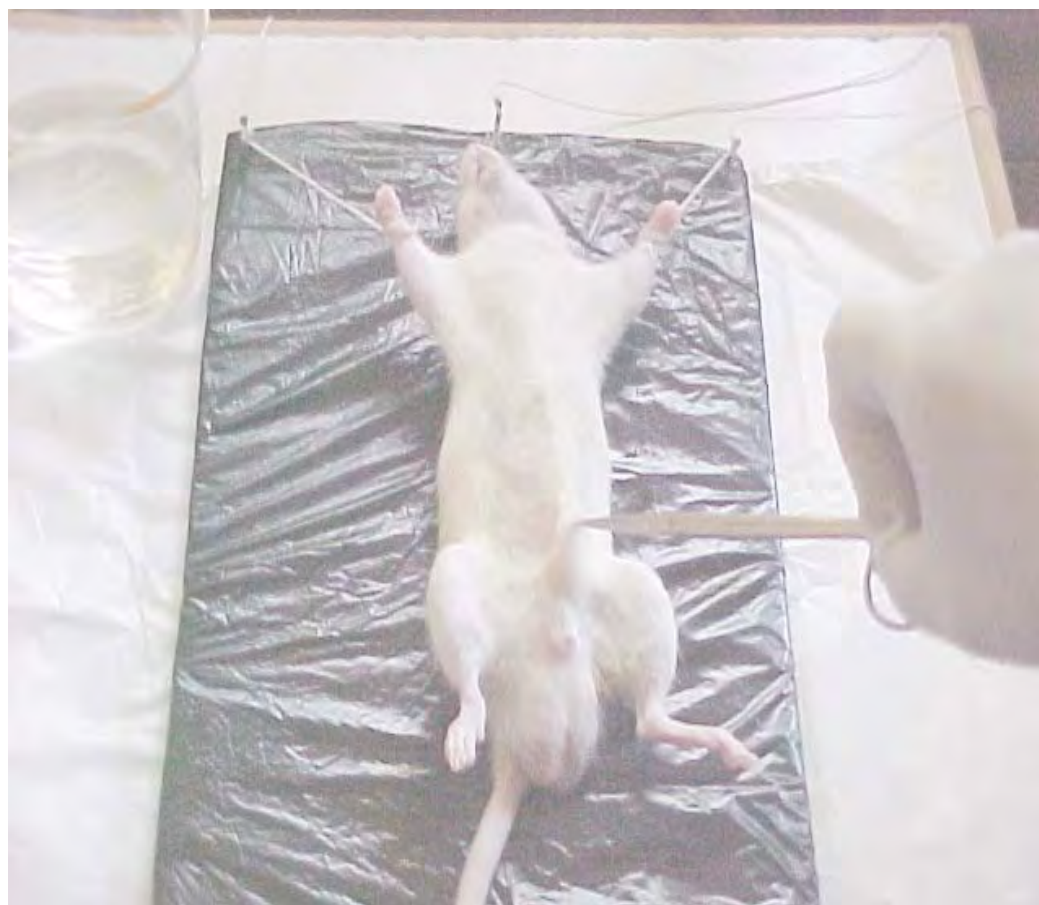


Figura 10 Región baja del tórax (Laparotomía).

ANEXO Nº 12



Figura 11 Duodeno libre de Mesenterio.

ANEXO Nº 13



Figura 12 Intestino de rata.

ANEXO N° 14

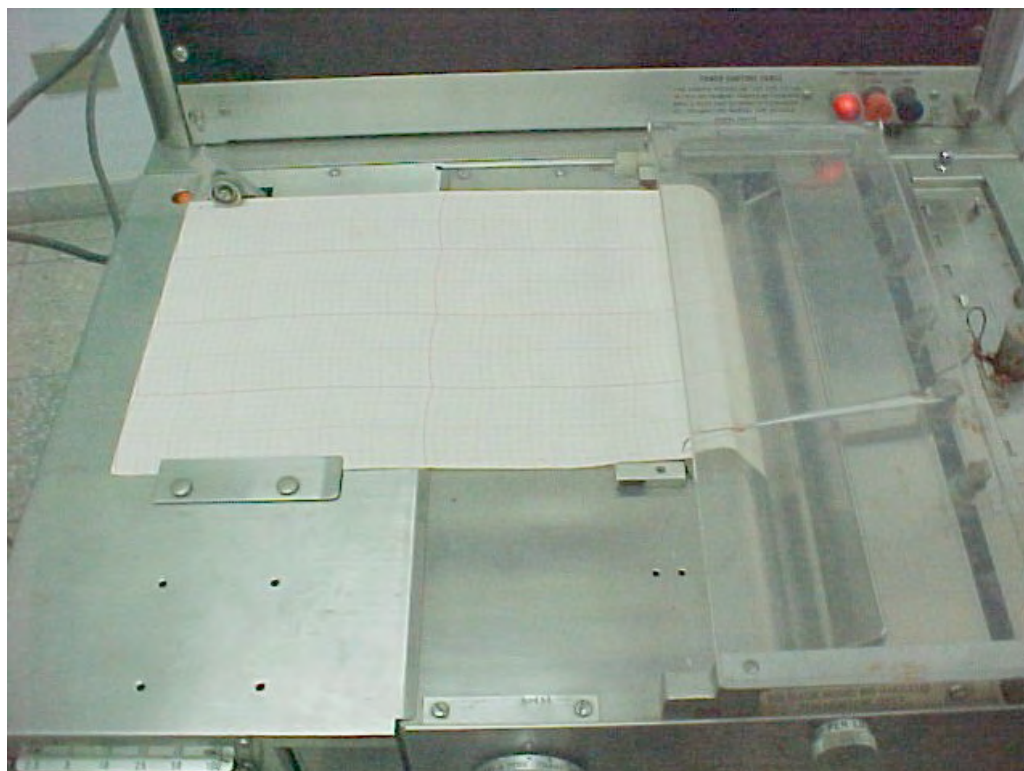


Figura 13 Registrador de Polígrafo.

ANEXO N° 15

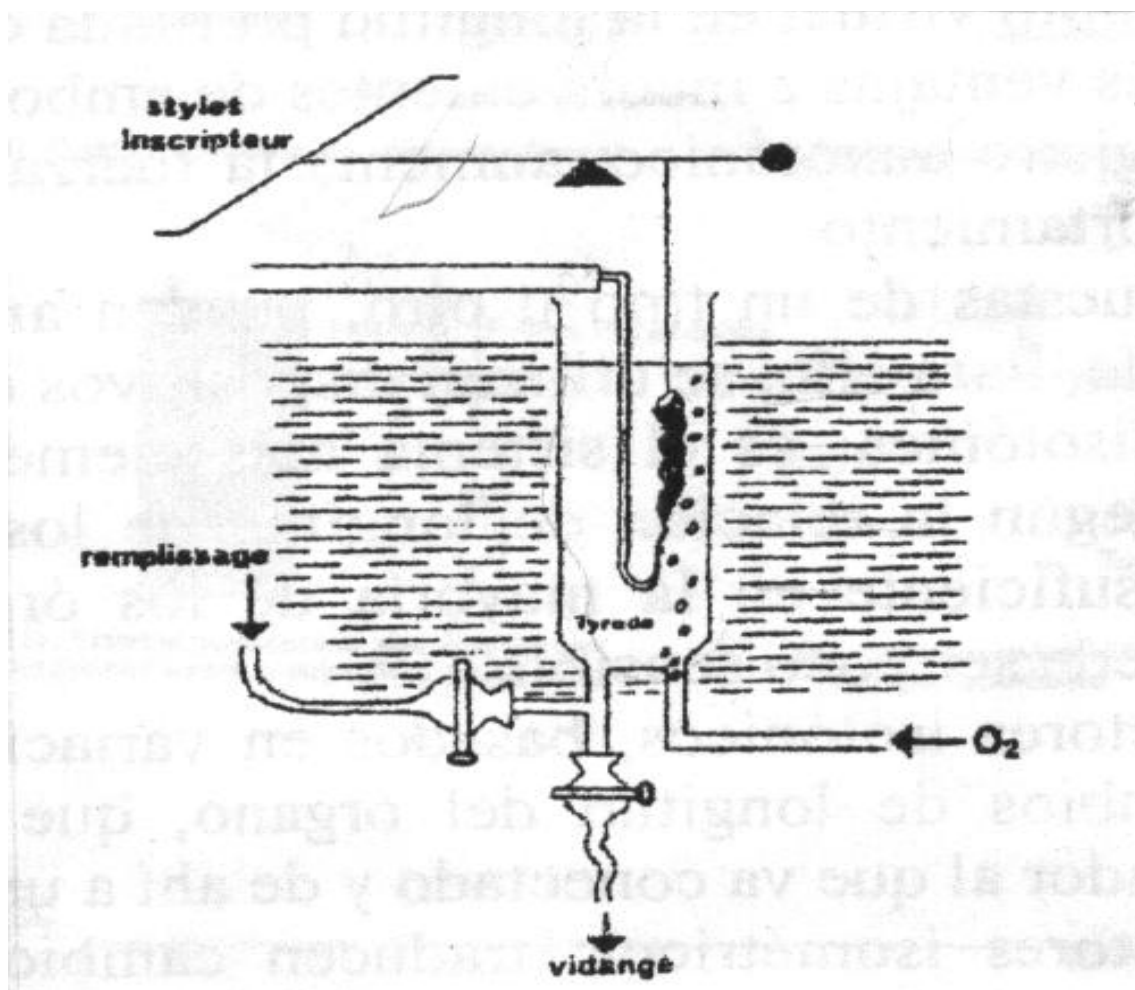


Figura 14 Cuba de vidrio para órganos

ANEXO N° 16

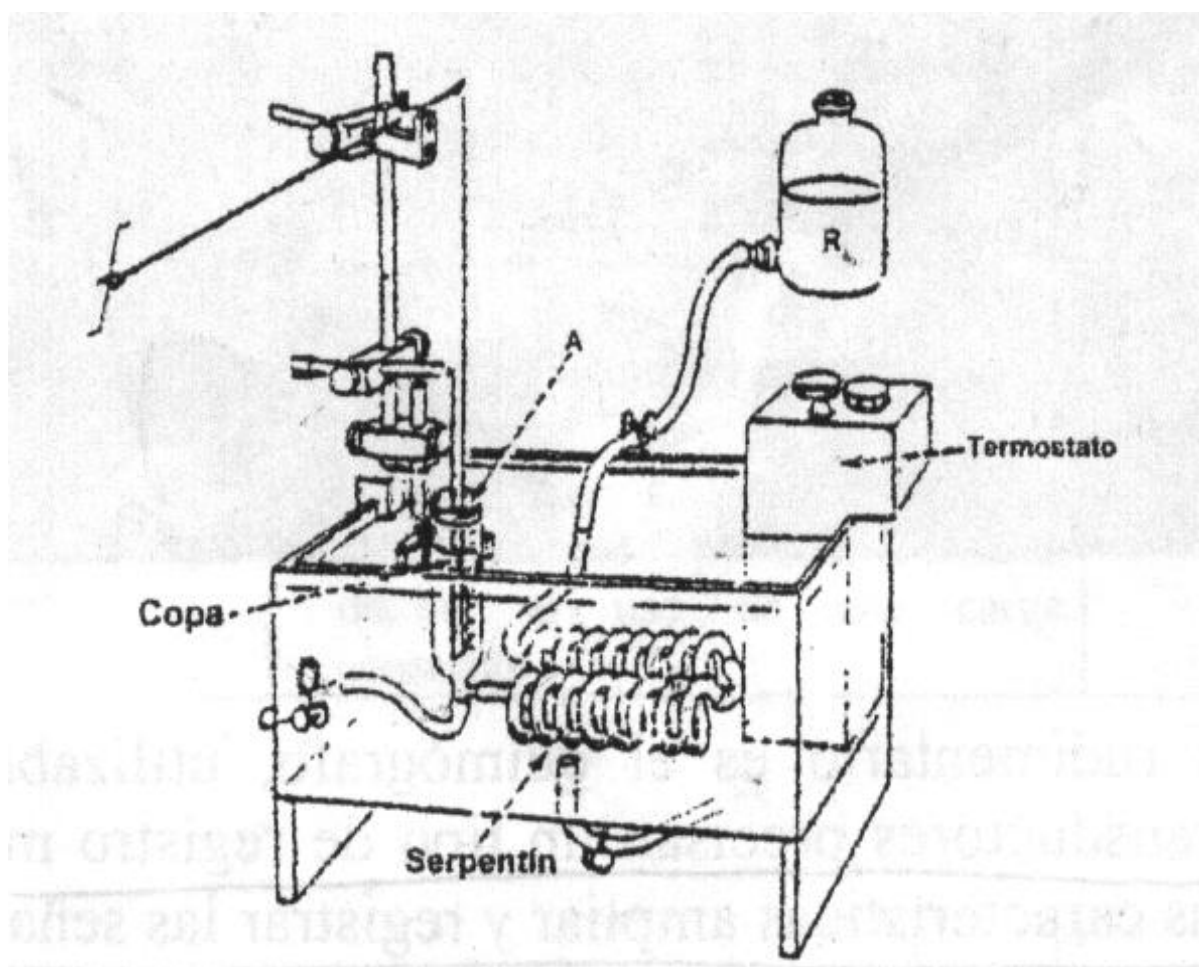


Figura 15 Baño de órganos

ANEXO N° 17
PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA

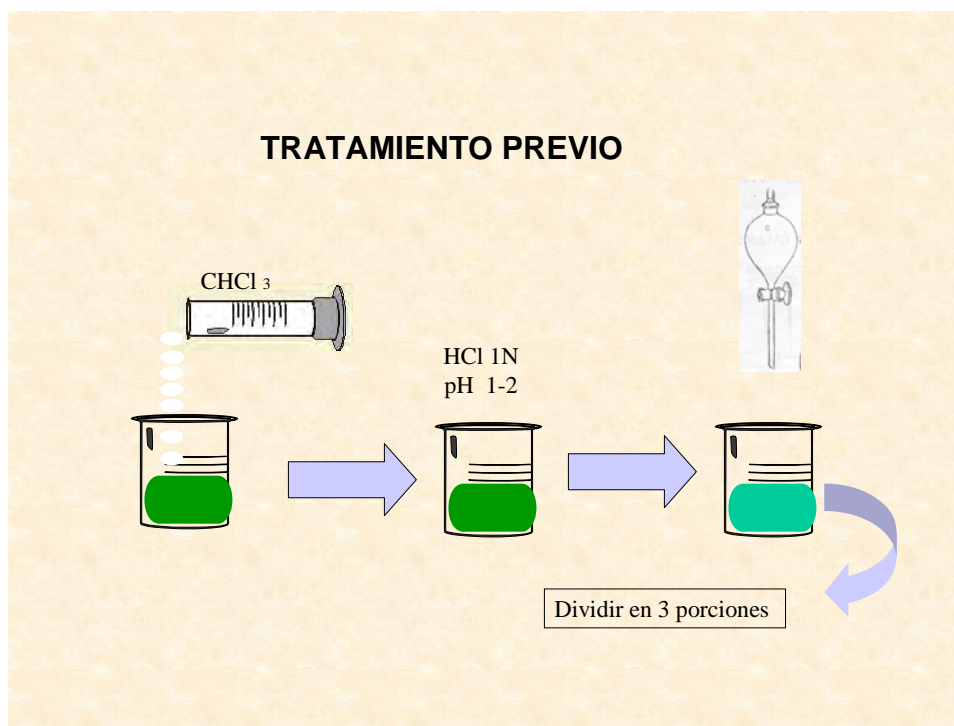


Figura 16 Ensayo para la determinación de Alcaloides. Tratamiento previo.

ANEXO N° 18

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA

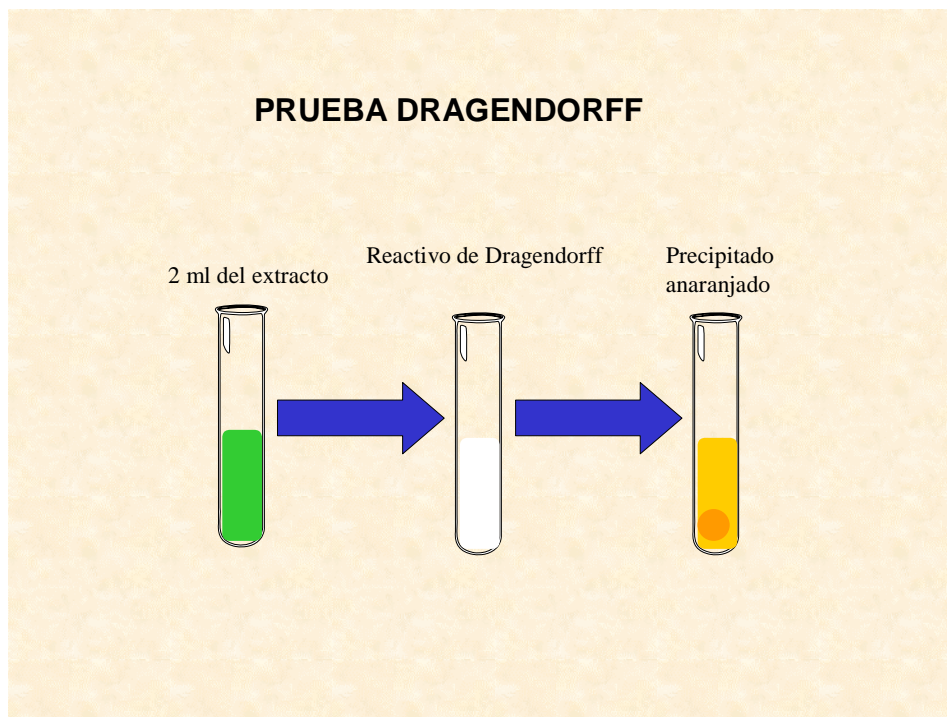


Figura 17 Ensayo para la determinación de Alcaloides. Prueba de Dragendorff.

ANEXO N° 19

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA

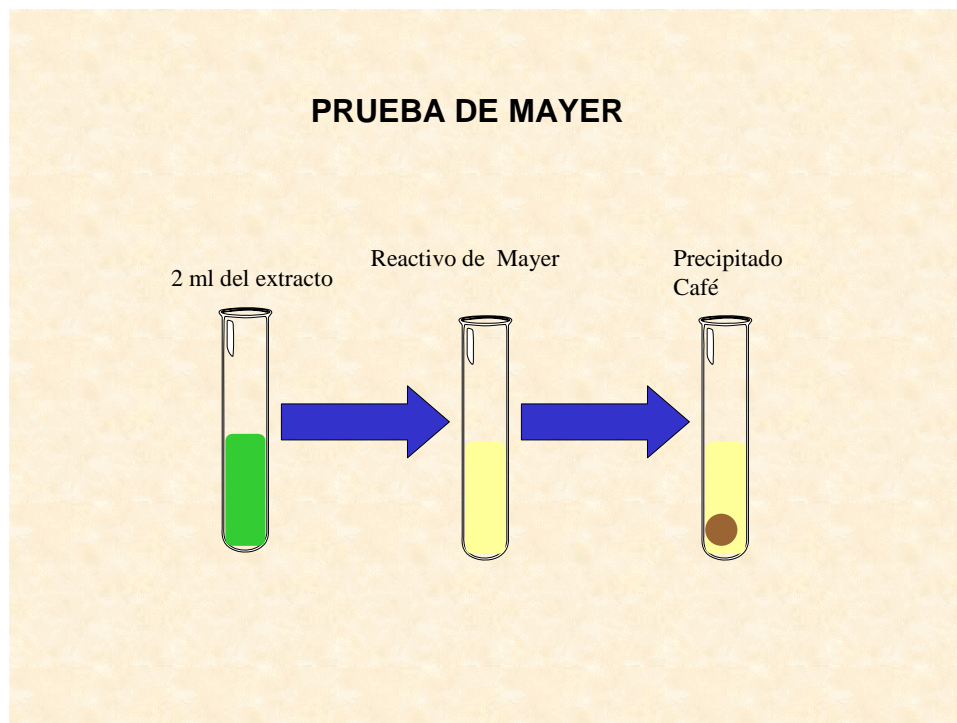


Figura 18 Ensayo para la determinación de Alcaloides. Prueba de Mayer.

ANEXO N° 20

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA

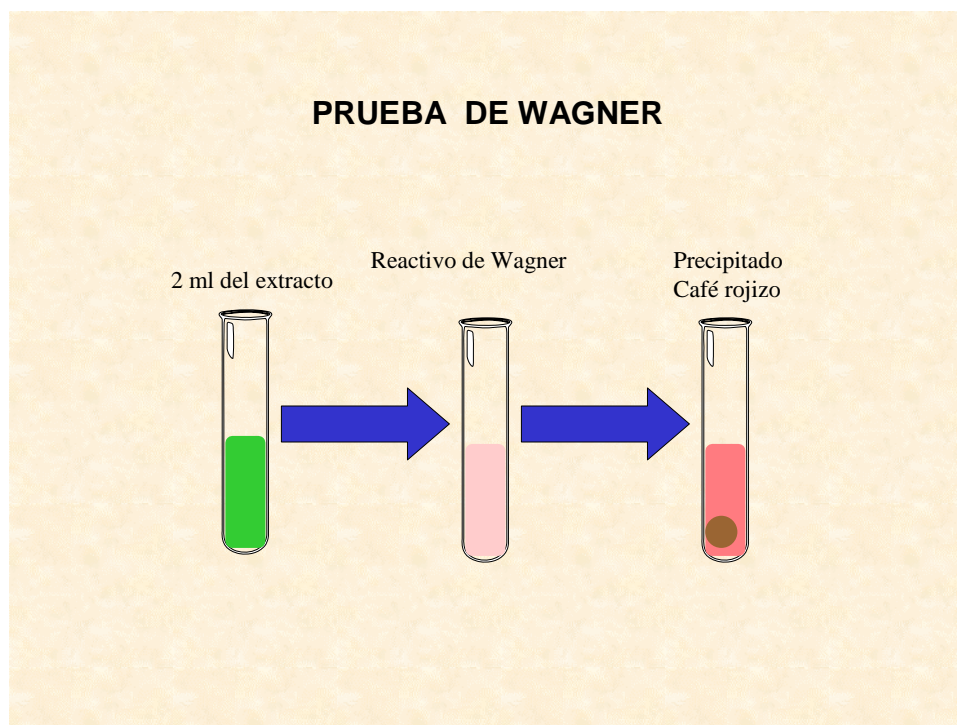


Figura 19 Ensayo para la determinación de Alcaloides. Prueba de Wagner.

ANEXO N° 21

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA

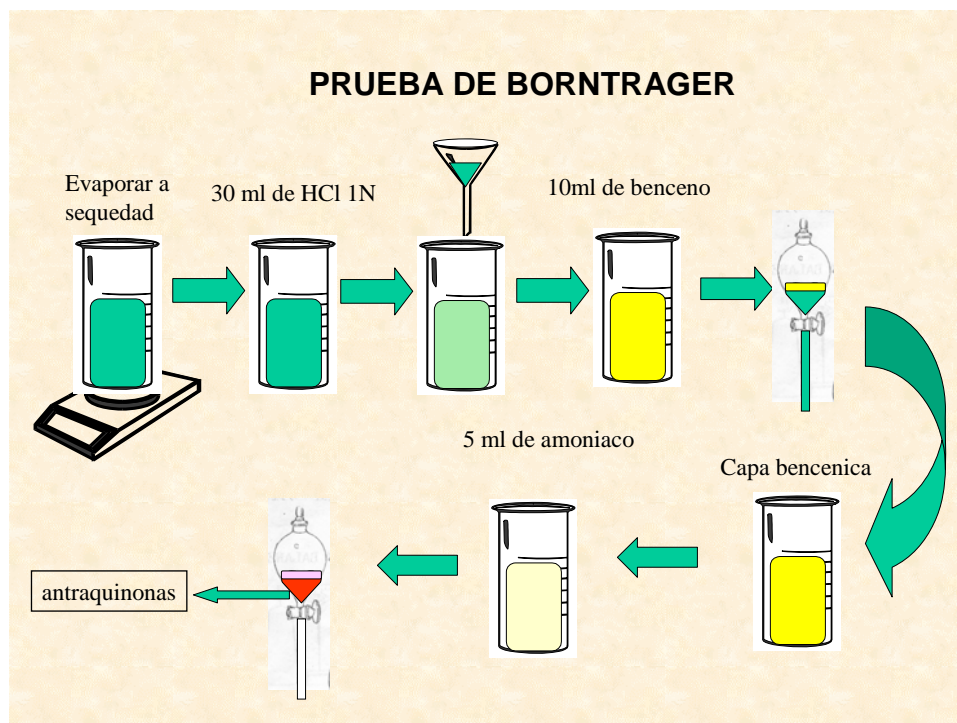


Figura 20 Ensayo para la determinación de Antraquinonas. Prueba de Borntrager.

ANEXO N° 22

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA.

PRUEBA CON SOLUCION DE ACETATO DE PLOMO TS

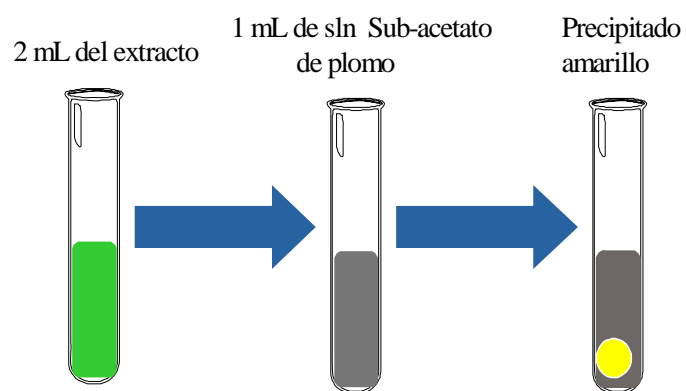


Figura 21 Ensayo para la determinación de Taninos. Prueba con Acetato de Plomo

ANEXO N° 23

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA.

PRUEBA CON SOLUCION DE TRICLORURO DE HIERRO AL 5%

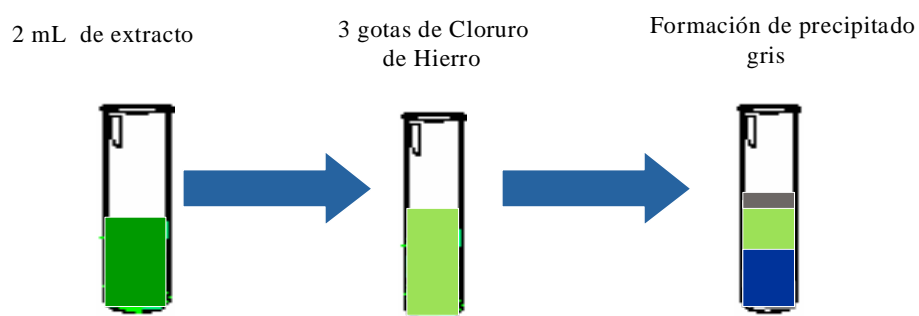


Figura 22 Ensayo para la determinación de taninos. Ensayo con Tricloruro de Hierro.

ANEXO N° 24

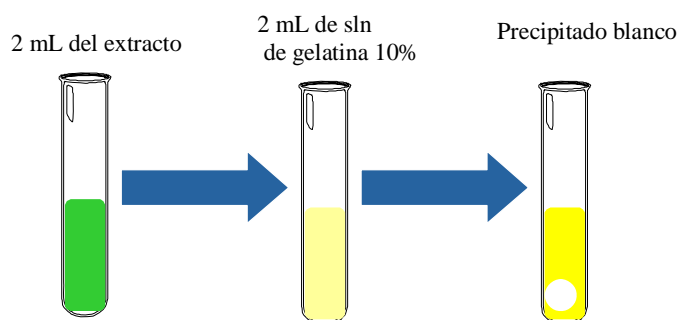
PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA.**PRUEBA CON SOLUCION DE GELATINA AL 10%**

Figura 23 Ensayo para la determinación de Taninos. Prueba con Solución de

Gelatina al 10%.

ANEXO N° 25

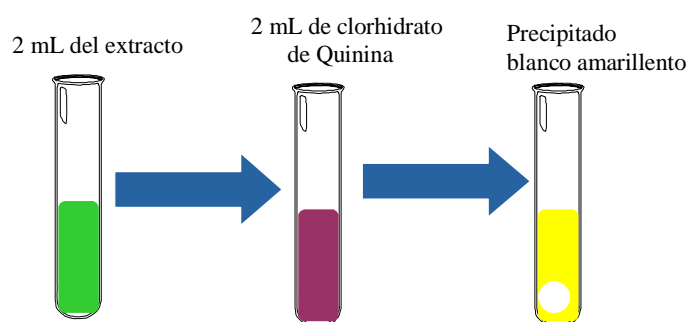
PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA.**PRUEBA CON SOLUCION DE CLORHIDRATO
DE QUININA AL 1%**

Figura 24 Ensayo para la determinación de Taninos. Prueba con Solución de Clorhidrato de Quinina al 1%.

ANEXO Nº 26

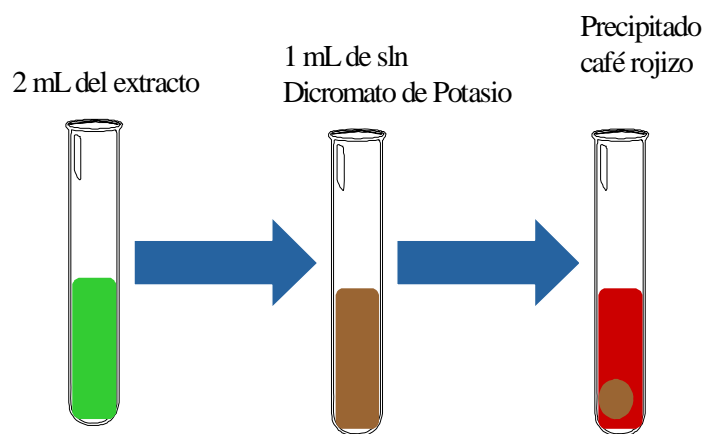
PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA.**PRUEBA CON SOLUCION DE DICROMATO
DE POTASIO AL 5%**

Figura 25 Ensayo para la determinación de Taninos. Prueba con solución de Dicromato de Potasio al 5%.

ANEXO N° 27

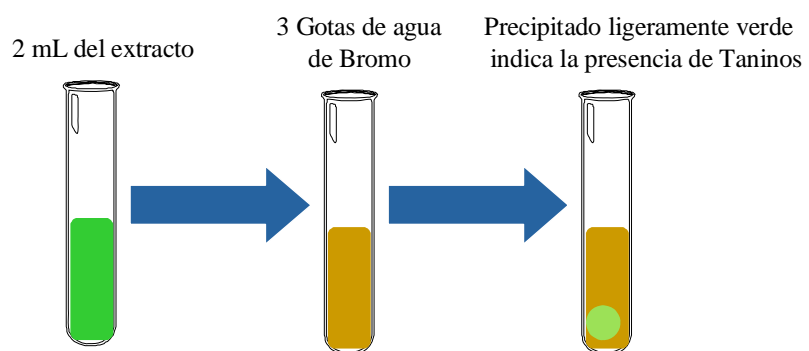
PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA.**PRUEBA DE SOLUCION DE AGUA DE BROMO TS**

Figura 26 Ensayo para la determinación de Taninos. Prueba con solución de Agua de Bromo TS.

ANEXO N° 28

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA

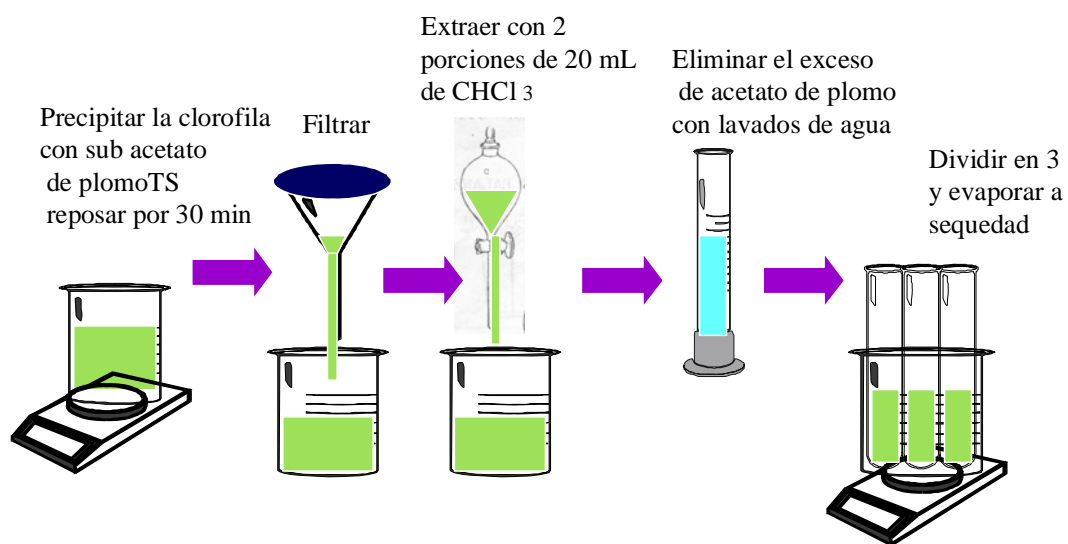
TRATAMIENTO PREVIO
PARA IDENTIFICAR SESQUITERPENLACTONAS

Figura 27 Ensayo para la determinación de Sesquiterpenlactonas. Tratamiento previo.

ANEXO N° 29

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA

PRUEBA DE HIDROXIMATOS FERRICOS

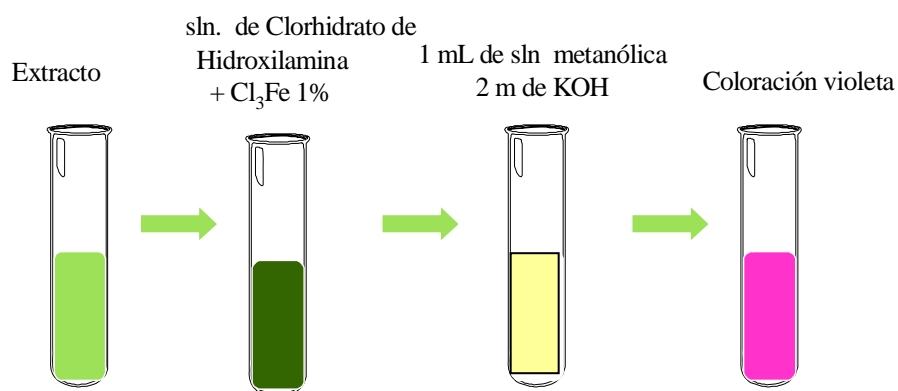


Figura 28 Ensayo para la determinación de Sesquiterpenlactonas. Prueba de Hidroximatos Férricos.

ANEXO N° 30

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA.

PRUEBA DE BALJET

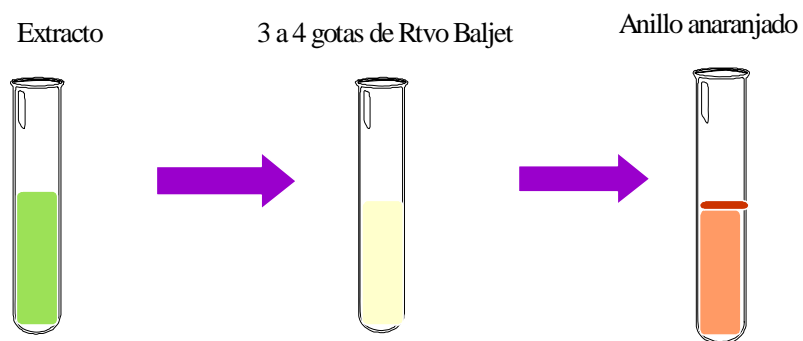


Figura 29 Ensayo para la determinación de Sesquiterpenlactonas. Prueba con reactivo de Baljet.

ANEXO N° 31

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA.

PRUEBA DE LEGAL



Figura 30 Ensayo para la determinación de Sesquiterpenlactonas. Prueba con reactivo de Legal.

ANEXO N° 32

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA.

PRUEBA DE INDICE DE ESPUMA

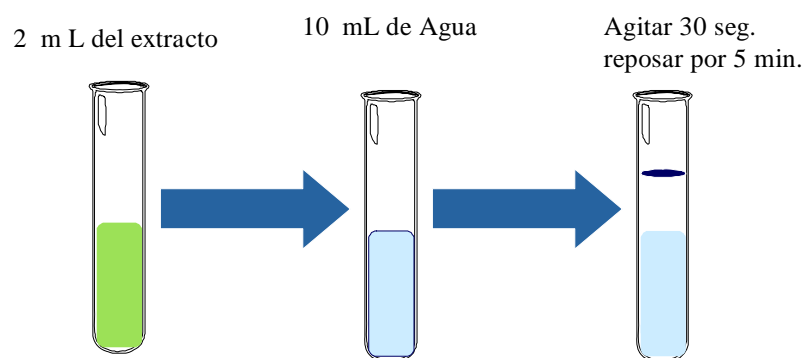


Figura 31 Ensayo para la determinación de Glicósidos Saponínicos. Prueba de Índice de Espuma.

ANEXO Nº 33

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUÍMICA.

PRUEBA DE LIEBERMAN - BURCHARD

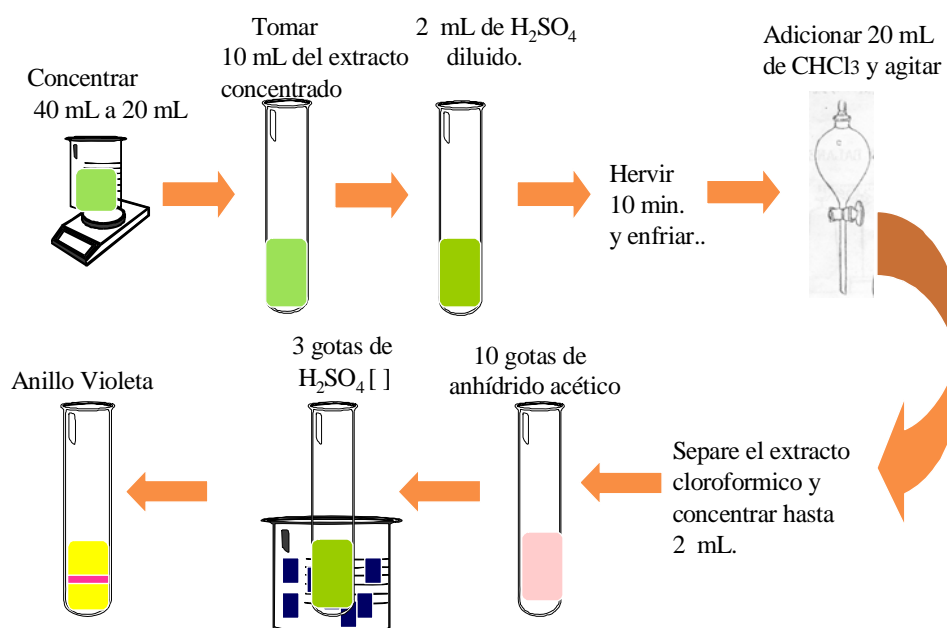


Figura 32 Ensayo para la determinación de Glicósidos Saponínicos. Prueba de Lieberman-Burchard.

ANEXO N° 34

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA.

PRUEBA DE SALKOWSKI

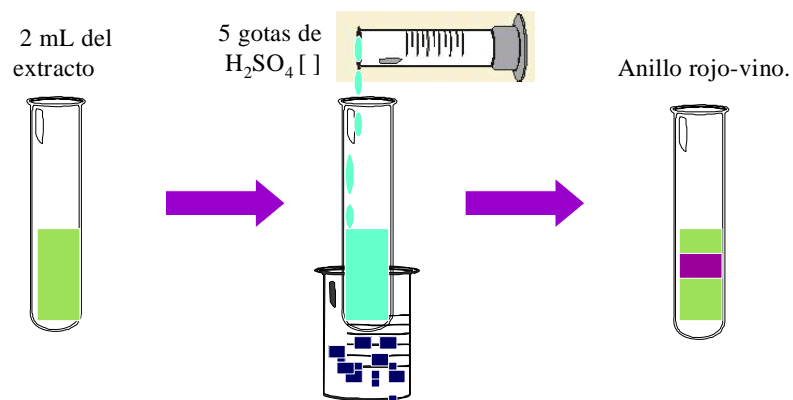


Figura 33 Ensayo para la determinación de Glicósidos Saponínicos. Prueba de Salkowski.

ANEXO N° 35

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN FITOQUIMICA

PRUEBA DE SHINODA O DE LA CIANIDINA

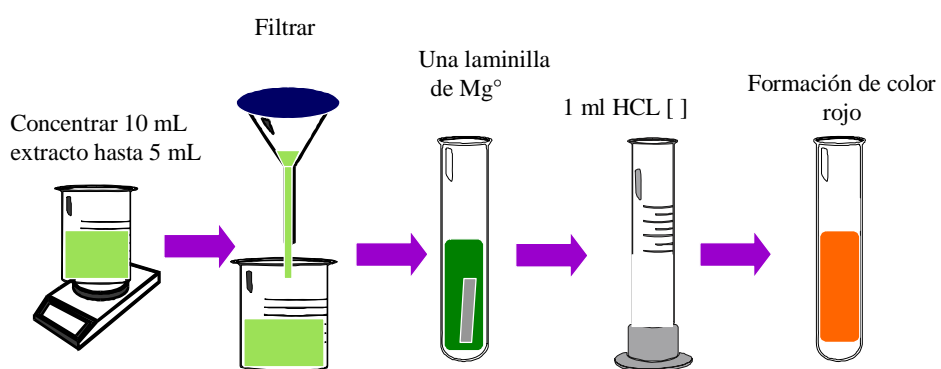


Figura 34 Ensayo para la determinación de Glicósidos Flavonoides. Prueba de Shinoda o de Cianidina.

ANEXO N° 36

Cristalería y materiales

Agitadores de vidrio

Ampolla de separación de 250 mL

Aro metálico

Balón volumétrico con tapones de vidrio de 10, 25 y 100 mL

Beakers (1000, 500, 250, 100, 50, 25 y 10 mL)

Embudos de vidrio

Gradillas

Guantes de goma

Probetas (100, 50, 25 y 10 mL)

Mangueras

Tubos de ensayo

Baños de María

Espátula y Micro espátula

Goteros

Frascos de vidrio color ámbar con tapadera hermética

Cuba de vidrio

Termostato

Reservorio de solución nutritiva

Serpentín

Botella de oxígeno

Bisturí

Pinzas

Bandeja de disección

ANEXO N° 37

Equipo

Balanza analítica
Balanza granataria
Equipo de reflujo
Rotavapor
Hot Plate
Transductor
Amplificador
Polígrafo

Reactivos

Pruebas Fitoquímicas preliminares
Acetato de etilo
Ácido Clorhídrico 1N
Ácido Clorhídrico concentrado
Ácido Sulfúrico 10%
Ácido Sulfúrico concentrado
Agua de bromo
Agua destilada
Anhídrido acético
Benceno
Cloruro férrico al 1% en KOH
Cloroformo
Etanol 95°
Láminas de Magnesio
Nitroprusiato de Sodio al 0.5 %

Oxido de Sodio 2 N

Piridina

Reactivo de Baljet

Reactivo de Borntrager

Reactivo de Dragendorff

Reactivo de Legal

Reactivo de Lieberman-Burchard

Reactivo de Mayer

Reactivo de Salkowski

Reactivo de Shinoda

Reactivo de Wagner

Solución de Clorhidrato de Quinina

Solución de Cloruro de Hidroxilamina 1%

Solución de Cloruro Férrico al 5%

Solución de Dicromato de Potasio 5%

Solución de Gelatina al 10 %

Sub-acetato de Plomo

Prueba en animales de experimentación

Solución de Acetilcolina 1/50,000

Solución de Tyrode

Solución de Ringer

Pentotal Sódico al 6%

ANEXO N° 38

SOLUCION DE HARTMAN

Cloruro de Sodio SP	0.60 g.
Cloruro de Potasio USP	0.03 g.
Cloruro de Calcio USP	0.02 g.
Lactato de Sodio USP	0.31 g.
Agua para Inyección USP CSP	100.00 mL
Osmolaridad Total	272 mol/mL
Electrolitos	(meq / L)
Na	1.30
K	4.00
Ca	2.70
Lactato	27.60
Cl	109.00
pH	5.0 -- 7.5

SOLUCION DE TYRODE

Cloruro de sodio	80.0 g.
Cloruro de potasio 10%	20.0 mL
Sulfato de Magnesio 10%	25.9 mL
Glucosa	10.0 g.
Bicarbonato de Sodio	10.0 g.
Cloruro de Calcio	18.0 mL