

INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA, FARMACOLÓGICA Y DE TOXICIDAD DL_{50} DE EPHEDRA AMERICANA Pinco-Pinco

BONILLA RIVERA, PABLO ENRIQUE

Departamento Académico de Química Básica y Aplicada

INTRODUCCIÓN

Una yerba que crece a lo largo de la Cordillera de los Andes, denominada por los nativos Pinco-Pinco, y de amplio uso medicinal en la zona andina del Perú, en la altiplanicie de Bolivia y a lo largo de la cordillera andina de Argentina y Chile, cuyo nombre científico es *Ephedra americana*, es especie vegetal objeto de la presente investigación.

En nuestro país esta especie crece abundantemente en el departamento de Arequipa, en el balneario de Jesús, en el camino a la Laguna de Salinas en faldas del nevado Pichu.Pichu.

También crece en forma abundante en el Cusco. La muestra vegetal del presente estudio fue ubicada y recolectada en la ciudad de Calca, Cusco.

1. Generalidades

La hierba llamada "Ma Huang" fue usada en China desde la antigüedad en el tratamiento de una gran variedad de afecciones. Un dispensatorio chino escrito en el año 1596 A.C. menciona que esta planta era usada como estimulante circulatorio, diaforético, antipirético y sedante de la tos, todo lo cual ha sido confirmado en observaciones modernas. Esta planta pertenece al grupo de las "Efedras", que han sido empleadas como remedios en muchas otras partes del mundo.

En 1885 G. Yamanashi aisló un principio activo impuro de "Ma Huang", y en 1887 Nagai lo aisló como una sustancia pura básica y la llamó "efedrina". En 1888 Takahashi y Miura investigaron a la efedrina farmacológicamente y concluyeron que dilataba la pupila por estimulación de los nervios simpáticos por lo que fue introducida en medicina como un nuevo midriático.

Investigaciones sobre efedrina y compuestos relacionados fueron continuadas desde un punto de vista químico. Merck en 1889 encontró efedrina y V-efedrina en especies europeas como *Ephedra helvética*.

Los primeros intentos por sintetizar efedrina fueron realizados por Schmidt en 1905.

La farmacología de efedrina fue reinvestigada en Japón por Amatsu y Kubota de 1913 - 1917, quienes demostraron que tenía efectos semejantes a la adrenalina, conclusión que fue confirmada por otros investigadores orientales.

Desde que fueron publicados en japonés se ha prestado estos resultados poca atención en el mundo occidental.

Un revolucionario estudio que ha renovado interés sobre efedrina, comenzó en 1924 con la publicación de los trabajos de Chen y Schmidt sobre Ma Huang (*Ephedra vulgaris*), ellos trabajaron sobre la droga sin conocer los trabajos previos y encontraron una similitud de la acción farmacológica de efedrina y adrenalina. (1,2).

2. Especies de Efedras Conocidas

1. *Ephedra vulgaris*, del Asia.
2. *Ephedra helvética*, de Europa
3. Efedras sudamericanas:
 - a) *Ephedra multiflora* Phil. Crece en los Andes argentinos entre 2600 y 3800 m.s.n.m. mide de 0,5 - 1,5 m nombre común: Pinco-Pinco.
 - b) *Ephedra andina* Poepp. (= *E. bracteata* Miers, *E. chilensis* Miers, *E. dumosa* Miers, *E. monticola* Miers, *E. araucana* Phil, americana Humb, et Bonpl. Var. Andina crece en la región andina desde Argentina hasta Chile a 3000 m.s.n.m., mide 1,5 m. En Argentina le llaman Pingo-Pingo).

**Ephedra americana* Humb. et Bonpl. et Bonpl. x Willd (= *E. americana* Humb, et Bonpl. Var Humboldtii Staff p.p.) crece en los Andes peruanos de 1000 a 3600 m.s.n.m. (llamado pinco-pinco) hasta la sierra de San Luis en Argentina. Mide hasta 3 m de altura.
 - c) *Ephedra gracilis* Phil.

Aspectos Botánicos y Distribución Geográfica

Ephedra es género de la familia Efedráceas, orden Gnetales, Gymnospermas con cerca de 45 especies difundidas en regiones subtropicales de Europa, Asia y América.

3. Aspectos Fitoquímicos

Identificación de metabolitos secundarios

Nagai en 1911 sintetizó una efedrina racémica.

En 1920 Spath y Gohring sintetizaron y separaron 6 isómeros.

Smith entre 1927 y 1928 encontró 1-N-Metilefedrina y nor-d-V. efedrina en el residuo siruposo alcaloidal obtenido en la manufactura de efedrina. Nagai y Kanao en 1928 confirmaron las observaciones de Smith y separaron otro nuevo alcaloide d-N-metil-V-efedrina.

Kanao en 1930 aisló una sexta efedrina base denominada, 1-norefedrina.

1. EPHEDRINA o 1-EPHEDRINA $C_{10}H_{15}ON$
2. V-EPHEDRINA o d-V.EPHEDRINA $C_{10}H_{15}ON$
3. I-NOR-EPHERINA $C_9H_{13}ON$
4. d-NOR-V-EPHEDRINA $C_9H_{13}ON$
5. N-METILEPHEDRINA ó 1-N-METILEPHEDRINA $C_{11}H_{17}ON$
6. N-METIL-V-EPHEDRINA ó d-N-METIL-V-EPHEDRINA $C_{11}H_{17}ON$ (1)

- Compuestos fenólicos: Catequinas y leucoantocianinas; leucodelphinidina y galloiltanino.

Como observamos los alcaloides de efhedra han sido ampliamente estudiados, por lo que nos propusimos estudiar con detenimiento los componentes fenólicos existentes, principalmente los flavonoides (4,5).

4. Aspectos de la Actividad Biológica de la Ephedra Americana

Actividad biológica reportada para Ephedras; es empleado como sudorífico, anti-pirético y antitusivo. El alcaloide efedrina es un agente simpático-mimético usado en el tratamiento de broncoespasmos, como descongestionante en ciertos tipos de alergias. Tiene acción sobre la presión sanguínea particularmente durante la anestesia espinal. También tiene actividad antiinflamatoria. (4,5).

5. Parte Experimental

Verificación taxonómica

División	: Gymnospermae
Clase	: Chlamydospermae
Orden	: Gnetales
Familia	: Ephedraceae
Género	: Ephedra
Especie	: Ephedra americana Humboldt & Boupland ex Willdenow
Nombre vulgar	: "Pinco-Pinco"
Sinonimia	: Belcho, uva de mar, suelda con suelda, suelda-suelda, condorsara, pingo-pingo, likchanya, pachatara, pfiuco, pfirco, wacua y Diego López.

Parte Experimental

5.1 Materiales y reactivos

Materiales

- Placas cromatográficas
- Capilares
- Pera de decantación
- Cuba cromatográfica
- Tubos, beakers, pipetas, etc.

Reactivos y solventes

- | | |
|-----------------|------------------------------|
| - Hidroxilamina | - Nitrato de cerio amoniacal |
| - Molish | - Vainillina sulfúrica |
| - Benedict | - Fehling |
| - Tollens | - Draggendorf |

- | | |
|---------------------------------------|---------------------|
| - Mayer | - Cloroformo |
| - Shinoda | - Gelatina |
| - Tricloruro férrico | - Ninhidrina |
| - Benceno | - Bencina |
| - n-hexano | - Tolueno |
| - Ciclohexano | - Diclorometano |
| - Acetato de etilo | - Ciclohexanol |
| - 2-octanol | - Alcohol amílico |
| - Isopropanol | - Terbutanol |
| - Isobutanol | - n-butanol |
| - Etanol | - Metanol |
| - Silicagel G 60 | - Metóxido de sodio |
| - Tricloruro de aluminio | - HCl conc |
| - Acido bórico | - Acetato de sodio |
| - H ₂ SO ₄ conc | - NH ₃ |

5.2 Equipos

- a. Espectrofotómetro UV
Hewlett Packard 8452 A.
Diode array Spectrophotometer
- b. Molino a cuchillas
Standard model N° 3
Wiley Mill (Made in USA)
Arthur H. Thomas CO. Philadelphia USA
- c. Cámara de luz UV 366
Lámpara UV: DESAGA UV - Strahler 700
Strahlung maximun Bei 366 nm
C. Desaga GMBH Nachf. Erich Fecht. Heidelberg.
- d. Equipo de filtración al vacío
Divac 2,4 L.
Kat - N° 137 O4
Leybold. Made in Germany 1844
- e. Balanza analítica Mettler
Instrument Corp. Highstown N.J.
USA PAT. N° 2.812.935
3.026.768

5.3 Desarrollo de la parte experimental

- a. Recolección y reparación de la muestra

Nuestra planta fue recolectada en la provincia de Calca (Cusco) en mayo de 1998. La parte aérea fue secada bajo sombra a temperatura ambiente y pos-

teriormente molida en un molino a cuchillas. Y fue almacenada en frascos de color ámbar.

- b. Verificación taxonómica.
- c. Investigación en la muestra problema.

Cien gramos de polvo de *Ephedra americana* fueron puestos a macerar en un litro de etanol para obtener de esta forma nuestro extracto etanólico (que consiste en películas marrones y plomizas) con el cual trabajamos.

Dicho extracto se utilizó para realizar las marchas de solubilidad y fitoquímica; y ensayos cromatográficos.

Ensayos cromatográficos

- Cromatografía rápida (en columna)

Preparamos la papilla para lo cual pesamos 5 g de extracto etanólico y lo disolvimos en una solución de metanol-cloroformo; a esta solución se añadió cantidad suficiente de silicagel hasta darle una consistencia casi coloidal.

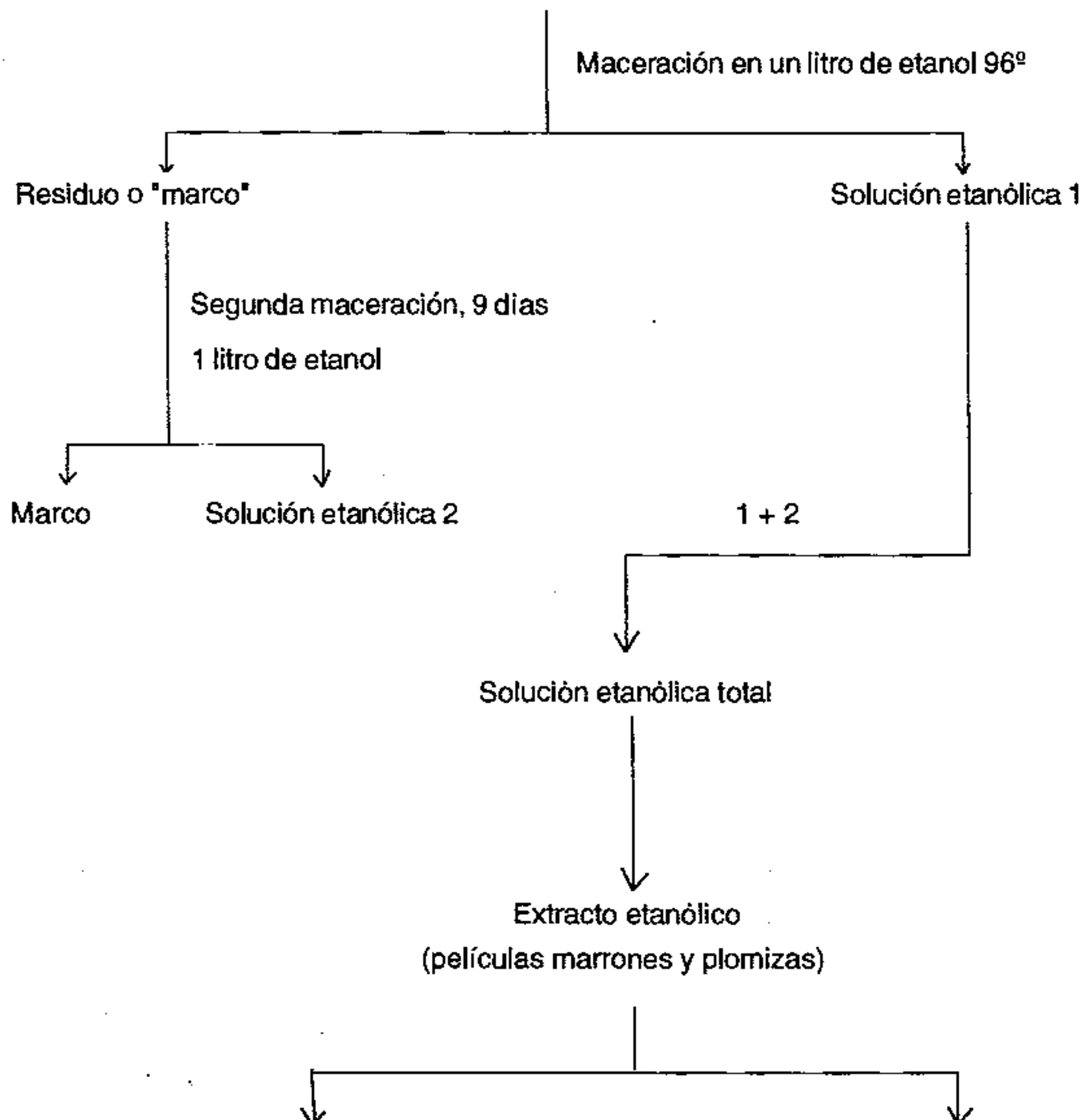
Se procedió a añadir los solventes respectivos (metanol, cloroformo, n-hexano y agua) para la obtención de los extractos.

- Cromatografía en capa fina

El extracto metanólico I se sometió a ensayos cromatográficos o cromatografía en capa fina ascendente utilizando como fase fija Silicagel G 60 y como fases móviles: cloroformo y metanol en la proporción de 3:1; en un segundo ensayo usamos como solventes cloroformo y metanol en la proporción de 10:1; al no obtener resultados satisfactorios resolvimos usar un solvente más polar, 1 ml de metanol. Nuestra muestra poseía una alta polaridad razón por la cual ninguno de los solventes anteriormente mencionados nos resultaba totalmente útiles.

Obtuvimos mejores resultados con el sistema BAW (butanol-ácido acético-agua en la proporción 4:1:5 respectivamente) durante un tiempo corrido de cuatro horas. Fueron revelados con: luz UV 366 nm, se observó fluorescencias de color celestes y verdosas así como algunas rojizas; ácido sulfúrico al 50% se observó a luz visible unas manchas amarillas verdosas que nos indica la presencia de compuestos fenólicos tipo flavonoides; luz UV 366 nm + ácido sulfúrico al 50%, se observó la intensificación de manchas de celeste a celeste brillante; tricloruro férrico, se observó que algunas manchas tomaban un color marrón grisáceo lo que indicaba que eran compuestos fenólicos; Dragendorff, se observaron unas manchas intensas de color rojo ladrillo que nos indica la presencia de alcaloides.

FIGURA 1. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA INVESTIGACIÓN

100 g polvo de *Ephedra americana***Ensayos fitoquímicos**

- * Marcha de solubilidad
- * Marcha fitoquímica
- * Ensayo cromatográfico
 - Cromatografía rápida en columna
 - Cromatografía en capa delgada
- * Determinación espectrofotométrica UV visible

Ensayos farmacológicos y biológicos

- * DL_{50}
- * Antiinflamatoria
- * Cicatrizante
- * Antiulceroso
- * Artemia salina

TABLA Nº 1: ENSAYO DE SOLUBILIDAD

MUESTRA PROBLEMA	SOLVENTES	RESULTADOS
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de agua destilada	+ -
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de metanol	+ + + +
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de etanol	+ + +
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de n-butanol	+
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de isobutanol	+
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de terbutanol	+
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de isopropanol	+
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de alcohol amílico	+
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de 2-octanol	+ -
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de ciclohexanol	-
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL acetato de etilo	+ +
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de cloroformo	+ +
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de diclorometano	+
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de ciclohexano	+ -
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de benceno	+ -
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de tolueno	+ -
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de bencina	+ -
5 mg de extracto etanólico	0,5 mL de n-hexano	-

- (-) Insoluble
 (+ -) Escasamente soluble
 (+) Poco soluble
 (++) Medianamente soluble
 (+ + +) Soluble
 (+ + + +) Muy soluble o bastante soluble

FIGURA 2
DIAGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DE LA MARCHA FITOQUÍMICA

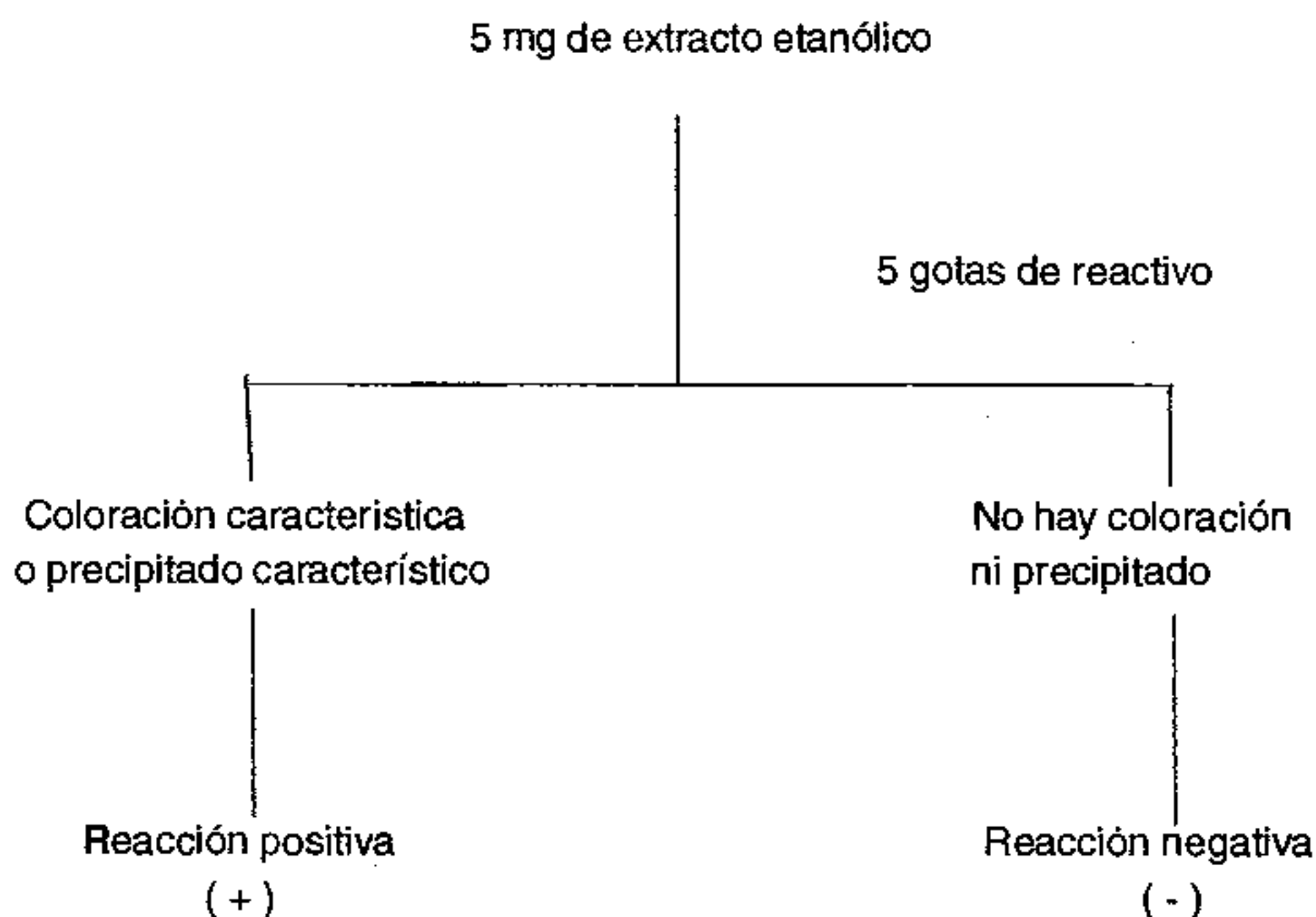


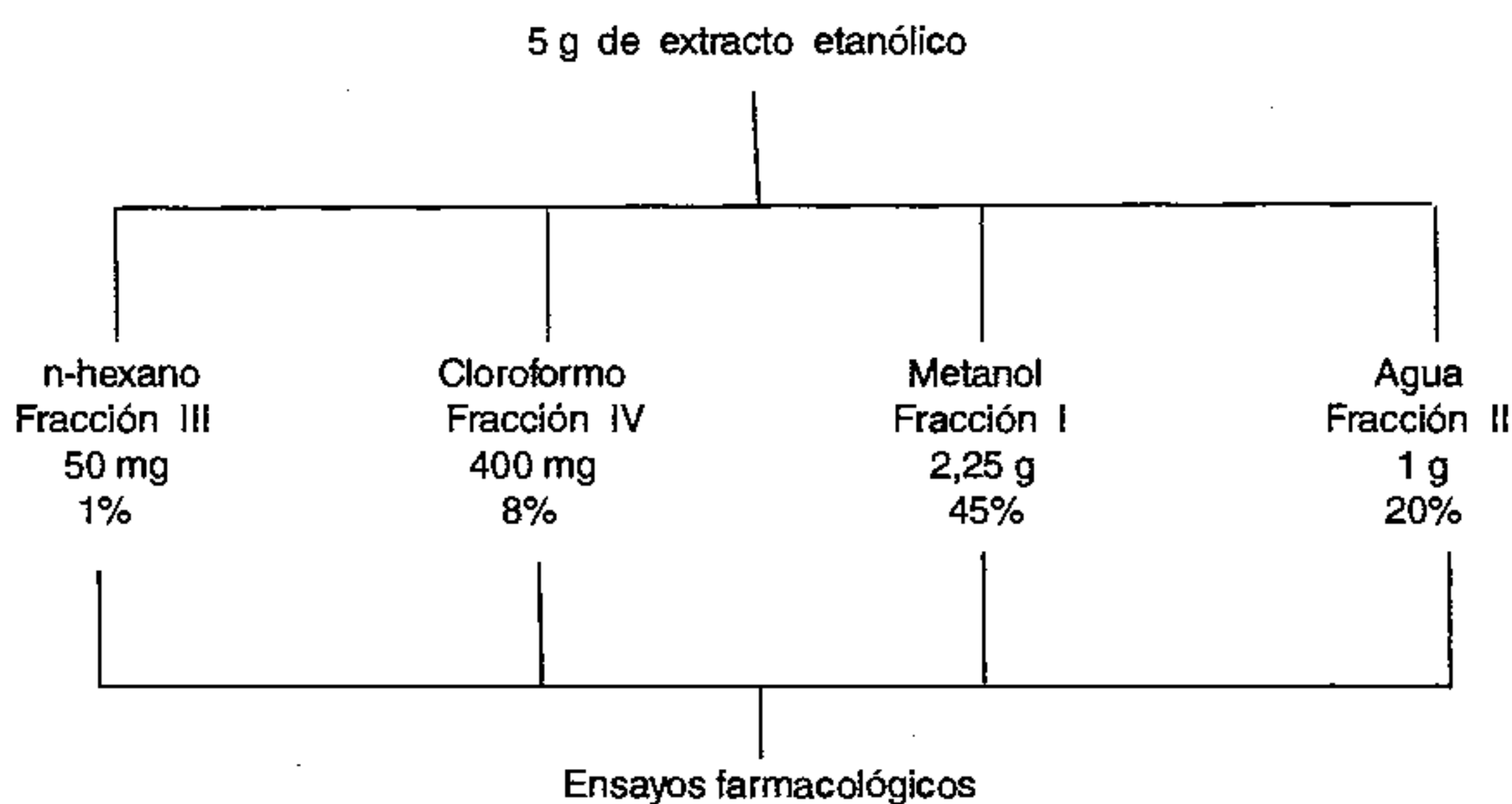
TABLA Nº 2 MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA *EPHEDRA AMERICANA*

Reactivo	Resultado	Metabolito
Ninhidrina	-	Aminoácidos libres
Tricloruro férrico	+++	Compuestos fenólicos
Gelatina	+++	Taninos
Shinoda (Mg + HCl)	++	Flavonoides
Hidroxilamina NH ₂ OH.HCl)	++	Oximas
Nitrato de cerio amoniacal (NO ₃) ₆ Ce(NH ₄) ₂	++	Alcoholes
Molish (naftol + H ₂ SO ₄ conc)	+++	Glucósidos
Vainillina sulfúrica	+++	Glucósidos
Benedict	+++	Glucósidos
Antrona	+++	Glucósidos
Tollens	+++	Azúcares reductores
Fehling	+++	Azúcares reductores
Mayer	++	Alcaloides
Dragendorff	+++	Alcaloides
Índice afrosimétrico (prueba de espuma) (1 mg de MP + 10 mL de H ₂ O dest)	+-	Esteroides (saponinas)

TABLA Nº 3. CROMATOGRAFÍA RÁPIDA (EN COLUMNA)

Extracto	Peso del beaker	Peso del beaker + muestra	Peso del extracto
Metanólico	106 g	108,5 g	2,5 g
Clorofórmico	109,8 g	110,2 g	0,4 g
n-hexano	53,9 g	53,95 g	0,05 g
Acuoso	105 g	105,1 g	1 g

FIGURA 5. DIAGRAMA DE LAS FRACCIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO



El 25% quedó en la columna como grasas, impurezas, etc.

ELUCIDACIÓN DE ESTRUCTURAS

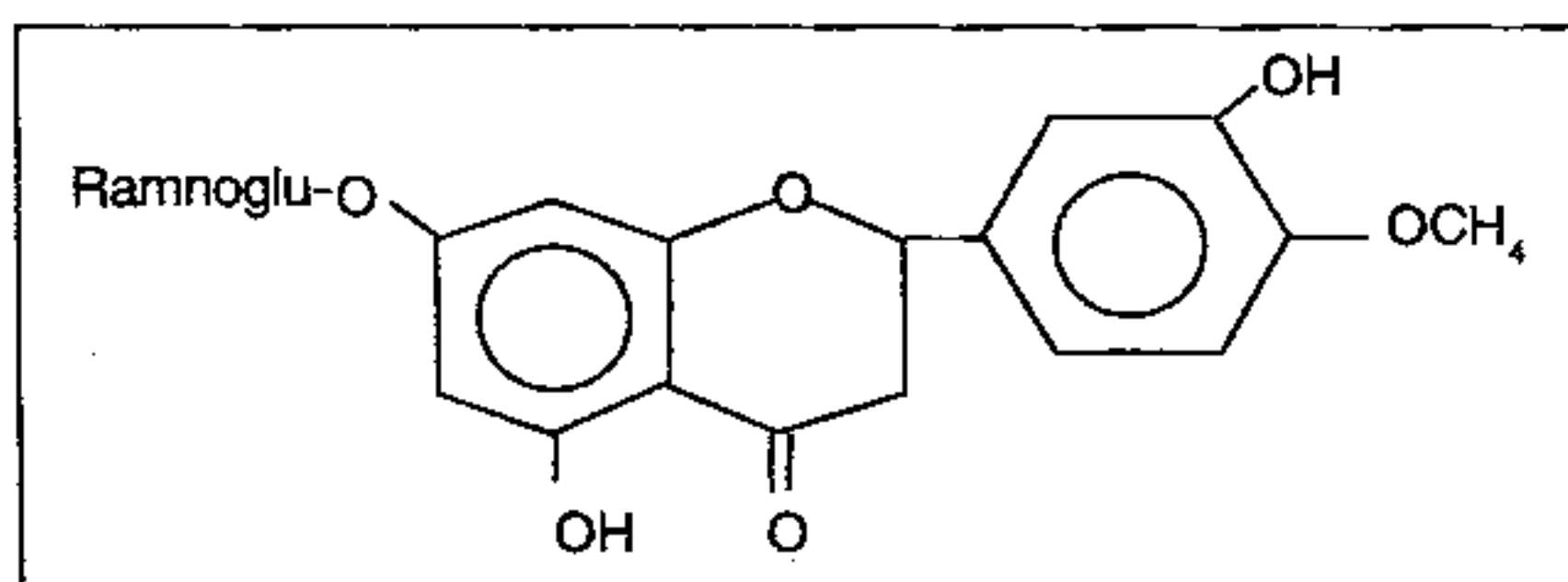
Fracción I

λ MeOH = 280, 326 nm.

UV 366 = Fluorescencia celeste oscuro

UV 366 + H₂SO₄ = Fluorescencia celeste brillante

Comparamos con las tablas (6) notando que se trataba del: 5,3' - dihidroxi-4 - metoxi-7-O-ramnogluosil flavanona (hesperidina).

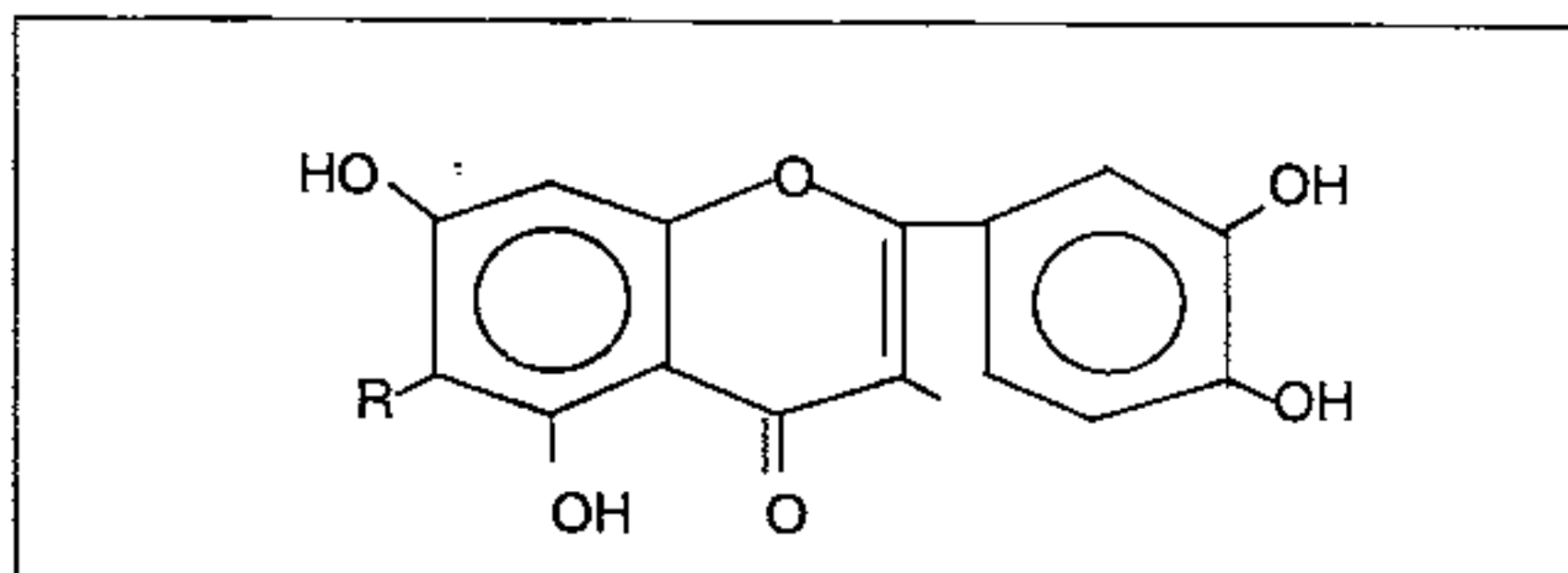


Fracción II

$\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}} = 284, 298 \text{ (h)}, 344 \text{ nm}$

Al no encontrar un compuesto de longitudes de onda (en metanol) que sean similares a las obtenidas en nuestro espectro se procedió a realizar una interpolación entre valores de longitudes de onda de diferentes compuestos y así encontrar los radicales correspondientes. Encontrando la siguiente estructura.

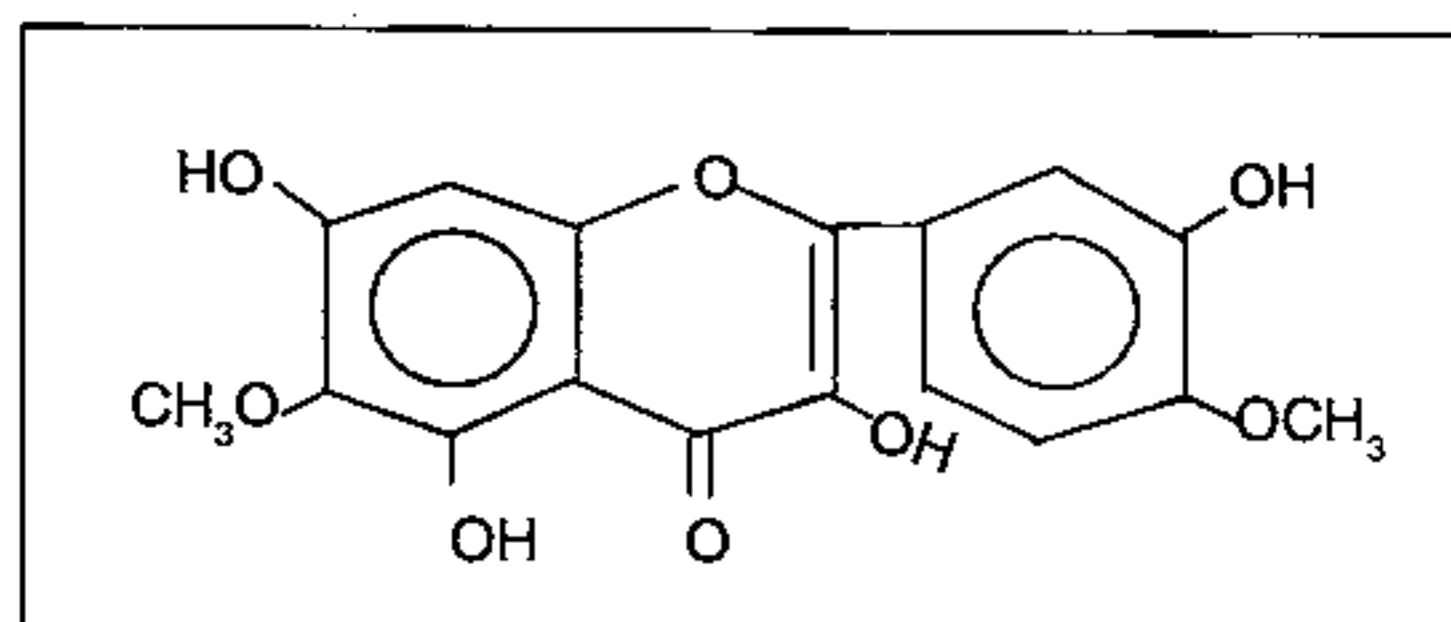
5,7,3',4'-tetrahidroxí-6,8 - di - R flavona

**Fracción III**

$\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}} = 276, 364 \text{ nm}$

Al no encontrar un compuesto de longitudes de onda (en metanol) que sean similares a las obtenidas en nuestro espectro se procedió a realizar una interpolación entre valores de longitudes de onda de diferentes compuestos y así encontrar los radicales correspondientes. Encontrando las siguientes estructuras:

5,7,3' - trihidroxí - 6,4' - dimetoxi flavonol

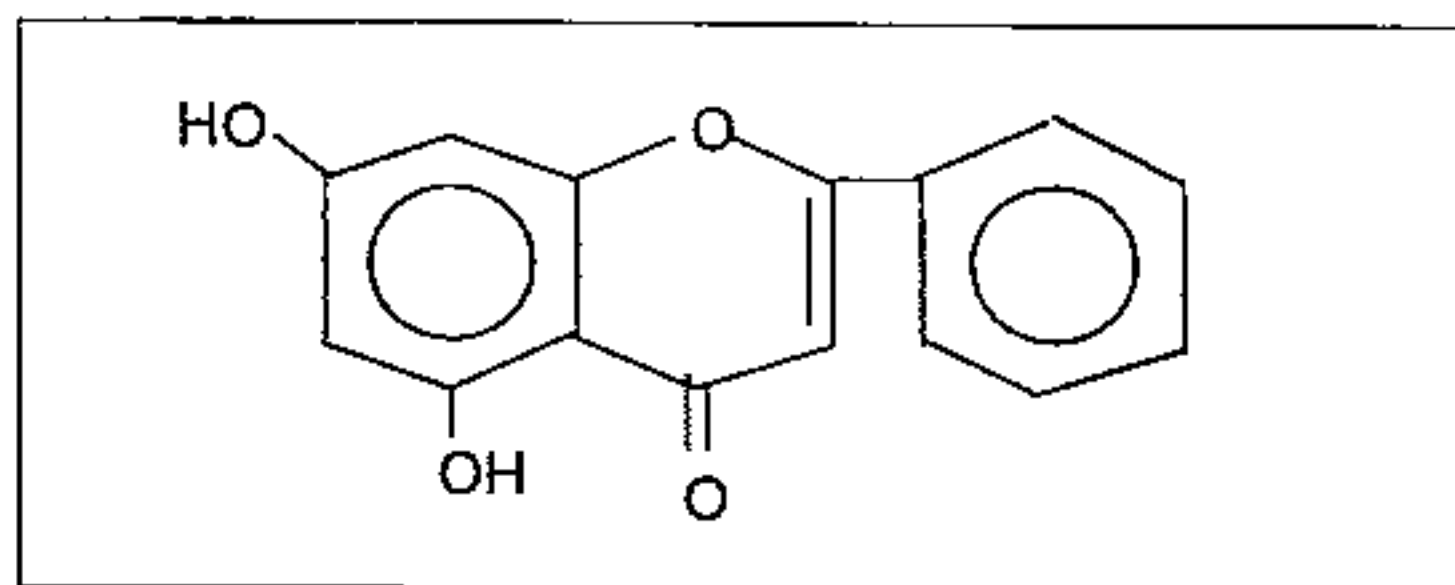
**Fracción IV**

Notamos la presencia de dos picos típicos de un flavonoide (uno antes de 300 y otros después de 300), razón por la cual se realizó reacciones de desplazamiento.

MeOH	= 252 (h), 268, 314
NaOMe	= 264 (h), 274, 360
AlCl ₃	= 250 (h), 276, 328, 384
AlCl ₃ + HCl	= 250 (h), 278, 324, 384
NaOAc	= 274, 360
NaOAc + H ₃ BO ₃	= 272, 316

Comparando con las tablas se trataba de la crisina:

5,7 - dihidroxi flavona



Fracción V

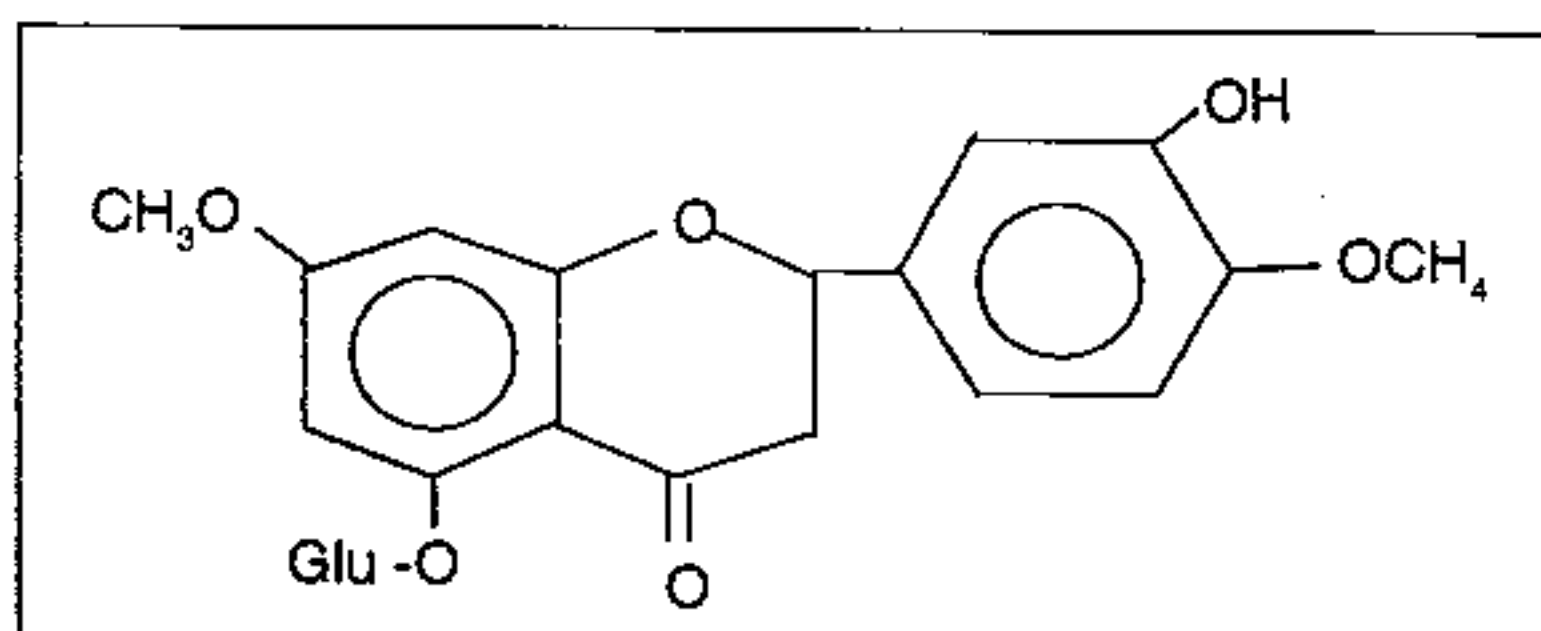
MeOH = 276, 314 nm.

UV = Fluorescencia amarilla verdosa

H₂SO₄ = Brillante

Al no encontrar un compuesto de longitudes de onda (en metanol) que sean similares a las obtenidas en nuestro espectro se procedió a realizar una interpolación entre valores de longitudes de onda de diferentes compuestos y así encontrar los radicales correspondientes. Encontrando la siguiente estructura:

4' - hidroxí - 7 - metoxi - 5 - 0 - glucosil flavonona



Lectura en el espectrofotómetro UV (Estudio de sus componentes)

Luego de realizar el raspado de las manchas el UV de nuestras placas (cromatografía a escala preparativa) procedimos a extraerlos utilizando cloroformo y metanol para aislarlos de la sílica.

Obtuvimos 8 fracciones, de las cuales las fracciones 1, 3, 4 y 6 poseían fluorescencias mientras que las 2, 5, 7 y 8 poseían a la luz UV 366.

Sometimos todas las fracciones al análisis espectrofotométrico UV observando que las fracciones 6, 7, 8 se encontraban impuras o representaban mezclas de varios componentes razón por la cual no fueron sometidas a análisis posteriores.

La fracción N° 8 está constituida de alcaloides. 1, 2, 3, 4, 5 comparamos las longitudes de ondas de los picos de cada fracción con una tabla de referencia la cual nos permitió elucidar las estructuras.

Anexos: espectros UV

Espectros de Rxs desplazamiento
Elucidación estructural

6. RESULTADOS

A. Fitoquímicos: espectros UV

Fracción N° 1	$\lambda = 280, 326 \text{ nm}$
Fracción N° 2	$\lambda = 284, 298 \text{ (h)}, 344 \text{ nm}$
Fracción N° 3	$\lambda = 276, 364 \text{ nm}$
Fracción N° 4	$\lambda = 252 \text{ (h)}, 268, 314 \text{ nm}$
Fracción N° 5	$\lambda = 276, 314 \text{ nm}$

B. Actividad biológica: extracto alcohólico E. americana (B)

1. Actividad antiinflamatoria: 200 mg/kg de B Edonia subplantar inducido por corregenina en ratón: % eficiencia antiinflamatoria 28.25%.
2. Actividad antiulcerosa: 10, 100 y 200 mg/kg. Lesiones gástricas inducidas por indometacina en ratón: % eficiencia antiulcerosa 8,6; 31, 44,8%.
3. Motilidad intestinal: 10, 100, 200 mg/kg. Avance del tránsito intestinal, utilizando carbón activado como marcador en ratón. % disminución de motilidad: 27.9; 40.02; 31.3%.
4. Toxicidad aguda; dosis letal 50 por vía peroral en ratones: de 50 para B = 5360 mg/kg - toxicidad subcrónica.
5. Bioensayo de artemia salina.

7. DISCUSIÓN

El extracto alcohólico de *Ephedra americana* contiene entre otros metabolitos secundarios alcaloides que no es motivo del presente estudio; y abundantes compuestos fenólicos tipo flavonoides, se propone estructuras químicas por correlación de reacciones químicas y datos espectroscópicos UV-visible. Referente a su actividad biológica los resultados indican que esta planta posee un marcado efecto antiinflamatorio, buena actividad antiulcerosa, actúa sobre la motilidad intestinal, DL_{50} alta por lo que no es tóxica y es biológicamente activa pues responde al bioensayo de Artemia salina.

Con respecto al ensayo de toxicidad al hacer los análisis clínicos respectivos se observó que la función renal no se ve alterada al evaluarse los valores séricos de urea y creatinina. Los niveles de colesterol y lípidos totales se aprecia una tendencia a la disminución.

8. CONCLUSIONES

1. La *Ephedra americana* presenta abundantes compuestos fenólicos, taninos, glucósidos y azúcares reductores, además de alcaloides.
Por cromatografía en capa fina obtuvimos la separación con el solvente BAW. Con el espectrofotómetro UV-visible se halló la estructura de algunos flavonoides, entre ellos:
 - Hesperidina: 5, 3'-dihidroxí-4'-metoxi-7-O-ramnoglicosil-flavonona
 - Crisina; 5,7-dihidroxí-flavona
 - 5,7,3' -4' -tetrahidroxí-6,8-di-R-flavona
 - 5,7,3' -trihidroxí-6,4' -dimetoxí-flavonol

- 4' -hidroxi-7-metoxi-5-O-glucosil flavonona

2. Se confirma el efecto antiinflamatorio, antiulceroso, acción sobre la motilidad intestinal y su no toxicidad de extractos de *Ephedra americana*, luego queda validada su uso medicinal.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Resumen

Se ensayó la actividad antiinflamatoria del extracto PBR (B) y la fracción (FB); los extractos fueron administrados por vía peroral a ratones con edema subplantar inducido por carragenina, B brindó mejor eficiencia antiinflamatoria (28,25%).

Material y Método

Extractos

Edema subplantar inducido por carragenina en ratón: se utilizaron ratones albinos (25-30 g) fueron divididos en lotes de ocho animales; cada ratón recibió 0,1 ml de una suspensión de carragenina al 2%, vía subcutánea, en la pata trasera izquierda. Los extractos fueron suspendidos en una solución de propilenglicol al 5% en agua destilada, siendo administrados en dosis única de 200 mg/kg, vía peroral, una hora después de la carragenina. Se midió el diámetro del edema inducido, utilizando micrómetro, expresándose la inflamación en milímetro (Basal normal, basal inflamado, seguidamente a 1, 2, 3 horas post-tratamiento).

Resultados

Tabla Nº 1 Valores medios de actividad antiinflamatoria de extractos frente a inflamación inducida por carragenina en ratones.

TTO	Dosis mg/kg	Edema	En	Mm	VM + DE		Eficiencia
		Basal N	Bas. Infla	1 hora	2 horas	3 horas	antiinf. %
Control	—	0,237 + 0,012	0,411 + 0,009	0,410 + 0,015	0,400 + 0,010	0,400 + 0,013	0
B	200	0,231 + 0,009	0,394 + 0,017	0,371 + 0,011	0,347 + 0,010	0,287 + 0,014	28,25
FB	200	0,236 + 0,015	0,409 + 0,013	0,389 + 0,017	0,367 + 0,015	0,333 + 0,009	16,75

n = 8, p < 0,0001

ACTIVIDAD ANTIULCEROSA

Resumen

Se ensayó la actividad antiulcerosa del extracto PBR (B) y la fracción (FB); con tres niveles de dosis cada extracto, los que fueron administrados por vía peroral a ratones, con lesiones gástricas inducidas por indometacina, B brindó mejor eficiencia antiulcerosa siendo dosis dependiente.

Material y Método

Extractos

Lesiones gástricas en ratón inducidas por indometacina.- Se utilizaron ratones

albinos (25-30 g), con ayuno de 24 horas, fueron divididos en lotes de ocho animales; cada ratón recibió indometacina a la dosis de 60 mg/kg por vía intraperitoneal. Los extractos fueron suspendidos en una solución de propilenglicol al 5% en agua destilada, siendo administrados en dosis de 10, 100 y 200 mg/kg, vía peroral, una hora después de la administración de indometacina; luego de cinco horas, los animales son sacrificados por dislocación cervical, se retira los estómagos y se cuenta el número de lesiones totales que presenta cada animal.

RESULTADOS

Tabla N° 2. Valores medios de actividad antiulcerosa de extractos frente a lesiones gástricas inducidas por indometacina en ratones.

TTO	DOSIS mg/kg	Nº lesión gástrica	Eficiencia Antiul. %
Control	—	58 + 2,5	0
B	10	53 + 3,1	8,6
B	100	40 + 1,6	31
B	200	32 + 3,6	44,8
FB	10	46 + 4,1	20,7
FB	100	40 + 5,1	31
FB	200	48 + 5,5	17,2

$n = 7$ $m p < 0,001$

EVALUACIÓN DE LA MOTILIDAD INTESTINAL

Resumen

Se evaluó la motilidad intestinal del extracto PBR (B) y la fracción (FB); con tres niveles de dosis cada extracto, los que fueron administrados por vía peroral a ratones, que reciben posteriormente carbón activado 0,1 ml de una suspensión al 5% en goma tragacanto, utilizado como marcador del avance de la materia fecal en el ratón, la FB evidenció disminución de la motilidad intestinal no siendo dosis dependiente.

Material y Método

Extractos

Avance del tránsito intestinal, utilizando carbón activado como marcador en ratón.- Se utilizaron ratones albinos (25-30 g), con ayuno de 24 horas, fueron divididos en lotes de ocho animales; cada ratón recibió los extractos que fueron suspendidos en una solución de propilenglicol al 5% en agua destilada, siendo administrados en dosis de 10, 100 y 200 mg/kg, vía peroral, media hora después de la administración de los extractos, se les dio por vía peroral carbón activado 0,1 ml de una suspensión al 5% en goma tragacanto; luego de media hora, los animales son sacrificados por dislocación cervical, se retira los intestinos y se mide el avance de la materia fecal, expresado en centímetros.

Resultados

Tabla N° 3. Valores medios del avance del carbón activado en ratones

TTO	DOSIS mg/kg	Avance intest cm	Dism. De motilid. %
Control	—	58,7 + 5,5	100
B	10	36,4 + 3,1	37,9
B	100	35,2 + 2,6	40,03
B	200	40,3 + 4,6	31,3
FB	10	55,3 + 3,1	5,8
FB	100	57,3 6,1	2,4
FB	200	50,4 + 3,5	14,1

n = 8, p < 0,001

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD

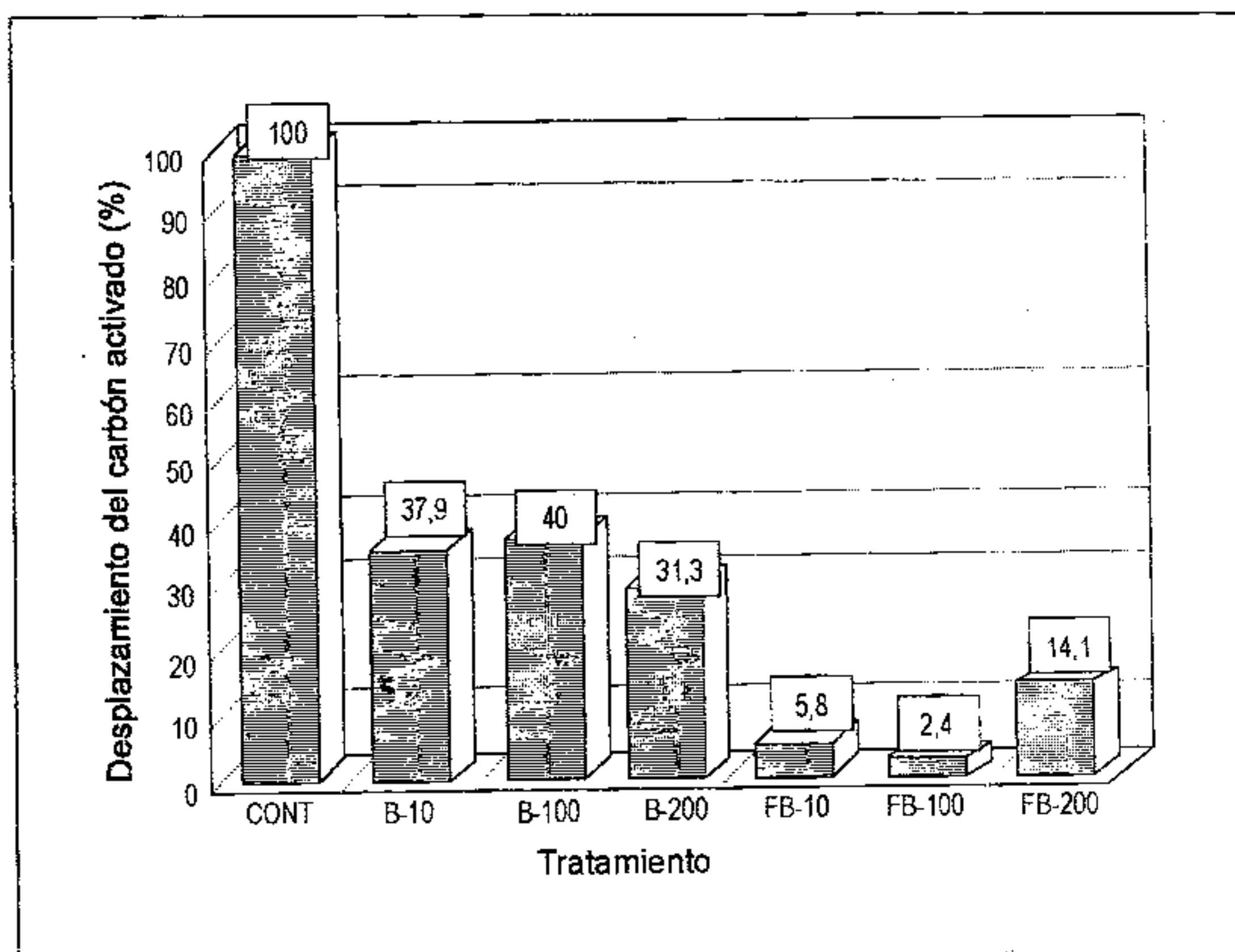
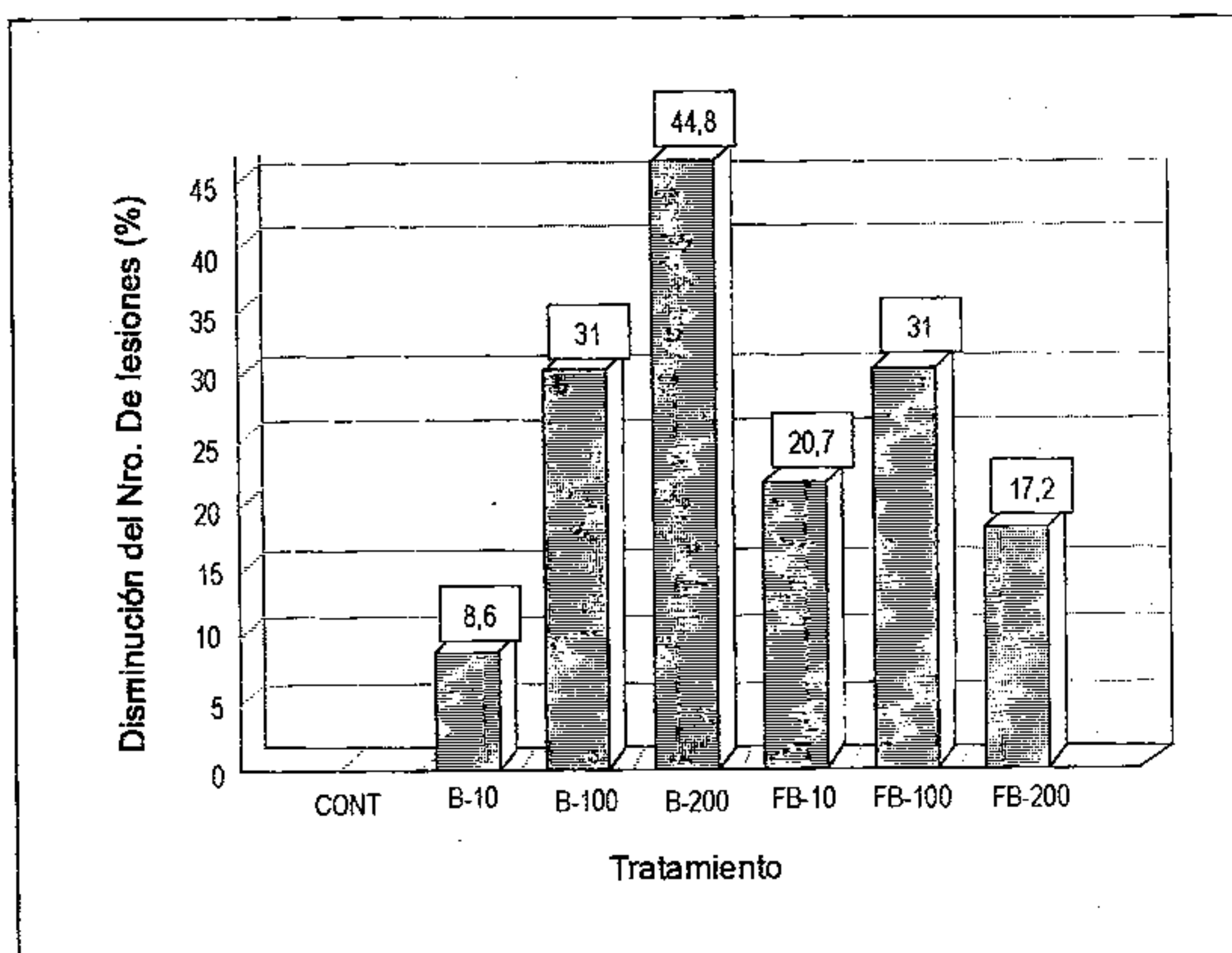
A. ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA

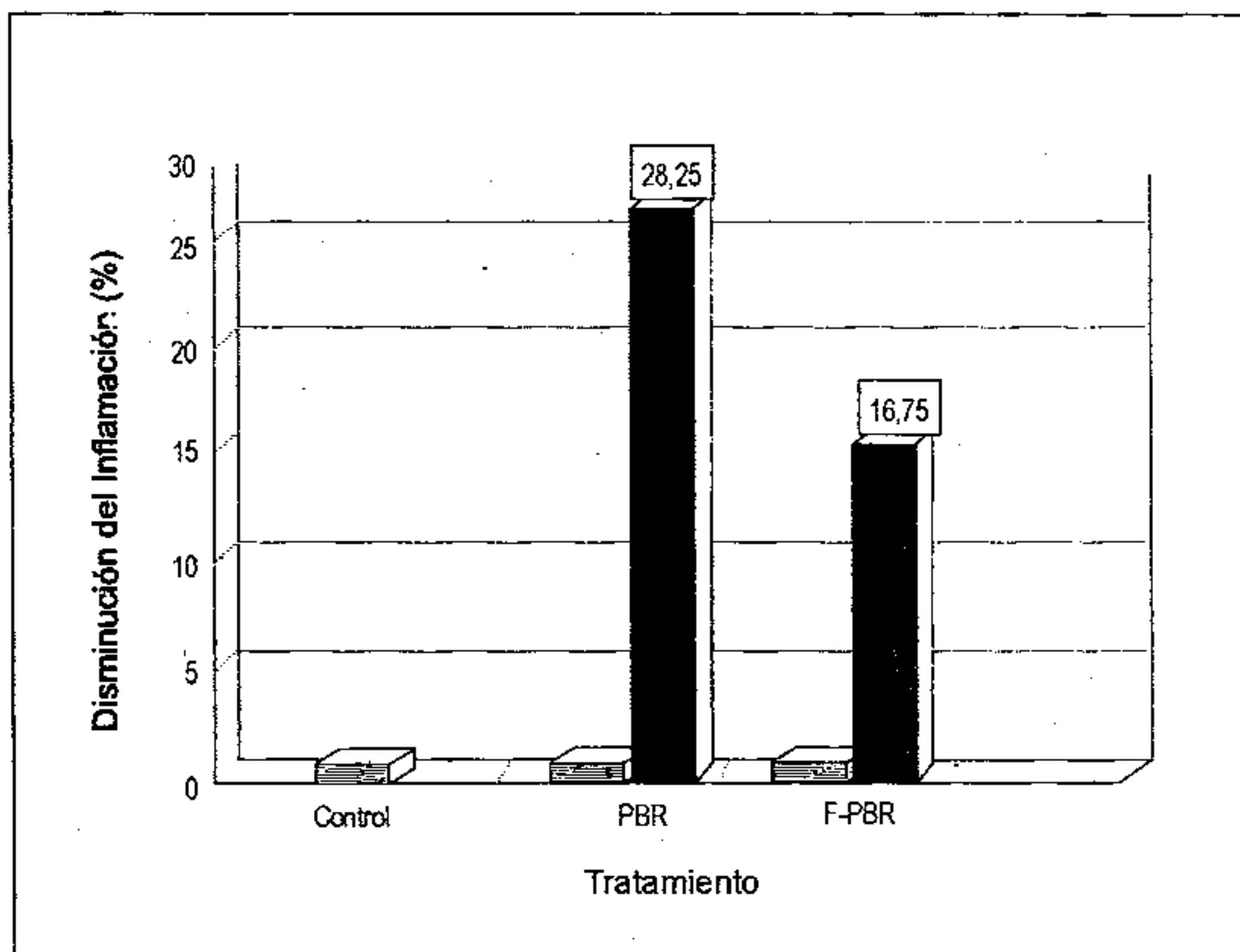
Determinación de Dosis Letal 50 (DL₅₀) por Vía Peroral

Se tomaron ratones albinos, formándose grupos al azar de seis animales cada uno, un grupo recibió el solvente (para el extracto B suspendido en una solución de propilenglicol al 5% en agua destilada) que ayudó a disolver al extracto; hasta producir la muerte de todo el grupo. Se tuvo en cuenta el criterio de Williams para la calificación de los resultados de DL₅₀ (mg/kg); la sustancia es extramadamente tóxica, si la DL₅₀ < 1; altamente tóxica < 50; moderadamente tóxica < 500; ligeramente tóxica < 5000; prácticamente no tóxica < 15 000; y relativamente inocua > 15 000.

La DL₅₀ para B, estaría sobre los 5360 mg/kg administrados a los ratones, dada la dificultad para concentrar más la solución con el producto; no obstante ello, se puede comentar, que los animales de experimentación no murieron a ese nivel de dosis utilizado, se calificaría al extracto B como una sustancia prácticamente no tóxica, según Williams.

B. Ensayo de Toxicidad Subcrónica, con Dosis Efectiva Media.- 16 ratas se dividieron en dos grupos de ocho animales cada uno; el primero recibió suero fisiológico a la dosis de 2 ml/kg; el segundo 50 mg/kg de B; por vía peroral, durante tres meses; luego se les tomó muestra de sangre para exámenes de laboratorio clínico, guardándose los órganos para un posterior estudio anatomohistológico.

MOTILIDAD INTESTINAL EN RATONES**EFICIENCIA ANTIULCEROSA EN RATONES**

EFICIENCIA ANTIINFLAMATORIA EN RATONES**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. RETI, L. "Ephedra Bases" THE ALKALOIDS, Chemistry and Physiology. Edited by R.H.F. MANSKE and H.C. HOMLES. Vol. III Academic Press Inc., Publishers New York, p. 339, 1953.
2. SPEZIELLER TEIL, C. "CHEMOTAXONOMIE DER PFLANZEN" Editado por R. HEGNAUER, BAND I. BIRKHAUSER VERLAG BASEL UND STUTTGART. P. 441. 1962.
3. HEGNAUER, R. "CHEMOTAXONOMIE DER PFLANZEN". BAND 7, BIRKHAUSER VERLAG BASEL-BOSTON-STUTTGART. P. 546, 1986.
4. JAN LUNDSTROM "B-PHENETHYLAMINES AND EPHEDRINES OF PLANT ORIGIN" THE ALKALOIS. Chemistry and Pharmacology. Edited by Arnold Brpossi. Vol. 35 Academic Press Inc. p. 77. 1989.
5. CHAVEZ T., Alfonso. Boletín de la Sociedad Química del Perú, 1937. Volumen 3.
6. T.J. Mabry, K.R. Markaham and M.B. Thomas. The Systematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag. New York, Heidelberg. Berlin 1970.