

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARNACIA

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD TRIPANOSTATICA *in vivo* DE TRES
ESPECIES VEGETALES DE LA FAMILIA Aetereceae DE USO COMUN EN EL
TRATAMIENTO DE PROTOZOARIASIS EN GUATEMALA EN EL

TerilaTh

lvk

Rreaar't
17,4'I

r,

JPRCIS **Bitei** NA SU AI' IT'

'i'--,

ara optar al titulo de
iMimi OfLA uroglak OF la LAS
bloft0ECCII t_ entrat Irithry,44 ,

QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, Octubre de 1995

DL
06
7 610

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DIRECTOR	LIC. JUROR RUDOLF° PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	LICDA. RILRONORA GATTAN IZAGUTRE
VOCAL I	LTC. MIGUEL ANGEL HERRERA CALMI
VOCAL II	LIC. GERARIX) LRONAL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. MGM, ORLANDO GARZA SAGASTOME
VOCAL IV	BR_ ANA MARIA RODAS CARDONA
VOCAL V	BR. HAYRO OSWALD() GARCIA GARCIA

DEDICO RSTR ACTO

- A MI PADRE JOSE BARABONA en eu memorla y comp un tributo a nue enneflanzas.
- A MT MADRE ~~OCTAVILA DR SARAHONA~~ por brinderme eu amor y apoyo en todo momento.
- A MI RSPOSA MILDRRD cupPrffnnt DR BARABONA eon inmeneo amour.
- A MIS HIJAS ~~EVELYN RSTIBALIZ, ANA GABRIRTA y SOFIA ALEJANDRA~~ per ner la mayor razán de mi esfuerzo.
- A MIS HERMANDS ~~ARMANDO, LECBIA, ROSARIO, OSCAR, ISRAEL~~ y espeelalmente a JOSH LUIS por nu comprenelft y tlempo.
- A MIS COMPAREROS Todoe 'lanoline con quienes compartimos mementos bueneo y melon, GRACIAS.

AGRADECMIENTOS

A la Ueda. Carlota monroy y al Lie. Armando Coiceres For an asesoria y consejoe brindados en la elaboraciOn de Seta teals.

A la Ueda. Mildred MeJia por su valinsa colaboracian en la revision de este trabajo.

Al lie. Federico Nave de la Unidad de Informitica del IIQB por BU valiosa asesoria en el diseno estadistico.

A los departamentos de Zoologia y Cito histologia de la Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia de la riniversidad de San Carlos de Guatemala, por haberme brindado la oportunidad de realizar este trabajo.

A todas lee personas que de una u otra forma oontribuyeron a la finalizacdn de esta 'basis.

11481 CFC

I	RESUMEN	01
II	INTRODUCCION	02
III	ANTECEDENTES	04
	A. Enfermedad de Chagas	04
	1. Generalidades	04
	2- Vector	04
	3. Agente etiolo6gico	05
	4. Ciclo de vida	06
	5. Formes de transmisiOn	07
	B. Patologia	07
	7. Diagnostico	09
	8. Tratamiento	0P
	B. Actividad tripanostAtica <i>in vivo</i>	10
	C. Especies de plantar de la familia Aeteraceee	13
	1. Tagetes lucida	13
	2. Tridax procumbene	15
	3. Naurolaena lobata	16
IV	JUSTIFICACIONES	18
V	OBJETIVOS	20
VI	HIPOTESIS	21
VII	MATERIALES Y METODOS	22
	A. Universe:, de trabajo	22
	B. Recarsos	22
	C. Procedimiento	24
VIII	RESULTADOS	27
IX	DISCUSION DE RESULTADOS	30
X	CONCLUSIONES	33
XI	RECOMENDACIONES	34
XII	REFERENCIAS	35
XIII	ANEXOS	41

I. RESUMEN

El propósito de este estudio fue evaluar la actividad tripanostática *In vivo* de tres especies vegetales usadas comúnmente por la población guatemalteca para tratar algunas enfermedades causadas por protozoos.

Se usaron ratones como modelo experimental, los cuales se inocularon en grupos de cinco a razón de 1×10^6 tripomastigotes/ml de ***Trypanosoma crust.*** A las 24 horas poatinoculación se comenzó a administrar con eonda orogástrica los diferentes extractos a cada grupo, eel como solución salina al control negativo y alopurinol al control positivo. Cada grupo fue evaluado hemocitométricamente a intervalos de siete días (7, 14 y 21 días, respectivamente) obteniendo curvas de parasitemia de los dos grupos control y de los tres grupos de experimentación.

Se hizo un análisis estadístico por medio de un ANDEVA de 2 vías y con las diferencias encontradas se hicieron comparaciones múltiples por medio de la prueba de Dunnett.

El estudio demostró que existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control ($p < 0.05$) y dos de los grupos de extractos de plantas sometidos a estudio. La mayor bioactividad se obtuvo de los extractos acuosos de *Arcuroleena lobata* (tree, punters) y *Tegeten lucid.*, (pericón), mientras que *Tridax procumbens* (hierba del torn) no mostró diferencia estadísticamente significativa entre el control ($p > 0.05$) y los diferentes extractos administrados.

II INTRODUCCION

La geografía de Guatemala, por su posición entre dos ~~oceanos y su gran diversidad de °limas, da como resultado un~~ enorme potencial de recursos naturales y riqueza etnobotánica.

~~Se conoce que el uso de plantas y productos naturales~~ para el tratamiento de algunas enfermedades se remonta a tiempos muy antiguos, hoy esa costumbre se ha heredado de generación en generación, especialmente en las capas sociales de menores ingresos económicos.

Es común el uso de cataplasmas, infusiones, sahumerios, lavativas, etc. para combatir fiebres, diarreas, anemias, infecciones respiratorias, caída del pelo, constipados, etc. (1).

La enfermedad de Chagas es una parasitosis exclusiva del continente americano y estrechamente ligada a la pobreza y al subdesarrollo (2). El alto índice de desnutrición, las malas condiciones higiénicas que predominan en el área rural y el tipo de materiales que se utilizan para la construcción de las viviendas favorece la reproducción del vector y permite la colonización en lugares como grietas, resquebrajos de las paredes, cajones viejos, áticos oscuros, nidos de roedores y principalmente la convivencia con animales domésticos que cohabitaban dentro de las casas (3). Todo esto contribuye a una de las principales formas de transmisión de la ~~Tripanosomiasis Americana.~~ enfermedad que afecta cerca de 40 millones de personas en América Latina y quienes en la

mayoría de los casos no tienen acceso a los medicamentos existentes, tanto por su poca disponibilidad en el mercado y alto costo, como por los efectos colaterales que conlleva.

En Guatemala, se han realizado algunos estudios para evaluar el efecto de extractos de plantas sobre algunos microorganismos, pero esto únicamente *in vitro* (4) de los cuales se han obtenido buenos resultados, sin embargo, la experimentación de estos extractos en modelos vivos, está comenzando. Recientemente se iniciaron estudios sobre esta metodología (5).

El principal objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto tripanostático de tres plantas de conocida actividad antiprotozoaria. Se realizaron extracciones con solventes de distintas polaridades de hojas de *Neurolaena lobata* (tres puntas), ~~*Tagetes lucida* (pericón) y *Tridax procumbens* (hierba del toro)~~: y fueron administrados a grupos de cinco ratones previamente inoculados con una cepa de *Trypanosoma cruzi* autóctona. Se incluyeron dos grupos control, un negativo con solución salina y un positivo con alopurinol.

III ANTECEDENTES

A. Enfermedad de Chagas

I. Generalidades

Carlos Chagas se desempeñaba como médico en Minas Gerais, Brasil cuando fue informado que en las paredes y techos de las viviendas de los trabajadores habían ciertos insectos que de noche picaban y succionaban sangre.

En el intestino de estos insectos encontró unos protozoos flagelados que llama *Trypanosoma cruzi* en honor a su maestro Oswaldo Cruz. Al inocular el parásito a un grupo de monos, tres semanas después recuperó tripanosomas circulantes de la sangre de estos. Posteriormente, aisló el parásito de la sangre de un niño afectado con fiebre, anemia y linfadenopatía generalizada.

Con ello demostró que este tripanosoma es el agente patógeno de una enfermedad endémica en ciertas regiones del Brasil, a la que él llamó "Tripanosomiasis Americana" y que posteriormente ha sido llamada -Enfermedad de Chagas- en homenaje a quien la descubrió (6).

2. Vector

El vector es un insecto del género *Reduvidus* y familia *Triatomidae*, de hábitos exclusivamente nocturnos que provoca una picadura completamente indolora.

--, J.> vectores son el hombre y probablemente animales domesticos (principalmente perros y gatos) que hen side infectados con *T. cruel* (7).

Eetoe vectores son alados Fero capacitados solo pars vuelos cortos, y estrictamente hematfifagos. Pertenece al genero Reduvideo (familia *Triatooldee*) en las que se infectan varies docenas de especies. Sin embargo, solo tree especies: *T. dinddtata*, *T. nitlda* y *Rhodniue prolixue*, bien adaptados a viviendae humane, eon loe responsables de la transmisidn de la enfermedad en Guatemala y Areas de Centro America (8).

Se adaptan mejor a los climes secos, generalmente se lee encuentra en cases de Areas rurales y suburbanas donde hay conditions favorables pare su desarrollo. Se le encuentra en ranchos techados de zacate o de cualquier clase de paJa, en las Paredes de barro no cocido o bajareque. Durante el dia se ()sultan entre el techo pajizo, grietas en las paredde, detras de cuadros o adornoe clue cuelgan o entre madera que ester apilada (9).

I^PIM^PIRIABORIIIIINVISI MISNICAMMANAIA I
t Otoisoteca Centro'

3. Agente etinlOginn

El agents etioloGico, *T. cruel* se hallo en tree formes morfológicamente distintas; relacionadas con los tree diferentes medics en que el parAsito habita. Los amastigotes son organismos de forma esferica u ovalada de 2 um de diAmetro

que no poseen flagelos y representan una forma de multiplicación. Se lee encuentra intracelularmente en los mamíferos huéspedes (10).

Los epimastigotes tienen un flagelo y una membrana costada ondulante: el kinetoplasto, situado delante del núcleo. Son ~~organismos fusiformes de unos 20 um de largo y representan una~~ forma de multiplicación que se encuentra en el tubo digestivo ~~del vector y en cultivos.~~ Los tripomastigotes, tienen el kinetoplasto situado detrás del núcleo, un flagelo ~~8131~~ comp una membrana ondulante que va a lo largo de todo el microorganismo. Miden unos 20 um de largo y representan una forma infecciosa no multiplicativa, aparecen en la luz del recto de los roedores y son infecciosos para los mamíferos (10).

También se encuentran en el mamífero huésped, en donde transmiten la infección de una célula a otra o la inician en el roedor cuando se ingiere con la sangre. *It cruzi* crece ~~en casi todas las células del cuerpo, fibroblastos, células de~~ la médula ósea, de los nodulos linfáticos, adiposas, del músculo estriado, del bazo. del hígado, del riñón y del sistema nervioso (10).

4. Ciclo de vida

Las formas flageladas de *It cruzi* son ingeridas con la sangre que alimenta al insecto y después de una serie de alteraciones y multiplicaciones en el tubo digestivo del

vector, las formas metacíclicas se producen en grandes cantidades y se eliminan con las heces (10).

5. Formes de transmisiAn

La transmisiOn de In enfermedad suele resultar por contaminaciOn de las mucosas o piel herida con heces que contienen las formas infecciosas del tripanosoma (10,11).

En ocasiones el hombre puede infectarse por medio de una transfusiOn de sangre o accidentalmente en el laboratorio. Se ha senalado tambiAn la infecciOn del reciAn nacido a travAs de la placenta, la transmisiAn por is leche de la madre y comiendo carne infectada. La Enfermedad de Chagas se ha descubierto en una gran Area del hemisferio occidental que se extiende desde el sur de los Estados Unidos (Texas) hastn Argentina (9,11).

El organismo invasor, después de penetrar a travAs de las mucosas o de la piel, se multiplica en las calulas de los tejidos vecinos o los ganglios linfáticos regionales en forma de amastigotes. Estos producen pseudoquistes que se rompen, causando una reaccion inflamatoria y linfática. Los cuerpos liberados penetran nuevamente en las °Hulas de los tejides adyacentes o invnden la sangre (10,11).

6. Patologin

PrActicamente cualquier Argano puede ser invadido, pero es mAs probable que se afecte el sistema fagocitico

mononuclear o linfoide, las fibras musculares (en especial cardiacas) y las células neurológicas del sistema nervioso central (11).

En el músculo cardíaco hay infiltración intersticial difusa de células mononucleares y edema interfibrilar, con muchos amastigotes en las fibras cardiacas. La parasitemia puede persistir de cuatro a dos semanas, después de las cuales el parásito permanece inactivo en los tejidos con invasiones pasajeras a la sangre (11).

En la etapa crónica, las principales lesiones se ven en el corazón y en el tubo digestivo. El corazón está dilatado e hipertrofiado sin lesiones vasculares o valvulares. Hay trombos murales frecuentes, en particular en la aurícula derecha y en la punta del ventrículo izquierdo (11).

La presencia de amastigotes dentro de las fibras del corazón solo se descubre en cerca del 30 por ciento de los casos crónicos. Es común observar infartos por embolias en pulmones, bazo, riñones y a veces en el cerebro de ~~pacientes que han muerto por esta enfermedad~~ (11).

Con frecuencia los pacientes en quienes está afectado el tubo digestivo solo presentan megacólon, megacolon o reacción inflamatoria leve en miocardio (11).

En el esófago y colon hay notable disminución del número de células del sistema neurovegetativo y lesiones inflamatorias focales en la capa muscular.

Se cree que el megacólon y el megacolon resultan de

la destrucción del sistema nervioso intramural, relacionado probablemente con la infección del parásito (11).

7. Diagnóstico

Para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* se usan ~~dos tipos de procedimientos: parasitológicos y serológicos,~~ el primero permite detectar al tripanosoma en la sangre y está indicado principalmente en la fase aguda de la infección cuando habitualmente existe una parasitemia elevada. El xenodiagnóstico es el método más sensible, el hemocultivo y el examen de sangre fresca y por centrifugación son también utilizados con frecuencia (12).

El método serológico permite detectar la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* y este especialmente indicado en la fase crónica de la infección. Entre los métodos serológicos más usados están hemaglutinación, el test de floculación, inmunofluorescencia y ELISA (12).

8. Tratamiento

Para el tratamiento de esta enfermedad, las drogas usadas tienen su mayor eficacia en la fase aguda. Muchos compuestos químicos han sido estudiados en la enfermedad de Chagas, pero hasta el momento solo dos han demostrado cierta eficacia contra *T. cruzi* (13).

Estos compuestos son Nifurtimox que es un derivado de 3-metil - 4 - (5"-nitro-furilidenamino) - tetrahidro - 4H -1,4 -

thidiazino-1.1-dioxido y el Benznidazole que es el N-bencil-2-nitro-1-imidazolacetamida (13).

El Nifurtimox, ha demostrado ser efectivo tanto **in vivo** como **in vitro**, sobre las formes amastigotas y epimastigotas del parasito (13).

Estas dos drogas, no disponibles en Guatemala; solo son electivos en un 50 por ciento de los casos de infecciones recientes y producen efectos colaterales como anorexia, perdida de peso, nausea, vomitos, convulsiones, vertigo, excitacion fisica, polineuropatias y eritema multiforme entre otros (13).

B. Actividad tripanocida in vivo

Poco se ha estudiado sobre la actividad tripanocida **in vivo** de algunos compuestos quimicos (14).

Despues del descubrimiento de esta enfermedad en 1,909 y hasta 1,937 ningun compuesto habia sido estudiado en screen humanos con enfermedad de Chagas. La quimioterapia existente es inadecuada ya que no hay una droga lo suficientemente electiva que destruya los parasitos tanto en sangre como los que se hallan en los tejidos. La violeta genciana es el quimico que con mas frecuencia se use para el tratamiento previo de la sangre en transfusiones sanguíneas, la mayor desventaja de su empleo, es la coloración que da a la sangre y a los tejidos del paciente (13).

~~Se han estudiado también antioxidantes fenólicos como el~~

butilhidroxitolueno (BTH). el butilhidroxianisol (BHA), Arlido gAlico y sus Asteres en mueetras de sangre humane infecteda con *T. cruzi*. Al cabo de 24 horas las muestras tratadas con BTH fueron evaluadas y estaban libres de parrisitos (14).

El efecto terapAutico del Alopurinol fue evaluado en ratones infectados con *T. cruzi*, encontrAndose una reducciAn aceptable en los rangos de parasitemia e incremento en la supervivencia de los modelos experimentales (15).

McCabe et el. sugiere el use de Ketoconazole comp un agente tripanocida. Los resultados de sue Dinvestiger:Jones demostraron que este posee actividad contra Leehmenla tanto *in vivo coma in vitro* y actividad contra malnria *in vitro* (16).

Se conoce un derlvado nitroimidazOlico-tidiamAlico (2-amlno-5-(1-met11-5-nitro-2-imidazol11)-1,3,4-tidiazole) es el que mostr6 un marcado efecto tripanocida en ratones infectados experimentalmente con *T. cruzi* en dosis de 500 mg/kg de peso (17).

El crecimiento *in vitro* de epimastigotes fue inhibido por el Alopurinol a dosis de 10 ug/ml. Sin embargo, ningAn efecto fue evidente sobre las formes tripomastlgotas del paresito (18).

Muchos reportes documentan la constante investigaciAn sobre la quimioterapia de is enfermedad de Chagas que ocupa a la Industrie farmacAutica, sin embargo, gulches de las drogas halladas no solo no curan, sino que comprometen el bienestar de los pacientes (19).

En la mayoría de los países se continúa usando mucho de la medicina tradicional, especialmente las plantas y BUS derivados para el tratamiento de algunas enfermedades.

~~Algunas de estas plantas se usan como antiprotozoarios~~ contra malaria y leishmaniasis. Los alcaloides naturales extraídos del árbol de la quina: la quinina y la emetina son ejemplos de medicina natural usada como antiprotozoario desde hace mucho tiempo (19).

Se han estudiado plantas de la familia *Alchorhiteaceae* y se demostró que las hojas de *Cherentia* mostraron una fuerte acción antimalaria, reduciendo en un 50 por ciento los niveles de parasitemia (20).

Fournet *et al.* estudiaron la acción de 14 alcaloides de bifenilosoquinolina *in vitro* sobre tres cepas de *T. cruzi* y leishmania, los cuales mostraron efectos inhibitorios por lo que se sugiere continuar estudios *in vivo* (21).

Estudios hechos en Brasil con extractos de *Rupatorium equalidum* y *Vernonia brasiliana* mostraron acción sobre malaria (22).

Extractos obtenidos de hojas de *Azadirachta indica* y *Pinon* sativaise usaron para probar su acción antimalárica en ratones, solo el segundo de los extractos demostró una actividad significativa disminuyendo la parasitemia (23).

González *et al.* evaluaron el efecto tripanocida de los productos de origen vegetal y usados al norte de Chile, especialmente plantas de la familia *Anteraceae* (11) mede

anteriormente *Cempositae*), encontrando algunas con porcentajes aceptables en la reducción de la parasitemia en ratones (24).

Asuzo y Chimene estudiaron los efectos de extractos de hojas de *Iforinda -Weida* sobre *Trypanosoma brucei brucei* en ratones, observando que el mejor efecto tripanocida se lograba al administrar el extracto simultáneamente con la inoculación (25).

C. Especies de plantas de la familia *Anteraceae* usadas medicinalmente

En los últimos años se han hecho algunas investigaciones tendientes a validar científicamente el uso de las plantas medicinales usadas popularmente para el tratamiento de muchas enfermedades.

A continuación se describen tres plantas de la familia ~~*Asteraceae*~~ seleccionadas de un grupo de 31 que mostraron actividad contra infecciones por parásitos (26). Estas tres plantas fueron escogidas por su facilidad de adquisición, frecuencia de uso, información en las fuentes bibliográficas y distribución en todo el país.

1. *Tagetes lucida* Mart & Gal. - Pericón

a. Descripción y distribución

Hierba perenne, muy aromática, erecta, 30-95 cm de alto, ~~ramas escasas, muy resinosas al secarse. Rojas opuestas y~~

oblongo lanceoladas. 2-10 cm de largo, 3-5 mm de ancho, muy romas y puntiagudas, finamente dentadas, provistas de algunas glándulas oleosas. Flores amarillas en cabezuelas de 9-10 mm de ancho; receptáculo cilíndrico. 5-10 mm de largo, 2-3 mm de ancho, en arreglos terminales. Semilla de 6-7 mm de largo, con ranuras, pappus de 3-4 mm de largo (27).

Native (de México a Honduras, crece en bosques de pino a 1,000-2,000 msnm introducida y cultivada en Estados Unidos y Europa.

En Guatemala crece en: Paten, Jalapa, Guatemala, Quiché, Sacatepequez, Chimaltenango, Huehuetenango, Quetzaltenango y San Marcos (27).

I 1111M^elit oh it IVTOSIOi8 Of On MOS Di GilAftwil
i nlioteca Cenirai

b. Usos y propiedades

La decocción de las flores y hojas se usa para tratar el paludismo (28,28) gripes y resfriados (28), mordeduras de escorpión y enfermedades hepáticas (30).

Se le atribuyen propiedades antisepticas, digestivas y antiespasmódicas. Ampliamente usada en las afecciones del tracto gastrointestinal, se usa en el tratamiento de la diarrea y flatulencia, disentería, dolor de estómago e indigestión (30) -

Por ensayos farmacológicos se ha demostrado que las hojas tienen una actividad depresiva del sistema nervioso central y actividad hipotensiva (29). Estudios realizados en Guatemala demuestran que los extractos Routh-Ince muestran una actividad

antiespasmódica *in vitro e in vivo* y que la Dose por vía oral es mayor de 50 g/kg de peso. Estudios posteriores demuestran que la actividad antiespasmódica se encuentra principalmente en la fracción rica en dicumarinas (30).

C. Composición química

La planta contiene tres resinas ácidas, ácido gálico, tanino, glucosa, dextrina, pectina y sales minerales (31), alcaloides cuaternarios, flavonoides, saponinas, leucoantocianinas (32), quercetina, patuletina y limoneno (33).

2. *Tridax procumbens* L. - Hierba del toro

~~a. Descripción de la tribu~~

Hierba perenne, base leñosa, tallos ramificados, 15-30 cm de largo, a veces enraizada en los nodos. Esparsa o densamente hirsuta. Hojas cortamente pecioladas, limbo romboidal, oval o lanceolado, 2-7 cm de largo, agudas en el ápice, verde oscuro, márgenes fuertemente dentados, hirsuta en el envés, escabrosa en el haz, flores en cabezuelas radiadas, solitarias en pedúnculos desnudos. 10-20 cm de largo, involucros ampliamente campanulados, 5-8 mm de largo; marion biseriados; paleas persistentes, ligulas amarillentas; flores del disco azules, 5-7 mm de largo; estambres negros, 2-5 mm de largo, pilosos.

Nativa de Mexico y Centro America; introducida en Sur America, El Caribe, Asia y Africa. En Guatemala se halla en El Progreso, Zacapa, Chiquimula, Guatemala, Alta Verapaz, Raja Verapaz, Chimaltenango, Eecuintla, Izabal, Jutiapa, Paten, Quiche, Retalhuleu, Sacatepequez, San Marcos, Santa Rosa y Suchitepequez (27).

b. Uses y propiedades

La planta fresca o en decocion se usa para tratar la anemia, dolor de cabeza, alergias, hipertension, diabetes, fiebres, catarros y enfermedades hepaticas (29,30).

Se le atribuyen propiedades depurativas, febrifugas y desinflamantes (34).

c. Composicion quimica

Las hojas contienen un alcaloide no identificado. En la revision realizada en la literatura disponible, no se encontro ninguna informacion sobre la composicion fitoquimica de esta especie.

3. *Neurolepis lobata* R. Br. - Tres puntas

a. Descripcion y distribucion

Arbusto semileñoso, con tallos erectos, estriados, muy ramificados de 1.5 - 3.0 m de altura. Hojas alternas y diversamente lobadas, asperas al tacto, las inferiores hasta

de 30 cm de largo y las superiores mucho más cortas e inflorescencia de color amarillo (34).

Se encuentra en las partes bajas de ambas vertientes pacífica y atlántica. Desde Yucatán hasta Colombia y el sur de Venezuela. de 0-700 msnm. En Guatemala se encuentra, en Alta Verapaz, Chiquimula, Escuintla, Izabal, Patti, El Progreso, Quetzaltenango. Retalhuleu, San Marcos. Santa Rosa y Suchitepequez (34).

b. Usos y propiedades

~~La inflorescencia de Seta plantae se usa como tónico estomacal,~~
febrífugo, antidiarróico, amebicida y contra la malaria (34).

IV JUSTIFICACIONES

Guatemala es un area endemica de enfermedades causadas por protozoon, dentro de las cuales esta enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana, producida por *T. cruzi* y que afecta cerca de 40 millones de personas en America Latina, estimandose que existe una poblacion de 100 millones con alto riesgo de adquirir esta enfermedad, constituyendose por lo tanto, uno de los problemas de salud mas importantes del continente.

~~La precaria situacion economica de la mayoria de la gente en nuestras comunidades no lea permite adquirir las drogas~~ existentes en el mercado, para tratar de combatir la enfermedad, que ademas de ser muy caras, son poco efectivas, dificiles de conseguir y sobre todo, provocan una serie de efectos colaterales que desestimulan su uso.

~~Esta situacion, ha hecho que desde siempre el guatemalteco comun, busque una alternativa que se ajuste a sus~~ necesidades y recurra a costumbres y tradiciones que forman parte de su herencia cultural, haciendo uso de esta enorme variedad de especies vegetales para curar algunas enfermedades.

Existe en esta Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia, esta infraestructura necesaria y esta experiencia de mas de 10 años de investigacion sobre actividad antimicrobiana vegetal y un proyecto internacional de cooperacion que esta financiando estudios sobre enfermedades tropicales en Guatemala, lo que

permite validar científicamente el uso popular de esta planta buscando una alternativa efectiva contra la tripanosomiasis.

V OBJETIVOS

A. General

Evaluar la bioactividad de los extractos de plantas usadas en el tratamiento de infecciones por protozoos.

B. Especificos

1. Establecer una metodología apropiada para la extracción y demostración de la actividad tripanostática de plantas medicinales.

2. Demostrar la actividad tripanostática *in vivo* de extractos obtenidos de las hojas de plantas de la familia Asteracea: *T. lobata*, *T. lucida* y *T. procumbens*.

VI HIPOTESTS

Al menos uno de los extractos de las tres plantas estudiadas tiene actividad tripanostática *in vivo*.

VII MATERIALES Y METODOS

A. Universo de trabajo

Lo constituyeron todas las plantas de la familia *Asteracea* a las que se les atribuye Propiedades antiprotozoarias.

1. Nuestra

De un grupo de plantas de la familia *Asteracea* que fueron estudiadas y que presentaron propiedades antiprotozoarias, fueron escogidas tres por su frecuencia de uso, adquisición y distribución en el país; siendo estas: *N. lobata* (tres puntas), *T. lucida* (pericán) y *It procumbens* (hierba del toro). Se evaluó la acción tripanostática en tres grupos de cinco ratones y se utilizó como control un grupo con Alopurinol y un grupo con solución salina..

Los ratones fueron inoculados con una cepa autóctona de *T. cruzi* caracterizada por Rodas en 1,992 a razón de 1×10^4 tripanosomas/ml haciendo un total de 25 ratones/planta (35).

B. RECURSOS

1. Recursos humanos

Tesista Bachiller Jorge Hth. Parahona S.

Asesor Lic. Armando Cáceres

Coasesor Msc. Carlota Monrny

2. Recursos institucionales

Departamento de Citchistol6gia, Escuela de Quimica Biologica, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia, USAC.

Departamento de Zoologia, Area de InvestigaciOn de enfermedad de Chagas, Escuela de Biologia, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia, USAC.

Departamento de AnAlieis Aplicado, Escuela de Quimica FarmaceUtica, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia, USAC.

3. Recursos materiales

a. EcialP0

- Microscopic
- Rotavapor
- Percolador
- Probetas
- Vase:tie de precipitaci6n
- Erlenmeyer

b. Reactivos

- Diclorometano
- Etanol al 80 %
- Polivinilpirrolidona (PVP)
- SoluciOn de Ringer
- Alopurinol
- Soluci6n saline. al 0.85 %

c. Materiales

- Organos secos de las plantas
- Cajas plásticas para los ratones
- Alimento para ratones
- Aserrín de madera
- Jeringas luer tip de 1 cc para inoculación

d. Modelo experimental

-
- ~~- Ratones suizos albinos hembras o machos de 6 semanas de edad y peso entre 20-25 g.~~
-
- Cepa guatemalteca de *T. trim!* ITD/GT/92/MAR-6.

C. PROCEDIMIENTO

1. Extracción de principios activos

De cada una de las plantas se obtuvo tres clases de extractos: polar (diclorometano), medianamente polar (etanol) y apolar (agua).

Se colocaron 100 g de material vegetal completamente seco y se agregaron 500 ml de diclorometano por 24 horas, tiempo después del cual se colectó el extracto y se agregaron nuevamente 500 ml de diclorometano, colectándolo 24 horas después y se juntó con el extracto anterior.

Una vez realizadas las dos extracciones con Cl-CH el siguiente paso fue la extracción con etanol al 80 por ciento por 24 horas dos veces y luego la extracción con agua

hirviendo por una vez. Los tres extractos obtenidos de cada planta fueron concentrados en rotavapor.

2. Apareamiento y reproducción

~~Se trabajó un grupo de ratones de raza albina (suizos) en~~ reproducción que al cabo de 21 días parieron camadas de aproximadamente 10 individuos, lo que permitió formar grupos de ratones con el mismo sexo (hembras o machos), con una edad aproximada de 6 semanas y un peso entre 20 y 25 g.

3. Inoculación de cepas de *T. cruzi*

Cinco ratones por grupo, fueron inoculados con cepas de *T. cruzi* autóctonas, clasificadas (ITD-GT/92/MAR-5) según criterios de UNDP/World Bank/WHO, Special Program for research and training in tropical diseases on standardization of methods for *T. anti* classification, encontradas en la ampolla rectal de *T. dimidiata* localizada en Villa Canalee y caracterizada por Rodas en 1,992 (35).

4. Administración de extractos

24 horas después de haber inoculado los ratones se les administró por vía oral los extractos obtenidos con los diferentes solventes a razón de 500 mg/kg de peso. Se incluyó un grupo control negativo al cual se le administró solución salina y un grupo control positivo que fue tratado con Alopurinol. A intervalos regulares de 7 días (7, 14 y 21

dial) fue obtenida una muestra de 5 μ l de sangre por un pequeño corte en la parte distal de la cola y evaluada hemocitométricamente para determinar la parasitemia.

5. Cuantificación del parásito

La cuantificación de parásitos se obtuvo extrayendo 5 μ l de sangre de la parte distal de la cola con pipeta calibrada y observación microscópica. El recuento se hizo en cámara de Neubauer. La cuantificación de la reducción de parásitos se calculó por medio de curvas comparando el número de tripomastigotes obtenidos de los ratones bajo administración de los extractos de las plantas y los grupos control.

6. Diseño experimental

El diseño experimental fue de bloques al azar con 5 tratamientos por plantas y los bloques fueron diez diferentes de inoculación.

Los tratamientos fueron: solución salina como control negativo, Alopurinol como control positivo, extracto diclorometánico, extracto etanólico y extracto acuoso.

El número de repeticiones fue 5 por tratamiento con un $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.1$ y un límite de error igual a 2 desviaciones estándar. El análisis estadístico se hizo por medio de un ANDEVA de 2 vías y con las diferencias encontradas se hicieron comparaciones múltiples por medio de la prueba de Dunnett.

VIII RESULTADOS

A. Estandarizacinn del método:

La metodología establecida para la obtención de los extractos de las plantas y los lotes de ratones de cinco individuos, permitió manipular de manera adecuada los modelos experimentales, tanto en la dosificación de los extractos como en los recuentos hemocitométricos para la elaboración de las respectivas curvas de parasitemia. Se determinó la dosis del Alopurinol como control positivo (10 ug/kg de peso).

B. Curva de parasitemia de *N. lobata*

En la (malice te 1 se observen las curvas de parasitemia de *T. crawl* de los grupos control y de los diferentes extractos de la planta. En el día 7 solo en los controles negativo y positivo se encontró parásitos; a partir del día 14 todos los grupos se comportaron de forma similar, la mayor ~~diferencia entre los grupos se observó a partir del día 21, en~~ donde el grupo del control negativo muestra 92,000 tripomastigotes/ul, el grupo control positivo 8,640 tripomastigotes/vl, el extracto diclorometanico 87,000 tripomastigotes/ul, el extracto etenoliso 20,000 tripomastigotes/ml y el extracto acuoso 8,940 tripomastigotes/ml (table 1).

Se hizo un análisis de varianza de 2 vías y se demostró que existe diferencia estadísticamente significativa entre

grupos ($p < 0.05$). Se realizaron comparaciones multiples con lo que se comprobó que existe diferencia estadísticamente significative entre el control negativo y el extracto acuoso, y extracto etandlico; mientras que no hay diferencia con el extracto diclorometdnico (table 4).

La grAfica 1 muestra el efecto de los diferentes extractos de *N. lobate* sobre las curves de paranitemia de *T. cruzi*.

C_ Curve de paraeitemia de *T. luclda*

En la grdfica 2 se observan las curves de parasitemia de *T. cruzi* de los grupos control y de los diferentes extractos de la planta.

Durante los diem 7 y 14 las curves tuvieron un comportamiento similar, observando la mayor diferencia entre ellas a partir del dia 21. donde el grupo control negative mostrd 132,640 tripomastigoteslul, el grupo control positivo 8,640 tripomatigotes/pl, el extracto acuoso 32,400 tripomastig°tes/1117 el extracto etandlico 43,760 tripomestigotes/pl y el extracto diclorometAnico 72,960 tripomestigotes/1 (table 2).

Se hizo una andlisis de varianza de 2 vies y se demostró que existe diferencia estadísticamente significative entre grupos ($p > 0.05$). Se realizaron comparaciones multiples con lo que se comprobó que existe diferencia estadísticamente

significative entre el control negative y el control positive. extracto etannlico, extracto acuoso y extracto diclorometrdnico (table 5).

La grAfica 2 muestra el efecto de lee diferentes extractor de *T. lucida* sobre las curves de parasitemia de *T. cruzi*.

D. Curva de parasitemia de *T. procumbens*

~~En la grafica 3 se observan las curves de parasitemia de *T. cruzi* de los grupos control y de los diferentes extractoo de la Plante.~~

El comportamiento de cliches curves fue similar en todo el ensayo, observando el pico máximo el dia 21 cuando el control negativo mostrO 35,840 tripomastigotes/pl, el control positivo 68,000 tripomastigotes/pl, el extracto acuoso 20.160 tripomastigotes/n1, el extracto etan6lico 15,040 tripomastigotes/zil y el extracto diclorometrdnico 97,280 tripomatigotes/P1 (table 3).

Se hizo un andlisis de varianza de 2 vies y se encontrO que no exists diferencia estadisticamente significative entre grupos (table 6).

IX DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La enfermedad de Chagas es una parasitosis que afecta a cerca de 40 millones de personas en América Latina y quienes en la mayoría de los casos no tienen acceso a los medicamentos existentes en el mercado.

La quimioterapia usada hasta el momento no es adecuada, ya que las drogas utilizadas, además de ser muy caras, son poco efectivas, difíciles de conseguir y sobre todo, provocan una serie de efectos colaterales que desincentivan su uso.

En este estudio, el propósito principal fue realizar el tamizaje preliminar en busca de un medicamento alternativo natural que este al alcance de toda persona afectada por esta enfermedad.

Se evaluó la acción tripanostática de tres plantas medicinales que la literatura informa son usadas por la población guatemalteca para el tratamiento de algunas enfermedades causadas por protozoos (26,28,34). Se estudió específicamente la acción tripanostática *in vivo* (5) por lo que se utilizaron ratones como modelo experimental. Se infectaron 5 grupos de 5 ratones cada uno por planta, al grupo control negativo se le administró solución salina, al grupo control positivo se le administró Alopurinol y a los tres restantes, los extractos de cada planta obtenidos con diferentes solventes. Se evaluó la parasitemia los días 7, 14 y 21, respectivamente.

La variación entre grupos controles y de experimentación

y aun dentro de los grupos Memos, pudo deberse a la inmunidad natural de cada individuo; pues nunca se trató de minimizar este factor usando animales de la misma camada, la misma edad, el mismo sexo, el mismo peso, controlando condiciones y horarios estandar de inoculación y dosificación de los ~~extractor,~~ fue evidente ~~las diferencias intrinsecas~~ entre ellos, como lo demuestra el hecho de que algunos haven desarrollado parasitemias tan altas respecto a los demás.

N. lobate (tree puntas) ha sido usada como un agente antiprotozoario muy efectivo contra la malaria y leishmaniasis (26.34) y en este caso mostró ser muy efectiva también contra *T. cruzi*. Como se puede observar en la table 1 el efecto del extracto acuoso y etanolico respecto a los controles es muy marcado, ya que los datos obtenidos tienen una menor dispersion incluso que el alopurinol, que sirvio como control positivo, lo que viene a confirmar los estudios *in vivo* hechos por Medinilla en 1993 (36). Yapur en 1994 (5) y los estudios *in vitro* por Caceres en 1995 (37). Al hacer el ANDEVA de 2 vias se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa entre grupos ($P < 0.05$) (table 4).

It lucida (pericón) se ha usado con efectividad contra malaria (28.29) y en este caso mostró ser efectiva aunque en menor cantidad también contra *T. cruzi* que es igual que *Plasmodium Mene* una fase como parásito de la emigra.

Al hacer el análisis de varianza de 2 vias se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa entre

grupos ($P < 0.05$) (table 5), pues al compararse la parasitemia de los grupos de experimentación fue menor que la del grupo control negativo (gráfica 2).

T. procumbens (hierba del toro) la literatura lo menciona como una infusión antiprotozoaria y efectiva en la amebiasis, leishmaniasis y malaria y como antihelmíntico (26, 34) sin embargo, en este caso mostrará poco efecto tripanostático, pues hubo poca diferencia entre las curvas de parasitemia de los extractos de la planta y el grupo control, como se observe en la gráfica 3 el extracto acuoso y el extracto etanólico muestra bioactividad, sin embargo hay una gran variabilidad entre grupos debido quizás a la inmunidad natural de cada individuo.

Al hacer un ANDEVA de 2 vías se encontró que no existe diferencia estadísticamente significativa entre grupos ($D > 0.05$) (table 6).

Tomando en cuenta los resultados obtenidos. puede afirmarse que de las tres plantas estudiadas, dos muestran valor potencial como agentes tripanostáticos, ya que se ~~encontra una disminución en los rangos de parasitemia a~~ valores aceptables y en ninguno de los ensayos se observaron efectos tóxicos a dosis de 500 mg/kg de peso For vía oral, resultados por demás alentadores por lo que se debe realizar los estudios farmacológicos y fitoquímicos correspondientes para dilucidar las estructuras de los principios activos responsables y poder aplicarlos en la clínica.

X CONCLUSIONES

A. La metodología utilizada en este estudio es apropiada, fácil de implementar y confiable.

B. El extracto acuoso de *AL Inhatn* (tres puntas), hierba usada comúnmente contra malaria y leishmania mostró un marcado efecto tripanostático *in vivo* el cual es estadísticamente significativo.

C. El extracto etanólico de *T. lucida* (periconi, hierba usada comúnmente como antimalárico y antidisentérico, mostró un marcado efecto tripanostático *in vivo* el cual es estadísticamente significativo.

D. *T. procumbens* (hierba del toro), hierba usada comúnmente ~~como infusión antiprotozoaria, tuvo un efecto poco apreciable~~ sobre *T. cruzi* el cual no es estadísticamente significativo.

XI RECOMENDACIONES

- A. Adecuar las instalaciones Para un bioterio en el que se puedan mantener animales en condiciones adecuadas de trabajo.
- B. Determiner la concentracifin inhibitoria minima (CTM) y dosis efectiva 50 (DE"o) pare los extractos de *N. lobate* y de *T. lucida* y saber a que concentracift Be inicia la accian tripanostAtica.
- C. Efectuar estudios fitoquimicos de *M. lobate* y de *T. lucida* pars dilucidar los princTplos activos r-sponsables de la actividad tripanostAtica.
- D. Repetir las investigaciones sobre *T. procumbene* evitando la variabilidad entre los ratones para comprohar en efectividad contra *T. cruzi*, aunque no se hayan obtenidos resultados positivos en el presente estudio.
- E. Spacer una forma de solubilizar el extracto diclorometanico para poder adminietrarlo a los modelos vivos sin exponerlos o en su defecto, eliminar su uso.
- F. Continuer las investigaciones con extractos de plantms para poder validar cientificamente su uso, plies es de resalter la importnncia que para la gente de escasos recursos representa la medicine alternative

XII REFERENCIAS

1. Institute Indigenista Nacional. Aspectos de la medicina popular en el Area rural de Guatemala. Gnat. Indigena 1971; 6: 1-330.
2. Prate. A. Implicaciones Epidemiologicas e Socioeconomicas de Doenca de Chagas. Brasilia Med. 1973; 9(3-4): 69 71.
3. UNDP/WORD BANK/WHO. Tropical Disease Progress in International research 1987-1988. Ninth Program Report. Special Program for Research and Training in Tropical Disease TDR. Geneva 1989. 92 p. (30-34).
4. Ovando AE. AcciOn antibacteriana *in vitro* en plantas comunmente usadas Para el tratamiento de afecciones respiratorias. (Tesis de graduaciOn. Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia) 1989. 46 p.
5. Yapur AL. Efecto de infusiones de *Jacaranda mimosifolia*, *Neurviaona lohata* y *Solanum hartwegii* sobre curvas de parasitemia de *Trypanosoma cruzi* en ratones. (Tesis de graduaciOn, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia) 1984. 51 p.
6. Macedo V. Chagas disease. American Trypanosomiasis. (In Wyngaertgen J, Smith L. Eds. Cecil Textbook of Medicine. Philadelphia: W. Saunders. 1982. 2085 p. 1728-31).

7. Cecil L. Tratado de Medicine Interne. 14 Ed. Buenos Aires 1986. 1027 p. (664-667).
8. Monroy C. Vectores de la enfermedad de Chagas en Guatemala. Guatemala: Memories del I seminario Internacional de Enfermedades Tropicales. JICA, 1992. 128 p. (115-117).
9. Organizacift Mundial de la Salud. Situation de la enfermedad de Chagas en las Americas. Rol. Epidemiol. OPS 1984: 5: 5-9.
10. Brown H, Neva F. Parasitologia Clinica. 5 Ed. Mexico: Interamericana, 1985. 360 p.
11. Robbins S. Patologia Eestructural y Funcionol. 4a. Ed. Mexico: Interamericana, 1990. 739 p. (432-434).
12. Platero D. BUSqueda de *T. cruzi* por medio de xenodiagnOstico artificial en muestras de sangre de donantes y en pncientes con soapecha de enfermedad de Chasms. Memories VIII Congreso Latinoamericano de Parasitologia, Guatemala 1987. 364 p. (301-302).
13. Morello A. The biochemistry of the action of drugs and the detoxieation mechanism in *T. cruzi* Comp Biochem Physinl 1988; 90(1): 1-12.

18. Mc Cabe **R. et al.** Ketsconazole protects against infection with **T. crugi** in a murine model. *Am J Trop Hyg* 1963; 32(5): 960-965.
17. Brener Z. Recent advances in the chemotherapy of Chagas disease. **Mem.** Institute Oswald^o Cruz. Rio de Janeiro, 1984; 79: 149-155.
18. Avila JL. Avila A, Mufloz E. Effect of allopurinol on different strains of **T. eruml.** **Am J Trop Med Hyg** 1981; 30(4): 769-774.
19. Phillipson D, Wrigth C. Medicinal plants in tropical medicine. Medicinal plants against protozoal disease. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1991; 85: 18-21.
20. Amorin C. Diaz A. Screening of the antimalarial activity of plants of the **CMcurbitacana family.** **Mem** Met Oswald^o Cruz, Rio de Janeiro 1991; 88: 177-180.

21. Fournet A. et al. Activita anti-Parasitaria, alcaloides bisbenzylisoquinol6iques. II: Activit6 in vitro Bur des epimastigotes de trete souches typifiees de *Trypanosoma cruzi*. J Ethnopharmacol 1988; 24: 337-343.
22. Curvalho LE, Frettl A. Antimalarial chemotherapy with natural products and chemically defined molecules. Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro, 1986; 81: 154-156.
23. Abatan M, Makinde M. Screening *Amadireolda indica* y *Pinion Asthma?* for possible antimalarial activities. J Ethnopharmacol 1986; 17: 85-93.
24. Gonzalez J, et al. in vitro activity of natural products against the tripomastigote form of *trypanosome crust* tilm Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro 1986; 81: 154-156.
25. Azuso IV, Chimene UN, Effects of *Pforinda locida* leaf extract on *T. brucei* infection in mice. J Ethnopharmacol 1990; 30: 307-317.
26. Maki J, Caceres A. Preliminary Studies on the effects of plant-origin drugs against parasites, Especially *Trypanosome crust* in Guatemala. Internal Report of JICA, USAC 1993. 28 p. (23-26).

27. Martinez M. Las plantas medicinales de MA:elec. Mexico: Ed. Betas 1969. 656 p.
28. Morton FJ. Atlas of medicinal plants of Middle America. USA: Illinois, 1981. 1429 p. (804•808).
29. Dieseldorff EP. Las plantas medicinales del departamento de Alta Verapaz. Anales de la sociedad de Geografia e Historia de Guatemala. 1940, 16: 92-105.
30. Marroquin E. Contribucift at estudio farmacol6glico de ~~Taucida~~ (peric6n) como antiespasm6dico. (Tests do graduacien, Facultad de Ciencias Quimleas y Farmacia) 7979. 48 p.
31. Oliva AM. Recopilaci6n botainica y anAlisis quimieo cuantitativo de algunas especies de plantas medicinales usadas en Guatemala. (Teals de graduaci6n, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmacia) 1979. 54 p.
32. AlcAntara MR. Actividad antiminrobiana del genero Tegetes. (Ten's de graduncift, Facultad de Ciencias Quimien.r y MI-mania) 1967. 45 p
33. Orellann SL. Indian medicine in higland Guatemala. Albuquerque, New Mexico 1967. 1225 p. (704-709).

34. Nash D. William L. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany 24(121): 95-97, 177-208.
35. Rodeo AG. Caracterización biológica de cinco especies guatemaltecas de *Trypanosoma orusi* y larvas de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma nitida*. (Tesis de grado, Facultad de Ciencias Químicas y Fermentadas 1994. 53 p.
36. Medinilla BE. Evaluación farmacológica y toxicológica *in vitro* de plantas comunmente empleadas en Guatemala contra la malaria. IIQB. 1993;9:7-10 Facultad de Ciencias Químicas y Fermentadas USAC.
37. Dittman A, Maki J. Actividad antimicrobiana de 10 plantas nativas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones por protozoos. Mem. II conferencia del proyecto Para la investigación de enfermedades tropicales. Guatemala: MCA 1995. pp 1-7

I 1111141141 If LA 11.11NRSIOAO OE SAW Mg Ot ;OJOS&
| **Bionoteca tzentrat**

'CT T T - "1■11T.ICC,S

O FLA B" 1 CPA. No - 1

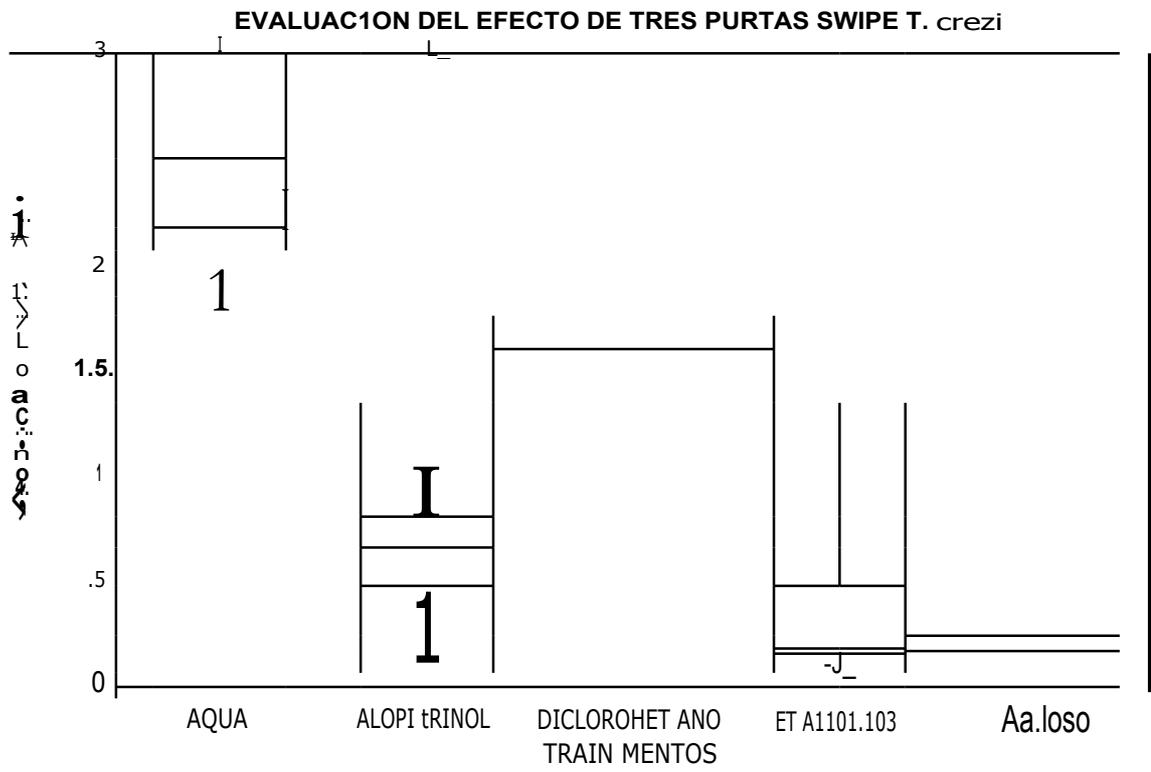


TABLA N' 1
TRES PUNTAS

ENSAYO;		FOUR							
	11	Y2	Y3	14	15	PROM,	DESV ST,	ICOEF VAR,	
li	12888	111 ⁶	,11i88	id1388 ⁷	P188	12388:8 ^{6,9}	M 43:11 ^{7,76}	2i,30 :8:11	
AREA;	2283+23	1736305	2484388	2411737	2513158				
ENSAYO;		ALOPURINOL							
X	1	it	Y2	Y3	14	15	PROM,	DESV ST,	COEF VAR,
zi	Sig	12Si	64A	12Ii	1188 ¹⁰	808:6 ^{10,2}	23:11	45,87 11:	
AREA;	172011	231273	118076	230692	33352				
ENSAYO;		ETANOLICO							
X	Y1	Y2	13	14	YS	PROM,	DESV ST,	COEF VAR,	
17 ⁷	16120 ⁰ 76000	10	1600	M88 ⁰	1188 ⁰	2,0 24886:8	0.2 157072:	#0,6/96 15:161	
AREA;	1386000	19,000	84000	196000	168000				
ENSAYO;		ACUOSO							
	11	18	13	14	15	PROM,	DES? ST,	COEF VAR,	
/i	11188	1,88	i1588 ⁰	1188	1888	11E8 8 ^{0,0}	0,0 22342?:,8	!Oudot 489	
AREA;	252000	252000	280000	84000	136000				
ENSAYO;		OICLOROTETANICO							
X	11	Y2	13	Y4	Y5	PROM,	DESV ST,	COEF VAR,	
17 ⁷	.4188 ⁰	81638 ⁰				89888:8 ^{0.0}	41:;1 ^{0.0}	101v/ot 774:i1	
AREA;	1666000	154700	0	0	0				

TULA N° 4

TRES PUNTAS

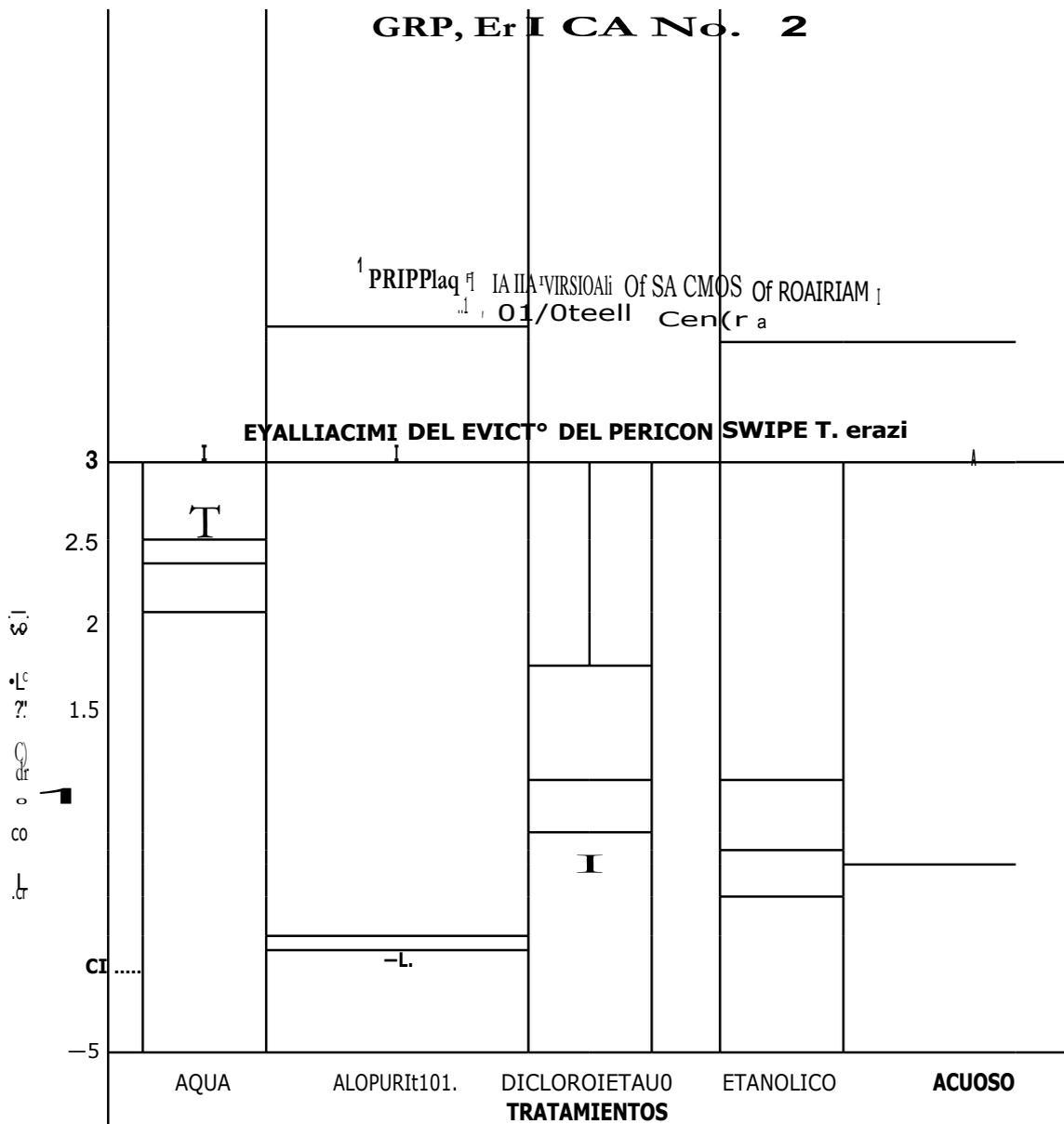
AREA BAJO LA CURVA

RATON	AGM	ETANOLICO	ACUOSO	OICLORONETANICO	ALOPURINOL
1	2288422,50	1386000,00	252000,00	1666000,00	2920147,00
2	1796205,00	196000,00	252000,00	1547000,00	952129,50
3	2434387,50	84000,00	280000,00		1703157,50
If	2541786,00	196000,00	84000,00		1596136,50
5	2513157,50	168000,00	196000,00		
Prosodic	2318801,80	406000,00	212800,00	1606500,00	2044142,62
Dosv, St, 1	306723,75	549756,31	78199,74	84145,710	1294279,80
Coif Vor, 1	13,23	135,41	36,75	5,24	63,32

ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	Ct.	CV	F
Trotosientos	14246720684411,40	3	4748906894803,81	38,18
Error	1616811668509,80	13	124370128246,91	(0(0,05)
Total	1586353235292,20	16		

COMPARACIONES		DUNNETT
Aqua - Etonelicc	-1912801,80	(0(0,05) 577680,62
Acuo - Accocc	-2106001,80	(01. 0,05) 577680,62
Aqua - Diccromotorico	- 712301,80	(NS) 764129,63



TASLA No 2
PERICON
(Trloomosti Wasit

ENSAYO; AGUA

X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
g	120868	110608 ⁶⁵⁶	186000 ^{44*6}	140868	156
AREA;	2131976	1944940	2397381	2482463	2749'

ENSAYO; ALCPURINOL

X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
14	486	12186 ⁵	6408 ⁶	121E6 ^I	d
AREA;	172011	231273	118076	230682	SS

ENSAYO; ETANOLICO

X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
17	4068i	580	z41h	203	76z
AREA;	706167	1083298	424057	571284	18491

ENSAYO; ACUOSO

X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
o	SA81	208 ¹⁰	ssi3;8 ⁹	32868 ^{It}	S'0'
AREA;	577157	507675	649408	581550	6187

ENSAYO; DICLOROMETANICO

X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
11	88888	60888 ¹¹	48888 ⁸	136828 ^{II}	32
AREA;	1564988	1080482	859857	23941E1	579";

TABLA No 5

PERICON

AREA BAJO LA CURVA

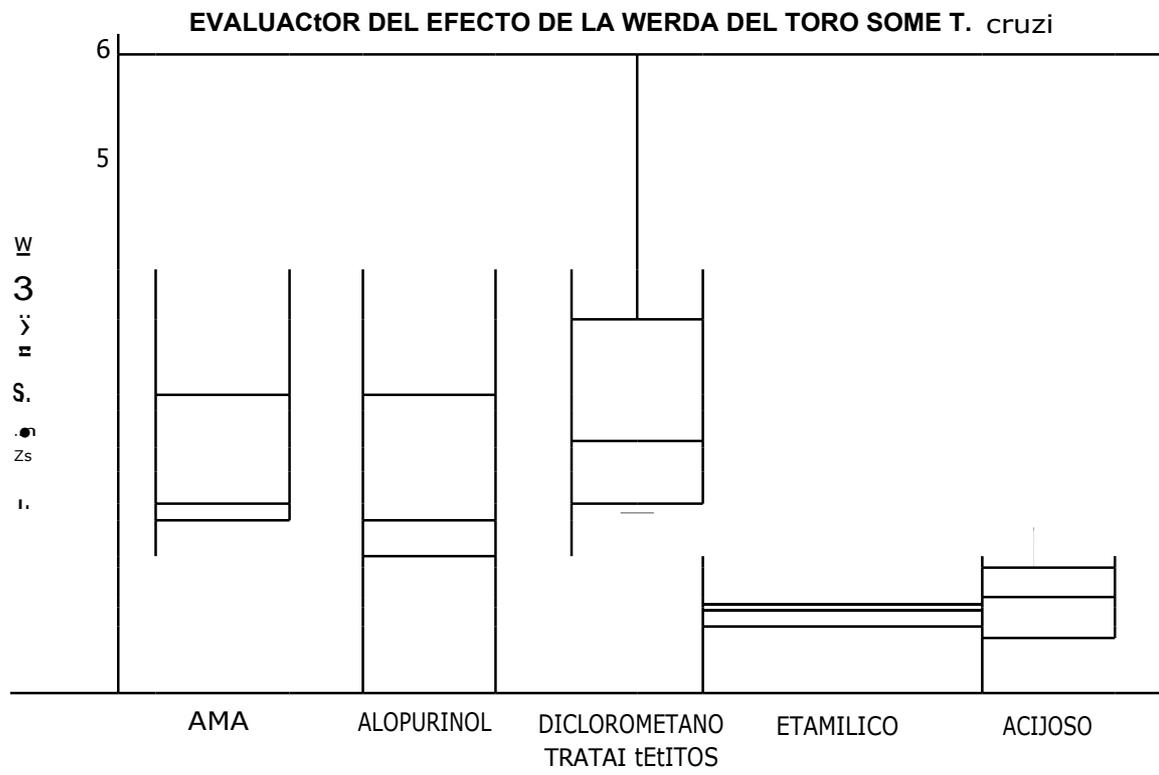
RATON	ACUA	ETANOLICO	ACUOSO	DICLOROMETANICO	ALOPURINOL
1	2181976,00	706167,00	577157,00	1564987,50	172011,00
2	1944939,50	1033296,00	507675,00	109641,50	231278,50
3	2347881,50	424056,50	646407,50	859657,00	118076,00
4	2482462,50	371288,50	581549,50	2894161,00	28.0692,00
5	2749485,50	1349138,00	618756,50	579705,00	88651,50
Promedio	2841238,80	776788,60	585909,10	1295846,40	157080,70
Desv. Est.	312475,87	414494,46	52496,91	712029,69	88680,61
Coef. Var.	13,85	53,36	8,96	54,95	53,24

ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
Trotornotos	14066671209768,70	4	8516667802442,17	28,87
Error	8144732424618,60	20	157236621730,98	(1) (0,05)
Total	172111406644867,80	24		

COMPARACIONES	OUNNETT
Aque - Aloorinol	-2164158,20 (0(0,05)) 664588,35
Aqua - Etarolloo	-1564450,80 (0(0,05))
Roo) - Aouoso	-1755329,80 (0(0,05))
Aqua - Ocolororeetornce	-1045890,50 (0(0,05))

C R A re I CA. No - a



TASLA N . 3
 HIERSA DEL TORO
 (Triamostigotes/AII)

ENSAYO;		FOUR							
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	PROM,	DESV ST,	COEF VAR,	
17	15 ii238	4 ii O	5 iiiISS	Hld	MSS'	"8;83;3	23,29 ;3	68,50 1:17	
AREA;		3136263	1792070	1484083	2660070	1624105			
ENSAYO;		ALOPURINOL							
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	PROM,	DESV ST,	COEF VAR,	
17	8 15488S	7 i2888	9 3ASS	8 NHS		3,0 il1488:8	3rp 8N9S4:82	9,59 ill:42	
AREA;		3920147	952120	1708158	1596137				
ENSAYO;		ETANOLICO							
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	PROM,	DESV ST,	COEF VAR,	
11	128d	li1S3	6 9288	10 1288	Id	6,2 14R8:8	15,1Z 094:1,	48,92 42:14	
AREA;		784035	784140	616105	616175	1092088			
ENSAYO;		ACUOSO							
X	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	PROM,	DESV ST,	COEF VAR,	
1	d	8SSd	itld	ii6S3	it d	4 INES:8	g42i:11	32,78 Z07	
AREA;		560074	924158	420147	1792175	1036093			
ENSAYO;		DICLOROTETAWCO							
A	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	PROM,	DESV ST,	COEF VAR,	
17	128 O	10 INISS	7 LS888	6 72188	9 ASS8	7,6 331:48:8	8,11 ITiiii:H	21,22 JR4:9?	
AREA;		2940112	5264175	17641:3	1708109	2380151			

I
 te
 : z
 : 1
 24
 rE
 g
 mm
 E
 E

TABELA N° 6
 HIERBA DEL TORO
 AREA emu⁰ LR MO

RATON	ASIA	ETANOLICO	ACUOSO	fl.:LOROMET	NI'
1	8136262.70	784085,00	560078,50	29401'2,00	3 s20 i 47, 1:,0
2	1792070.CD	784140,00	924157,50	r2s4i75,00	921"29,50
	1464087,50	616105,00	420147,00	1764122.53	11SC:7€.02
4	2660070.00	616175,00	1792175,00	1700106,50	536195,, 50
5	1624105,00	1092087,50	1036098,00	23"0150..5'7	
PromAdio	2163S19,00	778508,50	946580,20	28,162,7:1	'57'10, 70
Oasv, St,	72'!35,41	194871,49	536205,68	'46C5S6.46	234:.7
Coef Vor,	83,71	24,97	56,65	51:15	86,82

ANALISIS DE VARIANZA

FUENTE	SC	GL	CM	F
Trotamientos	14674619316466,00	4	366865482911A 43	
Error	16939791776608,80	19	89156795?CL 65	„
Total	31614411090074,20	23		

CCMPAPACIONES		nnn=7-7
AQUO - Alourtno]	- 95176.38	NS 1684S65,Y7
Aqui, • Etoftolloo	- 1.960810, n	NS 158:584,2C:
Aqua • Aomo\$o	-1192798,80	NS 153::534, 2 :
Aqua - Ololorometonico	672014,70	NS 1:7325s4,fl

i -
-i_vio. l• lfi >_____

JORGE [ITO: bARANONA-StItliTtE.
Teeista

/ ' f

Lie ARMANDO OAcERES ESTRE6 (
Aseepr-----

J. . L 111L / et or t nē "al

MSc. MARIA CARDITA MONROY
Coeseeor

	4	
	- r - - A)	
Lie	FRAC° AR Director	CATALAN

	JORGE RO	FO P	Z		,AR
Lie.	\ Dec no	/			
	.../				
