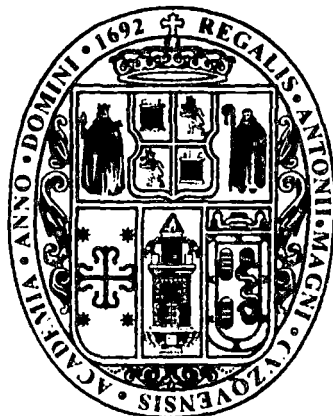


# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS FÍSICAS Y MATEMÁTICA  
CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**ESTUDIO FITOQUÍMICO CUALITATIVO, ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE DEL  
EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler  
(Ch'eqche), EN UN MODELO EXPERIMENTAL INDUCIDO QUÍMICAMENTE POR  
PENTILENTETRAZOL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

**Presentado por:**

**Br. DIANIRA ACUÑA SOLIS**

**Br. BRAULIO CUSI LUZA**

**Para optar por el título profesional de  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**ASEORA:**

**M. Cs. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ**

**COASESORA:**

**QUIM. JANET FRANCISCA GONZALES BELLIDO**

**TESIS AUSPICIADA POR EL CONSEJO DE INVESTIGACIÓN - UNSAAC**

**CUSCO – PERÚ  
2013**

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO

## ABAD DEL CUSCO

Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas

Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica



**ESTUDIO FITOQUÍMICO CUALITATIVO, ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), EN UN MODELO EXPERIMENTAL INDUCIDO QUÍMICAMENTE POR PENTILENTETRAZOL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

Presentado por:

Br. Dianira Acuña Solís

Br. Braulio Cusi Luza

Para optar por el título profesional de

QUÍMICO FARMACÉUTICO

**ASESORA:**

M.Cs. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ

**COASESORA:**

QUIM. JANET FRANCISCA GONZALEZ

BELLIDO

TESIS AUSPICIADA POR EL CONSEJO DE INVESTIGACIÓN - UNSAAC

CUSCO – PERÚ

2013

# DEDICATORIA

## A DIOS Y AL UNIVERSO

Por darme la vida y permitirme llegar hasta este momento tan importante en mi formación profesional, por obsequiarme cada día una nueva oportunidad.

## A MI FAMILIA

Por ser mi fuerza vital y porque los amo infinitamente, a mis padres Ana María y Arnaldo por darme siempre la palabra de aliento y enseñarme que cada día debo esforzarme más de lo que puedo, en especial a mi mamita por todos los sacrificios hechos. A mis hermanas, Patricia, Estefany y Ch'aska por ser esas personitas especiales que me apoyan en cada nueva aventura, por la confianza que tienen en mi, por ser mi motor y motivo. A mis abuelitos Lucila y René a quienes quiero como a mis padres por haber forjado en mí los valores que hoy tengo. A mis tíos René, Julio y Rita por haber sido mi ejemplo a seguir, por su apoyo y amor incondicional.

## A MI MEJOR AMIGO Y COMPAÑERO DE TESIS

Brau, por ser parte importante de mi vida y enseñarme que no existen límites cuando hay voluntad, por estar siempre a mi lado en los buenos y malos momentos escuchándome, aconsejándome, dándome esa palabra de aliento y bueno por compartir esta última aventura, muchas gracias amigo por tu comprensión y paciencia en el desarrollo de nuestro trabajo de tesis,

## A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE LA UNIVERSIDAD

Dedicado para todos aquellos amigos y compañeros con los que compartimos tantas experiencias en el transcurso de estos años, a que siempre creyeron en mí y a todos aquellos que formaron y forman parte de mi crecimiento personal.

*Jamás dejemos de creer en nosotros mismos, jamás dejemos de luchar por nuestros sueños, enseñemos a ayudar sin esperar nada a cambio, aprendamos a respetar y amar a cada ser, disfrutemos el HOY, trabajemos por el MAÑANA y solo recordemos lo bello del AYER.*

Dianira

# DEDICATORIA

## A DIOS

Por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más, por tus bendiciones que hacen posible lograr esta meta en mi vida.

## A MIS PADRES

Braulio Adrian Cusi Maita (Gracias por haberme educado así y por creer en mí) y Celia Luza Ichillumpa (te quiero mamita eres la mejor!!!) porque creyeron en mí y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada uno de mis metas, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza y por lo que han hecho de mí.

## A MIS HERMANAS CARMEN, PATY, TÍOS, ABUELITOS, CUÑADOS Y SOBRINOS.

Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida, mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles. A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

## A MI AMIGA Y COMPAÑERA DE TESIS

Dianita, que te puedo decir, muchas gracias por estos cinco años de conocernos y en los cuales hemos compartido tantas alegrías y dificultades, Solo quiero darte las gracias por todo el apoyo que me has dado durante todo el proceso de nuestro trabajo de tesis y superando obstáculos para alcanzar un objetivo en común.

## A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE LA UNIVERSIDAD

Gracias a todos por estar siempre conmigo, por apoyarme y por pasar momentos felices con todos ustedes. Gracias a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de esta tesis.

*Braulio*

## AGRADECIMIENTOS

**A NUESTRO AMADO SEÑOR**, quien supo guiarnos por el buen camino, darnos fuerza para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándonos a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

**A LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO.**

A los docentes de nuestra tan amada carrera profesional de FARMACIA y BIOQUIMICA por haber formado parte de nuestro crecimiento personal al transmitirnos sus conocimientos y experiencias durante nuestra vida universitaria.

**A NUESTRAS ASESORAS**

M.Cs. Carla del Carpio Jiménez por ser una guía indispensable por su paciencia, confianza, orientación, atención y apoyo incondicional en toda la realización del trabajo de tesis.

QVIM. Janet Francisca Gonzales Bellido por su apoyo incondicional.

**A NUESTROS DICTAMINANTES** por su apoyo, comprensión, paciencia y por ayudarnos a corregir este trabajo.

**A NUESTROS PADRES Y HERMANAS**, quien con su apoyo emocional, han hecho posible la realización de esta tesis y que por ende se constituye en un triunfo para ellos y el nuestro.

**A NUESTROS FAMILIARES Y AMIGOS** que estuvieron presentes en la realización del presente trabajo, por sus consejos, ánimos y alegrías brindadas.

Al Lic. Fernando Medina por su comprensión y apoyo incondicional.

A los Doctores Renato y Martín Yangali dueños de LABORATORIOS GABBLAN por su comprensión y apoyo incondicional.

*Atte.*

*Dianira y Braulio*

## INDICE

LISTA DE FIGURAS.....	I
LISTA DE TABLAS.....	II
LISTA DE ABREVIACIONES.....	V
RESUMEN.....	VI
SUMMARY.....	VII
INTRODUCCIÓN.....	01

### CAPITULO I

#### GENERALIDADES

1.1. Planteamiento del problema:.....	3
1.2. Formulación del Problema .....	4
1.3. Objetivos generales y específicos .....	4
1.3.1. Objetivo general .....	4
1.3.2. Objetivos Específicos .....	5
1.4. Justificación e importancia .....	5
1.4.1 Por el conocimiento .....	5
1.4.2 Por su Aplicabilidad .....	6
1.5. Hipótesis.....	7

### CAPITULO II

#### MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1. Visión histórica.....	8
2.2. Antecedentes .....	9
2.2.1. Antecedentes locales y nacionales .....	9
2.2.2. Antecedentes Internacionales.....	11
2.2.3. Antecedentes Fitoquímicos .....	14
2.2.3.1. Antecedentes fitoquímicos de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).....	14
2.3. Bases teórico científicas .....	17
2.3.1. Aspectos botánicos de la especie vegetal <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).....	17

2.3.1.1. Clasificación taxonómica.....	17
2.3.1.2. Nombres comunes de la planta.....	18
2.3.1.3 Distribución .....	18
2.3.1.4. Familia berberidaceae.....	18
2.3.1.5. <i>Berberis boliviana</i> Lechler.....	18
2.3.1.6. Descripción .....	19
2.3.1.7. Distribución geográfica.....	20
2.3.2. Epilepsia.....	20
2.3.2.1. Clasificación.....	21
2.3.2.2. Etiología.....	24
2.3.2.3. Fisiopatología.....	25
2.3.2.4. Diagnóstico .....	25
2.3.2.5. Tratamiento.....	26
2.3.2.6. Efectos Adversos (EA) de los fármacos antiepilépticos (FAE).....	29
2.3.3. Descripción del patrón comparativo en el presente estudio. ....	31
2.3.3.1. Diazepam.....	31
2.3.4. Fármaco utilizado como inductor: Pentilentetrazol.....	34
2.3.5. Test de Irwin-evaluación del perfil neurológico .....	35
2.3.6. Ensayos de toxicidad aguda .....	36
2.3.5.1. Método de Lorke para la determinación de DL <sub>50</sub> .....	37
2.3.5.2. Influencia de la vía de administración sobre la toxicidad. ....	38
2.3.7. Definición de términos .....	39

### **CAPITULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1. Materiales .....	42
3.1.1 Material biológicos.....	42
3.1.2 Lugares de ejecución .....	42
3.1.3 Materiales e instrumentos de laboratorio .....	42
3.1.3.1 Materiales de campo.....	42
3.1.3.2 Materiales de laboratorio.....	43
3.1.3.3 Materiales de gabinete.....	45
3.1.3.4 Drogas empleadas.....	45
3.1.3.5. Otros materiales.....	45

3.2. Diseño metodológico.....	46
3.2.1. Nivel y tipo de investigación .....	46
3.2.2. Diseño de la investigación .....	46
3.2.2.1. De la actividad anticonvulsivante .....	46
3.2.2.2. De la toxicidad aguda por via oral (Método de Lorke) .....	48
3.2.3. Variables .....	51
3.2.3.1. Variables implicadas en la estudio fitoquímico cualitativo.....	54
3.2.3.2. Variables impicadas en la actividad anticonvulsivante .....	59
3.2.3.3. Variables implicadas en la toxicidad aguda .....	64
3.2.3.4. Variables no implicadas .....	70
3.2.4. Criterios de selección (inclusión y exclusión).....	72
3.3. Procedimientos .....	73
3.3.1. Muestreo y preparación de la muestra vegetal .....	73
3.3.2. Identificación Taxonómica .....	73
3.3.3. Determinación del porcentaje de humedad.....	73
3.3.4. Obtención del extracto acuoso de <i>Berberis boliviana</i> Lechler .....	74
3.3.5. Porcentaje de extracción o rendimiento.....	75
3.3.6. Prueba de solubilidad .....	75
3.3.7. Análisis fitoquímico cualitativo .....	75
3.3.8. Evaluación del perfil Neurológico.....	76
3.4. Estudio Farmacológico.....	78
3.4.1. Actividad anticonvulsivante.....	78
3.4.2. Ensayo de toxicidad aguda.....	83
3.4.3. Instrumentos de recolección de datos .....	83
3.4.4. Técnicas para el procesamiento y análisis de datos estadísticos .....	84

## **CAPITULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIONES**

4.1 Ensayos preliminares.....	85
4.2 Estudio farmacológico.....	95
4.2.1. De la actividad anticonvulsivante.....	95
4.3 Toxicidad aguda por vía oral.....	114
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>117</b>



<b>RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS.....</b>	<b>120</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>122</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>131</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura N° 1.</b> Clasificación de las crisis epilépticas.....	22
<b>Figura N° 2.</b> Tratamiento de las crisis epilépticas.....	28
<b>Figura N° 3.</b> Flujograma de investigación del extracto acuoso de <i>Berberis boliviana</i> L. (Ch'eqche) .....	77
<b>Figura N° 4.</b> Flujograma de evaluación de la actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de <i>Berberis boliviana</i> L.(Ch'eqche).....	82
<b>Figura N° 5.</b> Media del período de latencia para la primera convulsión clónica en minutos inducido por pentilentetrazol para los distintos grupos de administración.....	98
<b>Figura N° 6.</b> Media de la duración de convulsiones clónicas (seg) inducidas por pentilentetrazol para los distintos grupos.....	102
<b>Figura N° 7.</b> Media del número de convulsiones clónicas con duración mínima de 3 seg./inducidos por pentilentetrazol vía I.P/ durante 30 minutos .....	106
<b>Figura N° 8.</b> Porcentaje de protección de mortalidad inducido por pentilentetrazol para los distintos grupos de administración.....	109
<b>Figura N° 9.</b> Mortalidad y supervivencia para los distintos grupos de administración.....	109

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla N° 1:</b> Clasificación de las sustancias de acuerdo a su toxicidad aguda.....	39
<b>Tabla N° 2:</b> Diseño experimental de la actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> L. (Ch'eqche).....	46
<b>Tabla N° 3:</b> Fase I – Determinación de la dosis letal media del extracto de la especie vegetal en estudio por el método de Lorke.....	48
<b>Tabla N° 4:</b> Fase II – Determinación de la dosis letal media del extracto de la especie vegetal en estudio por el método de Lorke.....	50
<b>Tabla N° 5:</b> Operacionalización de las variantes implicadas en el estudio fitoquímico cualitativo.....	52
<b>Tabla N° 6:</b> Operacionalización de las variantes implicadas en la actividad anticonvulsivante.....	57
<b>Tabla N° 7:</b> Operacionalización de las variables implicadas en la toxicidad aguda.....	62
<b>Tabla N° 8:</b> Operacionalización de las variables implicadas en la evaluación del perfil neurológico del extracto acuoso de <i>Berberis boliviana</i> L.(Ch'eqche).....	67
<b>Tabla N° 9:</b> Operacionalización de las variables intervinientes.....	69
<b>Tabla N° 10:</b> Operacionalización de la prueba de solubilidad.....	69
<b>Tabla N° 11:</b> Solventes para pruebas de solubilidad.....	75
<b>Tabla N° 12:</b> Pruebas del análisis fitoquímico cualitativo.....	76
<b>Tabla N° 13:</b> Distribución para los estudios de la actividad anticonvulsivante..	81
<b>Tabla N° 14:</b> Determinación del porcentaje de humedad de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).....	85
<b>Tabla N° 15:</b> Porcentaje de rendimiento del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).....	86
<b>Tabla N° 16:</b> Pruebas de solubilidad del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).....	87

<b>Tabla N° 17:</b> Análisis fitoquímico cualitativo del extracto acuoso de las partes aéreas <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).....	88
<b>Tabla N° 18:</b> Test de Irwin para la determinación del perfil neurológico del extracto acuoso de las partes aéreas <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).....	91
<b>Tabla N° 19:</b> Peso inicial promedio de los animales de experimentación.....	96
<b>Tabla N° 20:</b> Análisis de varianza (ANOVA) para el peso inicial promedio de los animales de experimentación.....	96
<b>Tabla N° 21:</b> Período de latencia para la primera convulsión clónica en minutos Inducidas por pentilentetrazol.....	98
<b>Tabla N° 22:</b> Análisis de varianza (ANOVA) del periodo de latencia para la primera convulsión clónica inducido por pentilentetrazol.....	98
<b>Tabla N° 23:</b> Análisis de post prueba de Tukey para el período de latencia para la primera convulsión clónica en minutos inducido por pentilentetrazol.....	99
<b>Tabla N° 24:</b> Determinación de la duración de convulsiones clónicas (segundos) inducidos por pentilentetrazol para los distintos grupos administración.....	101
<b>Tabla N° 25:</b> Análisis de varianza (ANOVA) para la determinación de la duración de convulsiones clónicas inducidos por pentilentetrazol.....	102
<b>Tabla N° 26:</b> Análisis de post-prueba de Tukey para la determinación de la duración de convulsiones clónicas (segundos) inducidos por pentilentetrazol.....	103
<b>Tabla N° 27:</b> Determinación del número de convulsiones clónicas con duración mínima de 3 seg. Inducidos por pentilentetrazol para los distintos grupos de administración.....	105
<b>Tabla N° 28:</b> Análisis de varianza (ANOVA) para la determinación del número de convulsiones clónicas con duración mínima de 3 seg. inducidos por pentilentetrazol para los distintos grupos.....	106
<b>Tabla N° 29:</b> Porcentaje de protección de mortalidad inducido por pentilentetrazol para los distintos grupos de administración.....	108

<b>Tabla N° 30:</b> Análisis de varianza (ANOVA) para la protección frente a la mortalidad inducido por pentilentetrazol para los distintos grupos de administración.....	110
<b>Tabla N° 31:</b> Análisis de post-prueba de Tukey para la protección de mortalidad inducido por pentilentetrazol para los distintos grupos de administración.....	110
<b>Tabla N° 32:</b> Determinación de la DL50 por método de Lorke del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche) administrado v.o. en ratones Balb/c/CNPB.....	114

## LISTA DE ABREVIACIONES

- AIT : Accidente isquémico transitorio.
- DL<sub>50</sub> : Dosis letal media.
- EEG : Electroencefalografía.
- E.S.M. : Error estándar medio.
- g. : gramo
- GABA : Acido  $\gamma$ -aminobutírico
- GABA<sub>A</sub> : Receptor ácido  $\gamma$ -aminobutírico tipo A
- kg : kilogramo.
- mg : miligramo.
- mL : mililitro.
- m.s.n.m. : metros sobre el nivel del mar.
- Min. : Minutos
- NMDA : N-metil D-aspartato.
- OMS : Organización Mundial de la Salud
- PTZ : Pentilentetrazol
- RM : Resonancia Magnética.
- Rpm : revoluciones por minuto.
- Seg. : Segundos
- SNA : Sistema nervioso autónomo
- SNC : Sistema nervioso central.
- TAC : Tomografía Axial computarizada.
- v.i.p : Vía intraperitoneal
- v.o : Vía oral

## RESUMEN

El uso de plantas para el tratamiento de las convulsiones es amplia en diversas culturas, pero en muchos casos no se cuenta con un respaldo científico, es el propósito de la presente investigación realizar el análisis fitoquímico cualitativo, la evaluación de la actividad anticonvulsivante y toxicidad aguda del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. "Ch'eqche" en animales de experimentación. Para evaluar la actividad anticonvulsivante se empleó el modelo de convulsión química inducida por pentilentetrazol (PTZ 85 mg/kg v.i.p.), usando como metodología un cuasiexperimental. Se utilizó 5 grupos de 6 ratones Balb/c/CNPB; grupo 1 (control), grupo 2 (diazepam 1mg/kg) y grupo 3, 4, 5 (400, 800 y 1200 mg/kg de extracto acuoso). El tratamiento fue por v.i.p 30 minutos antes de la inducción de las convulsiones. Se midió el período de latencia para la primera convulsión clónica, la duración de las convulsiones, número de convulsiones que duran por lo menos 3 segundos y la protección frente a la mortalidad. Para la prueba de toxicidad aguda por v.o se utilizaron 12 ratones albinos, para la primera fase a dosis de (10, 100 y 1000 mg/kg de extracto acuoso) y 3 ratones por grupo, para la segunda fase a dosis de (1600, 2900 y 5000 mg/kg de extracto acuoso) y un ratón por grupo. **Resultados:** Se evidenció la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, cumarinas, quinonas, lactonas, glicósidos, aminoácidos, saponinas, flavonoides y resinas. Se observó que los extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L.(Ch'eqche) a las dosis de 400, 800 y 1200 mg/kg incrementaron el período de latencia en 60,67%, 73,13% y 88,70%, disminuyeron la duración de las convulsiones en 21,85%, 45,23% y 52,22%, disminuyeron el número de convulsiones que duran por lo menos 3 segundos en 36,11%, 66,67% y 80,56%; con respecto al grupo control y la protección frente a la mortalidad fue de 33,3%, 50,0% y 100,0% (ANOVA  $p < 0,05$ ). El valor de la  $DL_{50}$  del extracto acuoso por el método de Lorke es mayor a 5000 mg/kg. **Conclusiones:** Se caracterizaron los metabolitos secundarios de la especie *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche), se demostró la actividad anticonvulsivante a la dosis de 1200 mg/kg del extracto frente a convulsiones clónicas, presentando valores próximos al del diazepam y un 100% de protección frente a los efectos letales del agente convulsivante PTZ. La  $DL_{50}$  del extracto acuoso por vía oral es mayor a 5000 mg/kg.

**Palabras clave:** *Berberis boliviana* L., anticonvulsivante, extracto acuoso, convulsiones inducidas por PTZ, convulsión clónica, diazepam, PTZ.

## **SUMMARY**

The use of plants for the treatment of seizures is wide in different cultures, but in many cases there is no scientific backing, is the purpose of this research make qualitative phytochemical analysis, evaluation of anticonvulsant activity and acute toxicity aqueous extract of the aerial parts of *Berberis boliviana* L. "Ch'eqche" in experimental animals. To evaluate the anticonvulsant activity was used chemically induced seizure model pentylenetetrazole (PTZ 85 mg/kg v.i.p.), methodology using as one quasi-experimental. Using 5 groups of 6 mice Bald/c/CNPB, group 1 (control), group 2 (diazepam 1mg/kg) and group 3, 4, 5 (400, 800 and 1200 mg/kg of aqueous extract). The treatment was for v.i.p 30 minutes before the induction of seizures. Measured the latency period to the first clonic convulsion, seizure duration, number of seizures lasting for at least 3 seconds and the protection against mortality. For acute toxicity test v.o 12 albinos mice were used for the first phase at doses (10, 100 and 1000 mg/kg of aqueous extract) and 3 mice per group, for the second phase at doses (1600, 2900 and 5000 mg/kg of aqueous extract) and one mouse per group. **Results:** This study revealed the presence of phenolic compounds, alkaloids, tannin, coumarins, quinones, lactones, glycosides, amino acids, saponins, flavonoids and resins. It was observed that the aqueous extract of the aerial parts of *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) at dose of 400, 800 and 1200 mg/kg increased the latency period by 60,67%, 73,13% and 88,70%, decreased the duration of seizures in 21,85%, 45,23% and 52,22%, decreased the number of seizures that last for at least 3 seconds to 36,11%, 66,67% and 80,56%, with respect to control and protection against mortality was 33,3%, 50,0% and 100,0% (ANOVA p <0,05). The LD<sub>50</sub> value of the aqueous extract by the method of Lorke is greater than 5000 mg/kg. **Conclusions:** We characterized secondary metabolites species *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) showed anticonvulsant activity at dose of 1200 mg/kg of the extract against clonic convulsions, showing values close to that of diazepam and a 100% protection against the lethal effects of convulsant agent PTZ. LD<sub>50</sub> aqueous extract orally is higher than 5000 mg/kg.

**Keywords:** *Berberis boliviana* L., anticonvulsant, aqueous extract, PTZ-induced convulsions, clonic seizure, diazepam, PTZ.



## INTRODUCCIÓN

Es un hecho que la mayor parte de la población mundial recurre en forma directa o indirecta a las plantas medicinales para su atención primaria en salud (1).

Desde luego por razones económicas en buena medida, no hay duda de que las plantas medicinales constituyen fuente de principios farmacológicos, lo que da cuenta el hecho de que más del 50% de los fármacos utilizados actualmente son de origen natural (2).

Desde ese punto de vista, el Perú tiene una importancia estratégica por su biodiversidad. Si a esto se añade el conocimiento tradicional de las comunidades, es enteramente factible encontrar nuevas alternativas terapéuticas en los recursos propios del país (3).

Por otra parte, tanto los trastornos de ansiedad como los convulsivos constituyen los problemas psiquiátricos y neurológicos de mayor prevalencia en nuestro medio. Sin duda la farmacoterapia, además de la psicoterapia, han logrado importantes progresos en muchos casos, pese a lo cual, persiste un buen número de pacientes refractario a la medicación. Adicionalmente en no pocos casos se presentan importantes efectos adversos. Esto hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas farmacológicas, una de cuyas fuentes pueden ser los productos naturales (4).

Los datos actuales apoyan la hipótesis de que el extracto acuoso de *Berberis vulgaris* (agracejo) tiene efectos beneficiosos tanto a nivel cardiovascular y neural que sugiere un uso potencial para el tratamiento de la hipertensión, la taquicardia y algunos trastornos neuronales, tales como la epilepsia y convulsión (5).

En la medicina tradicional peruana el uso de la especie *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) no está muy difundida. Actualmente la especie en mención ha sido poco estudiada los frutos de esta especie contienen antocianinas, se ha reportado que estos tienen beneficios para la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual. Se ha observado también que poseen actividad antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, antiinflamatoria y hepatoprotectora (6).

El presente trabajo de investigación está orientado a la validación del conocimiento tradicional de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), se evaluará la actividad anticonvulsivante y toxicidad aguda del extracto acuoso seco y de esta manera dar una alternativa terapéutica para el tratamiento de la convulsión.

# **CAPITULO I**

## **GENERALIDADES**

### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

La epilepsia es considerada la enfermedad neurológica más frecuente en el mundo. Es un problema de Salud Pública no reconocido como tal en muchos países, especialmente en aquellos en vías de desarrollo, donde los indicadores epidemiológicos son hasta cuatro veces más altos que en el mundo industrializado, por lo que se postula una relación entre su frecuencia y el desarrollo económico. En nuestros días, la epilepsia sigue siendo un problema de Salud Pública mundial y una causa frecuente de discriminación social. Este prejuicio causa mayor sufrimiento a los pacientes que sus propias crisis y ha sido descrita ampliamente en diversos países y grupos sociales (7).

Esta enfermedad se presenta independientemente de la edad, raza, clase social y área geográfica. Afecta a 50 millones de personas alrededor del mundo, cifra posiblemente subestimada y se estima que a nivel mundial, al menos 100 millones de personas presentarán epilepsia en algún momento de su vida, del total de personas con epilepsia, el 85% de éstas viven en los países en vías de desarrollo.

En América Latina, se considera que al menos 5 millones de personas padecen epilepsia, de las cuales más de 3 millones no reciben tratamiento. Las tasas de prevalencia de epilepsia activa reportadas durante la década pasada en países latinoamericanos son más o menos similares entre sí (5 a 12/1000 habitantes) y no muestran mayor diferencia de la reportada en Rochester, EE.UU (6/1000 habitantes), que representa a una población típica de un país desarrollado (7).

En el Perú no disponemos de estudios de incidencia ni de prevalencia. El Dr. Julio Jiménez ha recopilado información de los pacientes atendidos por epilepsia en los establecimientos del Ministerio de Salud a nivel nacional el año 2008. Son 41 442 sobre un total de 12 357 700 atendidos y en la ciudad de cusco 2.677, según la oficina general de estadística e informática MINSa. Llama la atención que casi el 60% sólo tienen diagnóstico de epilepsia, sin precisar el tipo de crisis o síndrome (8).

La epilepsia representa un costo directo e indirecto en muchos sentidos y con diferentes consecuencias para el paciente, siendo el costo más evidente el asociado al tratamiento farmacológico, sin embargo para la mayoría de las personas epilépticas la principal consecuencia desde el punto de vista económico, es la limitación que sufre en su actividad laboral; la tasa de desempleo en las personas con epilepsia es inversamente proporcional al grado de control de las crisis y sensiblemente mayor que en la población general, a ello se suma la discriminación laboral, porque ocupan puestos de trabajo de categoría inferior a los que corresponden a sus habilidades y además de una mayor tasa de morbilidad y mortalidad prematura de las personas con epilepsia que la población general (7).

Actualmente, existen dos complicaciones principales en la farmacoterapia de la epilepsia: una es el alto índice de pacientes cuyas crisis no pueden ser controladas por ningún anticonvulsivante de uso clínico; la otra complicación tiene que ver con los efectos colaterales que estos fármacos producen que, en algunos casos, pueden generar serios problemas toxicológicos (9).

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

- ¿Los metabolitos secundarios del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler “Ch’eqche” presentarán actividad anticonvulsivante en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación?

## **1.3. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS**

### **1.3.1. Objetivo General**

- Realizar el estudio fitoquímico cualitativo y determinar la actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler “Ch’eqche” en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación.

### **1.3.2. Objetivos Específicos**

1. Obtener el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche), determinar el porcentaje de rendimiento, humedad y realizar prueba de solubilidad.
2. Determinar cualitativamente la composición fitoquímica del extracto acuoso de la parte aérea de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche).
3. Determinar el período de latencia para convulsión clónica inducida por Pentilentetrazol en los diferentes grupos de experimentación (400, 800, 1200 mg/kg).
4. Determinar el tiempo de duración de las convulsiones clónicas y el número de convulsiones que duran por lo menos 3 segundos inducidas por Pentilentetrazol durante 30 minutos, en los diferentes grupos de experimentación (400, 800, 1200 mg/kg).
5. Determinar el porcentaje de protección frente a la mortalidad inducida por Pentilentetrazol en los diferentes grupos de experimentación (400, 800, 1200 mg/kg).
6. Determinar a qué dosis (400, 800, 1200 mg/kg) el extracto acuoso de la parte aérea de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) presenta mayor actividad anticonvulsivante para las convulsiones tipo clónicas.
7. Evaluar la toxicidad aguda del extracto acuoso de la parte aérea de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) en ratones, mediante el método de Lorke.
8. Determinar la dosis letal media del extracto acuoso de la parte aérea de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche).

### **1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA**

#### **1.4.1 Por el conocimiento**

En la actualidad las plantas medicinales constituyen una fuente de investigación; muchas aún desconocidas y otras aun no cuentan con un respaldo científico que explique sus propiedades curativas, siendo estas en diversas culturas el primer recurso para tratar las enfermedades.

El uso de fármacos establecidos en el mercado para los pacientes epilépticos, presentan efectos adversos y/o resistencia a estos lo cual denota la importancia de la búsqueda de nuevas moléculas efectivas para el tratamiento de la enfermedad.

En este contexto, las plantas medicinales se pueden tornar en una fuente de moléculas innovadoras con mecanismos de acción diferenciados de otros y con mejor relación riesgo/beneficio que los fármacos actualmente disponibles en el mercado (11).

Con antecedentes de estudios realizados en las especies del género *Berberis* como *B. vulgaris* y *B. aristata* que reportan actividad sobre el SNC, se plantea un estudio cuasiexperimental de la posible actividad anticonvulsivante y su posible toxicidad aguda oral en animales de experimentación; que permitirá brindar bases científicas para validar el uso de esta especie y su inocuidad.

#### **1.4.2 Por su aplicabilidad**

La utilización de la especie *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) en la medicina tradicional peruana no está muy difundida y es poco conocida. Actualmente la especie en mención ha sido poco estudiada. Los frutos de esta especie contienen antocianinas, se ha reportado que estos tienen beneficios para la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual. Se ha observado también que poseen actividad antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, anti-inflamatoria y hepatoprotectora (5).

Estudios realizados en las especies del género *Berberis* como *B. vulgaris* y *B. aristata*, reportan actividad sobre el SNC, pero hasta el momento no se cuenta con investigaciones científicas similares respecto a la especie *Berberis boliviana*, la cual es una especie nativa de nuestra región; por lo tanto, creemos que es importante investigar la posible actividad anticonvulsivante de esta especie, en vista de los antecedentes reportados para especies de este

género, para de este modo contribuir al conocimiento farmacológico de especies nativas de nuestra región.

## **1.5.HIPÓTESIS**

- El extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler “Ch’eqche” presenta actividad anticonvulsivante en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación.

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL**

#### **2.1. VISIÓN HISTÓRICA**

Las convulsiones han fascinado y preocupado a la humanidad desde la antigüedad, en la época de Hipócrates por ejemplo (aproximadamente 400 años a. de C) los griegos eran consciente de la relación que existía entre las lesiones de la cabeza y la actividad convulsiva que afectaba al lado contrario del cuerpo, sin embargo, a pesar de la asociación observada con las lesiones físicas se mantenía la idea de que la enfermedad era producto de posesiones de espíritus malignos o de castigo de los dioses. En respuesta a la enfermedad se recomendaba una terapia basada en tres puntos: dieta, regulación de las excreciones y gimnasia terapéutica. Así mismo, en menor medida se empleaban “medicamentos”, que eran, prácticamente, hierbas medicinales **(12)**.

Durante la Edad Media se olvidaron los conocimientos que se tenían sobre el origen natural de la enfermedad y se volvió a creer que el origen de la epilepsia era algo sobrenatural y que su aparición se debía a la influencia de espíritus malignos y demonios, así, de acuerdo con el pensamiento de la época, el tratamiento se basaba principalmente en rezos, ayunos, ofrendas y peregrinaciones. Posteriormente, durante el renacimiento, se empleaban cada vez más, junto a los componentes de las plantas medicinales, sustancias químicas definidas como “remedios contra las convulsiones”. Las más significativas eran: el cobre (utilizado ya en la antigüedad), el óxido de zinc, el nitrato de plata, el bismuto y el estaño **(13)**.

La epilepsia en la etapa virreinal recibió diversos nombres: mal caduco, perlesía o alferecía, mal divino, fea enfermedad, mal del corazón, mal del santo, mal sagrado, mal de tierra **(14)**.

El análisis moderno de la epilepsia se inició con el trabajo de John Hughlings Jackson en el Hospital de Quenn Square de Londres entre la década de 1860-1870. Jackson se percató que las crisis epilépticas no implicaban necesariamente pérdida de la conciencia, si no que podían estar asociadas a síntomas focales, como sacudidas de brazos. Este es considerado el primer reconocimiento de lo que



actualmente llamamos crisis parciales (focales). Por otro lado, un avance importante fue el primer tratamiento quirúrgico de la epilepsia realizado por Víctor Horsley, quien en 1886 extirpó la corteza adyacente a una fractura craneal deprimida y curó a un paciente con crisis motoras focales. Sin embargo, no es hasta el año 1934 cuando Wilder Penfield y Herbert Jasper en el Instituto Neurológico de Montreal (Canadá) generan toda una metodología para el diagnóstico y tratamiento quirúrgico de las epilepsias parciales basándose en el registro directo de la actividad eléctrica de la corteza cerebral expuesta durante el acto quirúrgico. Las innovaciones médicas comprenden en 1912 el empleo por primera vez del fenobarbital por Hauptmann como anticonvulsivo, el desarrollo de la electroencefalografía en 1929 y el descubrimiento de la fenitoína por Houston Merritt y Tracey Putnam en 1937 (15).

En la actualidad el estudio y entendimiento de la epilepsia han avanzado considerablemente gracias al empleo de las nuevas técnicas exploración, sin embargo aún se desconocen muchos factores que rodean tanto la epileptogénesis como el establecimiento y la recurrencia (12).

## **2.2. ANTECEDENTES**

### **2.2.1 ANTECEDENTES LOCALES Y NACIONALES**

**Rueda Milachay, Luis Julio; “Acción Anticonvulsivante de la hoja de *Euphorbia Peplus* en ratones Albinos”. Tesis para optar el grado académico de Magister en Farmacología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 2000.**

La presente investigación ha tenido por objetivo determinar la actividad anticonvulsivante, toxicidad y los posibles metabolitos secundarios de importancia responsables en las hojas de *Euphorbia peplus*. Se utilizaron 64 ratones albinos consanguíneos cepa Balb/c/CNPB-53, distribuyéndose al azar en grupos de ocho cada uno para los diferentes ensayos, considerando un grupo blanco (suero fisiológico 5 ml/kg, v.o.) un control (diazepam 3 mg/kg, v.o.) y los extractos necesarios para el estudio. Se han utilizado dos modelos de inducción experimental de convulsiones: Eléctrico (electroshock, 60 Hz, 0.6 seg.) y Químico (Pentilenotetrazol 85 mg/kg v.i.p). Se realizó la separación parcial en cromatografía de capa fina de la fase acuosa del extracto alcohólico, obteniéndose la banda I y II, para determinar la actividad anticonvulsivante por electroshock en ratones (1,6

mg/kg vía intracerebroventricular). Obteniéndose como resultados una dosis letal media de 2551.02, 1587.3 y de 16.03 mg/kg por vía oral, intraperitoneal e intracerebroventricular respectivamente.

La dosis efectiva media para prevenir las convulsiones por shock eléctrico fue de 424.0, 254.4 y 3.8 mg/kg para la vía oral, intraperitoneal e intracerebroventricular respectivamente. La fase acuosa y su banda I, elevaron solo el umbral de crisis convulsiva frente al electroshock y no al Pentilenotetrazol. La presencia de grupos fenólicos detectados en la banda I, explicarían el efecto farmacológico. Se concluye que la fase acuosa del extracto alcohólico de *Euphorbia peplus* presenta actividad anticonvulsivante en ratones.

**Álvaro Ruiz Pataro, Fernando García Sotomayor, Percy Mansilla Vela, Benjamín Castañeda Castañeda; “Evaluación de la actividad anticonvulsivante y toxicidad aguda del extracto acuoso en cocimiento de *Mansoa alliacea* (ajos sacha) en ratones”. Revista del Cuerpo Médico, Hospital Guillermo Almenara Irigoyen, Vol. XXVI N° 1 Julio – setiembre. Perú 2011**

*Mansoa alliacea* (ajos sacha), es una planta semitrepadora de la amazonía baja, citada por diversas fuentes etnobotánicas populares como antiepiléptica, cuya acción aún no ha sido estudiada científicamente. Utilizamos 88 ratones albinos machos cepa BALP C 53 e indujimos convulsiones por electrochoque y por pentilenotetrazol, 8 ratones para estudio de toxicidad aguda. Las dosis utilizadas de ajos sacha fueron: 1000 y 5000 mg/kg en las convulsiones por electrochoque y 1000, 2500 y 5500 mg/kg en las convulsiones por Pentilenotetrazol, con dos grupos controles (suero fisiológico y diazepam).

No encontramos actividad anticonvulsivante de ajos sacha tanto frente a las convulsiones inducidas por electrochoque como en las inducidas por Pentilenotetrazol; el control positivo, en ambos métodos, mostró un buen efecto anticonvulsivante. No se evidenció efecto tóxico a la dosis de 10000 mg/kg.

El cocimiento de *Mansoa alliacea* (ajos sacha), no mostró efecto anticonvulsivante en ratones con convulsiones inducidas ni efecto tóxico a la dosis evaluada.

## 2.2.2. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

**Pérez de Alejo J; Miranda R; Rodríguez G. “Actividad Anticonvulsivante (Antiepiléptica) del Extracto Fluido de *Indigofera Suffruticosa* (Añil Cimarrón)”. *Revista Cubana Plant Med* d 1(2):7-10, Mayo-Agosto. Cuba 1996.**

Se prueba la acción anticonvulsivante del extracto fluido de *Indigofera suffruticosa* (añil cimarrón) preparado a partir de hojas, tallos, raíz y frutos. Se utilizaron dos modelos experimentales de epilepsia: el modelo de shock eléctrico máximo (inhibición de la extensión tónica de las extremidades posteriores) y el modelo de inducción de convulsiones tónico-clónicas por picrotoxina. En ambos modelos fue ensayado un grupo control menstruado, un grupo control diazepam y un grupo experimental, con la administración de 0,2 mL en cada caso, por vía oral e intraperitoneal, en las dosis de 1 mg/kg para el diazepam y de 0,06 g/kg para la *Indigofera*, durante 10 días previos al electroshock en la dosis oral y de una hora antes de la picrotoxina. Se encuentra que el extracto fluido en la dosis señalada y en ambas vías de administración eleva el umbral de crisis en el electroshock pero no en la picrotoxina.

**Guerrero M; Gracia de García C; Meneses de Góngora B; “Actividad anticonvulsivante del extracto de *Apium graveolens* L. En ratones”. *Rev. Col. Cienc. Quim. Far, Universidad Nacional de Colombia*. 1997**

La actividad anticonvulsivante del extracto de *Apium graveolens* se evaluó en tres modelos de convulsión inducidos en ratones: electroshock, pentilentetrazol y ácido kaínico. Se efectuó el análisis Fitoquímico preliminar de la planta y su toxicidad aguda. El extracto etanólico de semilla por vía oral mostró actividad anticonvulsivante en el modelo de electroshock.

10 Kilos de *Apium graveolens* L. variedad dulce (Umbelliferae) se adquirieron en un supermercado de cadena. Las semillas secas (variedad alto de Utah) se importaron. El material se clasificó por comparación en el Herbario Nacional Colombiano. Se estudiaron los extractos etanólicos, tanto de la semilla como de la parte aérea de la planta (tallo y hojas) y el extracto acuoso en la forma de zumo liofilizado del material vegetal. Se extrajeron 10 lb. de semilla previamente molida por maceración en etanol, agitación y concentración en un evaporador rotatorio a 40°C. (12 g). El extracto de la parte aérea del material vegetal previamente seco y molido (1000 g)

se obtuvo por percolación en etanol y concentración (15 g). El zumo se obtuvo por presión de 4 kilos de material vegetal fresco en un extractor, filtración al vacío y concentración en evaporador rotatorio (20 g). El residuo obtenido de los tres extractos se suspendió en agua destilada, se liofilizó y se mantuvo a 4°C. En el momento de administrarlo se preparó en agua destilada.

Los extractos se administraron a las dosis de 500 mg/kg. v.o; (según ensayos preliminares) una hora antes del estímulo convulsivante. El volumen de administración fue de 0,01 ml/g. Con 50 g de material pulverizado de hojas, tallo y semilla respectivamente se efectuó el análisis fitoquímico preliminar.

**Ariza S; Rincón J; Guerrero M. "Efectos sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico y fracciones de *Hygrophila tyttha Leonard*". Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. Colombia, 2006.**

Se evaluó en ratones albinos ICR el perfil de actividad que sobre el sistema nervioso central ejercen el extracto etanólico y las fracciones acuosa, clorofórmica, metanólica y hexánica obtenidas de *Hygrophila tyttha* (Acanthaceae. NV: amansamachos).

Para tal fin se utilizaron pruebas destinadas a detectar posible actividad ansiolítica (laberinto en cruz elevado), antidepresiva (nado forzado), anticonvulsivante (pentilentetrazol, electrochock) e hipnótica (potenciación de sueño inducido por pentobarbital).

Se efectuó un estudio fitoquímico bio-guiado para determinar las fracciones con mayor actividad. La fracción clorofórmica, a juzgar por los altos índices de protección obtenidos en el modelo del electroshock (90%) y el patrón de respuesta mostrado en la prueba del laberinto en cruz elevado (comparable a diazepam), posiblemente aglutina la mayor proporción de metabolitos activos. Según el análisis fitoquímico, éstos pueden corresponder a compuestos tipo cumarinas, flavonoides, esteroides y/o terpenos y saponinas. A la luz de estos resultados se encuentra justificación al uso etnobotánico de esta especie y se destaca el potencial de *Hygrophila tyttha* como fuente natural de posibles compuestos con aplicación terapéutica en trastornos de ansiedad y convulsivos.

**Rodriguez de Almeida E; Rayane de Oliveira R; Lindoso G; and Matos A. "Anxiolytic and Anticonvulsant Effects on Mice of Flavonoids, Linalool, and  $\alpha$ -Tocopherol presents in the extract of leaves of *Cissus sicyoides* L. (Vitaceae)" Article Hindawi Publishing Corporation, Brazil, 2009**

El objetivo del presente estudio consiste en demostrar los efectos ansiolíticos y anticonvulsivos de un extracto hidroalcohólico obtenido a partir de las partes aéreas de *Cissus sicyoides* L. (CS) (Vitaceae) en ratones machos y hembras con varios ensayos de comportamiento. Grupos de machos y hembras tratadas vía intraperitoneal con dosis de 300, 600 y 1000 mg/kg del extracto mostró una acción significativa en el laberinto en cruz elevado (EPM), el tiempo pasado en los brazos abiertos, y el número de entradas en los brazos abiertos. La prueba de la placa-orificio también mostró un incremento significativo en el tiempo de permanencia en la cabeza de inmersión.

El mismo tratamiento aumentó la duración de tiempo de sueño inducido por pentobarbital sódico y también mostró un significativo aumento de la protección contra las convulsiones inducidas por pentilentetrazol. Estos resultados indican un ansiolítico y anticonvulsivante, como acción de *C.sicyoides* L. en ratones, probablemente debido a la acción de flavonoides, linalol y  $\alpha$ -tocoferol presente en el *C.sicyoides*.

**Nassiri M; Shariati S; Zamansoltani F. "Anticonvulsant effects of aerial parts of *Passiflora incarnata* extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors". Article BMC Complementary and Alternative Medicine, Irán, 2007**

Flor de la pasión (*Passiflora incarnata*) se utiliza en la medicina tradicional de Europa y América del sur para tratar la ansiedad, el insomnio y convulsiones. Recientemente, se ha mostrado efectos sedantes en humanos. En este estudio, los efectos anticonvulsivos de extracto hidroalcohólico de *Passiflora* (*Pasipay*), se analizó mediante el modelo pentilentetrazol (PTZ) en ratones.

*Pasipay*, diazepam y una solución salina se inyecta por vía intraperitoneal a la dosis 0,4-0,05 mg/kg; 0,5-1,0 mg/kg y 10 ml/kg respectivamente 30 minutos antes de PTZ (90 mg/kg v.i.p.). Se registraron el tiempo necesario antes de la aparición de ataques clónicos convulsivos, la duración de las convulsiones clónicas, el porcentaje de convulsiones y la mortalidad. Para investigar el mecanismo de *Pasipay*, flumazenil (2 mg/kg v.i.p.) y naloxona (5 mg/kg v.i.p.) se inyectaron también 5 minutos antes de

*Pasipay*. El valor de DE<sub>50</sub> de *Pasipay* en el modelo PTZ fue de 0,23 mg/kg (95% L.C: 0,156, 0,342). *Pasipay* a la dosis de 0,4 mg/kg prolonga el tiempo de aparición de convulsiones y la disminución de la duración de las convulsiones en comparación con el grupo de solución salina ( $p < 0,001$ ). A la dosis de 0,4 mg/kg, la protección contra convulsiones y mortalidad eran del 100%. El flumazenil y la naloxona podrían suprimir los efectos anticonvulsivos de *Pasipay*. Parece que *Pasipay* podría ser útil para el tratamiento convulsión ausencia y estos efectos puede estar relacionada con efecto de que en los sistemas GABAérgicas y opioides. Se necesitan más estudios para investigar su mecanismo exacto.

### **2.2.3. ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS**

#### **2.2.3.1. ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS DEL GÉNERO DE LA ESPECIE VEGETAL *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).**

**Fatehi M; Saleh T.M; Fatehi-Hassanabad Z; Farrokhfal K; Jafarzadeh M; Davodi S. "A pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract". Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Rev Elsevier. Irán, 2005**

En este estudio se pudo comprobar el efecto del extracto acuoso de *Berberis vulgaris* (0,05-1 mg/100g de peso corporal de ratas) sobre la presión arterial y las respuestas contráctiles de los anillos aórticos y del lecho mesentérico aislados de ratas, habiéndose comprobado que disminuye significativamente la presión arterial. Asimismo el presente trabajo tiene información suficiente que apoya la hipótesis de que el extracto acuoso de *Berberis vulgaris* tiene efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular y neural, con potencial uso en el tratamiento de la hipertensión, taquicardia, y desórdenes neuronales como la epilepsia y convulsiones.

**Del Carpio Jiménez C; Serrano Flores C; Giusti Mónica. "Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler". Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Rev Soc Quím Perú. 75 (1) 2009**

*Berberis boliviana* Lechler, es una especie silvestre del Perú; pertenece a la familia Berberidaceae; su fruto es una pequeña baya comestible de color morado; en las

diferentes zonas donde crece se le conoce como Ch'eqche, queswa ch'eqche, quisca-quisca, ailampo. El análisis preliminar del pigmento determinó la presencia de antocianinas, cuyo contenido fue determinado por el método del pH diferencial, siendo de 7 g/100 g en el tejido separado de las semillas del fruto seco.

El análisis por HPLC-PDA (Cromatografía Líquida de Alta Resolución, con detector con arreglo de fotodiodos) de la muestra hidrolizada mostró la presencia de 5 aglicones: delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, las cuales fueron identificadas por comparación de los picos del cromatograma obtenido al correr simultáneamente una muestra del pigmento de los frutos de uva (*Vitis vinifera*).

El análisis por HPLC - espectrometría de masas Tandem, confirmó la presencia de 10 picos y los pesos moleculares permitieron conocer las antocianinas presentes en *Berberis boliviana* Lechler, las cuales son: delfinidina-3-glucósido, delfinidina-3-rutinósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinósido, petunidina-3-glucósido, petunidina-3-rutinósido, peonidina-3-glucósido, peonidina-3-rutinósido, malvidina-3-glucósido y malvidina-3-rutinósido.

La petunidina-3-glucósido fue identificada como el principal pigmento, en una concentración de 24,43%.

Esta es la primera vez que se establece el perfil de las antocianinas de *Berberis boliviana* Lechler, siendo esto último importante tratándose de una especie silvestre de nuestro país.

**Kulkarni S; Dhir A; "Possible involvement of L-arginine-nitric oxide (NO)-cyclic guanosine monophosphate (cGMP) signaling pathway in the antidepressant activity of berberine chloride". Pharmacology Division, University Institute of Pharmaceutical Sciences, Panjab University, Rev Elsevier. India, 2007**

La berberina es un alcaloide aislado de isoquinolina *Berberis aristata*, una hierba ampliamente utilizada en los principales sistemas de la medicina de indios y chinos. La berberina posee una amplia gama de actividad biológica como antidiarreico, antibiótica, antiinflamatorios y algunos efectos del sistema nervioso central.

El presente estudio fue diseñado para explorar la actividad antidepressiva y su posible mecanismo de acción. Además, la participación de la L-arginina-óxido nítrico (NO)-monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) en la vía de señalización de la acción antidepressiva de cloruro berberina. La actividad antidepressiva se evaluó en pruebas de natación forzada y la cola de suspensión. El período de inmovilidad total se

registró durante una prueba de seis minutos. Berberina (5-20 mg/kg v.i.p.) produjo una reducción en el período de inmovilidad en los ensayos. Cuando berberina (5 mg/kg v.i.p.) fue co-administrado con otros fármacos antidepresivos, mejoró el efecto anti-inmovilidad de dosis sub-efectiva de la imipramina (2 mg/kg v.i.p.), desipramina (5 mg/kg v.i.p.), tranilcipromina (4 mg/kg v.i.p.), fluoxetina (5 mg/kg v.i.p.), venlafaxina (2 mg/kg v.i.p.) o bupropión (10 mg/kg v.i.p.) en la prueba de natación forzada.

Sin embargo, la berberina no modificó los efectos de la mianserina (32 mg/kg v.i.p.) o trazodona (2 mg/kg v.i.p.), los dos atípicos fármacos antidepresivos. El análisis neuroquímico reveló que la berberina (5 mg/kg v.i.p.) aumentó los niveles de norepinefrina, la serotonina o dopamina en el cerebro de ratón conjunto. El efecto antidepresivo de la berberina (5 mg/kg v.i.p.) en la prueba de natación forzada fue impedido por el tratamiento previo con L-arginina (750 mg/kg v.i.p.) [sustrato para la sintetiza del óxido nítrico (NOS)]. El pre tratamiento de los ratones con 7-nitroindazol (25 mg/kg v.i.p.) [óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS)], inhibidor de la potenciación de la acción producida de la dosis sub efectiva de berberina (2 mg/kg v.i.p.). Además, tratamiento de ratones con azul de metileno (10 mg/kg v.i.p.) [inhibidor directo de ambos síntesis del óxido nítrico (NOS) y la guanilato ciclasa soluble (GCs)] potenció el efecto de berberina (2 mg/kg v.i.p.) en la prueba de natación forzada. Además, la reducción en el período de inmovilidad provocada por berberina (5 mg/kg v.i.p.) también se inhibió por el tratamiento previo con sildenafil (5 mg/kg v.i.p.) [inhibidor 5 fosfodiesterasa]. Los moduladores y sus diversas combinaciones con la berberina no se produjeron ningún cambio en la actividad locomotora. Nuestros resultados demuestran que la berberina ejercida como efecto antidepresivo en diversos paradigmas de comportamiento de la desesperación, posiblemente por la modulación de las aminas biógenas del cerebro (norepinefrina, la serotonina o la dopamina) y además, el efecto antidepresivo de la berberina en la prueba de natación forzada ha implicado la interacción con la vía L-arginina-NO-GMPc.

**Pomilio A; "Anthocyanins in fruits of *Berberis buxifolia*".Article USDA, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina, 1973**

En este estudio la autora describe la identificación de diez antocianinas aisladas de *Berberis buxifolia* Lam, utilizando cromatografía en capa fina y métodos



espectrofotométricos, habiendo identificado las siguientes antocianinas: peonidina-3-glucósido, malvidina-3-rutinósido, malvidina-3-glucósido, petunidina-3-rutinósido, petunidina-3-glucósido, peonidina-3-rutinósido-5-glucósido, delphinidina-3-rutinósido, delphinidina-3-glucósido, petunidina-3-rutinosido-5-glucosido, petunidina-3-gentiobiósido.

## **2.3. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS**

### **2.3.1. ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA ESPECIE VEGETAL *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche)**

#### **2.3.1.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

La muestra sometida a diagnosis en base a análisis morfológico y comparación con ejemplares del Herbario Vargas CUZ, tiene la siguiente posición taxonómica, de acuerdo al Sistema de Judd, Campbell, Kellogg & Stevens (1999):

**Reino:** Vegetal

**División:** Magnoliophyta (= Angiospermas)

**Clase:** Magnoliopsida (= Tricolpados-Eudicotiledoneas)

**Sub Clase:** Magnolidae

**Orden:** Ranunculales

**Familia:** Berberidaceae

**Género:** *Berberis*

**Especie:** *Berberis boliviana* Lechler

### 2.3.1.2. NOMBRES COMUNES DE LA PLANTA

En la región esta planta se conoce como “Ch’eqche”, “Q’eswa ch’eqche”, “Agracejo peruano”, “Ailampo”, “Uva – uva”, “Quisca-quisca”.

### 2.3.1.3 DISTRIBUCIÓN (24)

En América Central y a lo largo de los Andes hasta el extremo sur de Sudamérica.

Teniendo la siguiente distribución.

- Mundo : 175 especies
- Perú : 32 especies (25)
- Región :12 especies

### 2.3.1.4. FAMILIA BERBERIDACEAE

#### **Características morfológicas:**

Plantas herbáceas o arbustivas inermes o espinosas, con rizomas arrastrados o gruesos tubérculos, plantas vivaces con hojas simples o compuestas, flores hermafroditas, solitarias o en racimo, ramas erectas acanaladas provistas de espinas largas de 2 a 8 mm con 3 a 5 radios.

Su desarrollo varía de acuerdo a la especie, pueden alcanzar de 1 a 2 metros de altura, siendo raro que sean más altas pero pueden ser más bajas.

En el género *Berberis*, en las hojas, leño y corteza se encuentra presente el alcaloide berberina (24).

### 2.3.1.5. *Berberis boliviana* Lechler

Según el Catálogo de las plantas angiospermas y gimnospermas del Perú, *Berberis boliviana* Lechler, es una especie silvestre peruana de distribución única en el Departamento del Cusco (26).

Algunas tradiciones orales cuentan que estos frutos eran utilizados por las ñustas incas como champús naturales para lavar y cuidar sus cabellos.

Existe información sobre esta especie en Perú desde tiempos de la conquista, y algunos cronistas como Bernabé Cobo, describen esta planta con el nombre común de quisca quisca, que significa planta espinosa, con pequeñas flores amarillas y espinas filudas, cuyos frutos dan un suave color morado cuando son usados para colorear (27).

#### **2.3.1.6. DESCRIPCIÓN**

Presenta hojas fasciculadas de 12 mm de longitud y 5 mm de ancho, reticuladas, venación sobre ambos lados, sésiles o subsésiles de una coloración verde.

Inflorescencia, que nace en los braquioblastos, es decir regiones axilares, así como en regiones terminales, se presentan a manera de racimo o falso racimo, cimosas o a veces flores solitarias. El perianto es biseriado.

Flores, amarillas pequeñas, pedúnculas, bractiadas, actinomorfas, hermafroditas, sus miembros ordenados cíclicamente, el perianto formado por diversos verticilos, trímeros o dímeros a los cuales acostumbran seguir otros dos hectarios (base de los pétalos) pudiendo ser de origen estaminal. La flor es hipoginea, es decir presenta el ovario elevado con respecto a las demás piezas florales.

Androceo, presenta de 4 a 18 estambres libres, generalmente en 2 ciclos, uno interno y otro externo. Los externos opuestos a los pétalos. Las anteras basifijas o dorsales con dehiscencia bivalvar.

Gineceo, presenta un pistilo unilocular (derivado de 2 a 3 carpelos). El estigma es apical capitado, sésil o sostenido por un estilo corto o grueso, óvulos escasos o numerosos de placentación peristal (óvulos insertados en las paredes internas del ovario).

Polen, básicamente tricolpado en espiral.

Fruto, viene a ser una baya o cápsula dehiscente con una o varias semillas. Presenta una forma globulosa, de tamaño pequeño y una coloración que varía entre rojo y azul morado.

Semillas, pueden ser una o varias, protegidas por un endospermo copioso carnosos y coriáceos.

El embrión diminuto y redondeado lineal o espatular, los cotiledones indiferenciados con una radícula ancha.

Polinización, generalmente entomógama, existiendo también autogamia (24).

### **2.3.1.7. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA**

Vegetal espontáneo que crece entre matorrales de alturas, climas fríos de preferencia en zonas templadas en laderas y montañas. La propagación de esta planta se realiza mediante reproducción vegetativa y por semillas (24).

### **2.3.2. EPILEPSIA**

Una convulsión o crisis epiléptica es un fenómeno paroxístico originado por una actividad anormal, excesiva y sincrónica de un grupo de neuronas del SNC, y que puede cursar clínicamente de distintas formas. Epilepsia es la existencia de crisis epilépticas recurrentes debidas a un proceso crónico subyacente. La existencia de una convulsión aislada, o de crisis recurrentes debidas a factores corregibles o evitables no es necesariamente una epilepsia.

Un síndrome epiléptico es una epilepsia con un conjunto de síntomas y signos que habitualmente se presentan juntos, sugiriendo un mecanismo subyacente común.

Se habla de status epiléptico cuando una crisis dura más de 30 minutos o cuando existen crisis repetidas entre las cuales el paciente no recupera la conciencia (28).

La Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE) y la Oficina Internacional para la Epilepsia (IBE) han llegado a un consenso para las definiciones de los términos crisis epiléptica y epilepsia. Una crisis epiléptica es una ocurrencia transitoria de signos y/o síntomas debido a la anomalía excesiva o sincronismo neuronal de la actividad cerebral. Y la Epilepsia es un desorden del cerebro caracterizado por una permanente predisposición a generar crisis epilépticas y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas, y sociales de esta condición. Igualmente, la definición de epilepsia requiere la ocurrencia de al menos una crisis epiléptica **(29)**.

Para la Organización Mundial de la Salud (OMS), la epilepsia es definida como “afección crónica producida por diferentes etiologías, caracterizada por la repetición de crisis debidas a una descarga excesiva de las neuronas cerebrales (crisis epiléptica) asociadas eventualmente a síntomas clínicos o paraclínicos”. Igualmente, define epilepsia como “condición caracterizada por crisis epilépticas recurrentes (dos o más) no provocadas por alguna causa inmediatamente identificable” **(30)**.

### **2.3.2.1. CLASIFICACIÓN**

El primer intento de clasificación de las epilepsias fue realizado por la Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE del inglés International League Against Epilepsy) en 1981 y revisada posteriormente en 1989 por la ILAE. La clasificación fue sometida a una revisión en el 2001 y se introdujo varios síndromes epilépticos y condiciones relacionadas que no fueron incluidas en la clasificación de 1989 **(31)**.

**Figura N°1. Clasificación de las crisis epilépticas**

Clasificación de las crisis epilépticas (Liga internacional de la epilepsia, 1981)	
<b>Crisis parciales</b>	
<ol style="list-style-type: none"><li>1. <b>Simple</b>s (con síntomas motores, sensitivos, autónomos o psíquicos).</li><li>2. <b>Complejas</b>.</li><li>3. <b>Con generación secundaria</b></li></ol>	
<b>Crisis generalizadas</b>	
<ol style="list-style-type: none"><li>1. <b>Ausencias</b>.</li><li>2. <b>Tónico clónicas</b></li><li>3. <b>Tónicas</b></li><li>4. <b>Atónicas</b></li><li>5. <b>Mioclónicas</b></li></ol>	
<b>Crisis no clasificadas</b>	
<ol style="list-style-type: none"><li>1. <b>Convulsiones neonatales</b></li><li>2. <b>Espasmos infantiles</b></li></ol>	

**Fuente: Manual de CTO.NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA 6° EDICIÓN, 2005.**

Las **convulsiones parciales** (focales) son aquellas en las que la actividad eléctrica queda circunscrita a un área concreta de la corteza cerebral, con independencia de que durante la crisis la conciencia esté conservada (parciales simples) o alterada (parciales complejas).

La sintomatología con la que cursa la crisis dependerá del área cortical donde se sitúan las neuronas causantes de la misma. Las crisis parciales complejas se originan en el lóbulo temporal en un 60% de los casos y en el frontal en el 30%.

a. Las crisis parciales simples pueden producir síntomas motores, sensitivos, autónomos (sudoración, piloerección), visuales (destellos simples o alucinaciones complejas), auditivos (sonidos simples o elaborados), olfativos (olores intensos y poco habituales) o psíquicos (miedo, despersonalización).

Las crisis motoras pueden comenzar en un área muy pequeña y extenderse gradualmente (en segundos o minutos) a un área hemicorporal más extensa (progresión jacksoniana). En ocasiones, tras una crisis motora puede persistir una debilidad del área afectada (parálisis de Todd) auto limitada en minutos u horas.

b. Durante las crisis parciales complejas el paciente tiene dificultad para mantener un contacto normal con el medio, junto con alteración del comportamiento que

puede ir desde la inmovilidad o automatismos básicos (deglución), hasta comportamientos más elaborados; tras la crisis existe característicamente un período de confusión.

**Las crisis generalizadas** se originan simultáneamente en ambos hemisferios, aunque es difícil descartar por completo la existencia de una actividad focal inicial que se propague con rapidez y que en ocasiones es reconocible por la existencia de síntomas focales previos a la pérdida de la conciencia (aura).

a. Las ausencias (pequeño mal) se comportan como breves episodios de pérdida brusca del nivel de conciencia sin alteración del control postural; característicamente duran segundos y pueden repetirse muchas veces al día, suelen acompañarse de pequeños signos motores bilaterales (parpadeo, masticación) y se recupera la conciencia de forma igualmente brusca, sin confusión posterior ni memoria del episodio. La edad de comienzo suele estar entre los 4 años y el inicio de la adolescencia, siendo la causa más frecuente de crisis en este rango de edad; no se acompañan de otros problemas neurológicos, responden de forma favorable al tratamiento farmacológico y entre un 60 y un 70% de los casos remiten durante la adolescencia. Los hallazgos en el EEG son típicamente descargas generalizadas y simétricas de punta-onda a 3 Hz coincidiendo con las crisis, aunque en el EEG existen más períodos de actividad anormal que los visibles clínicamente. La hiperventilación incrementa la frecuencia del trazado anómalo.

Existen las denominadas ausencias atípicas, con pérdida de conciencia de mayor duración, con inicio y fines menos bruscos y generalmente signos focales. El EEG muestra trazados de punta onda a frecuencias menores de 3 Hz. y suelen responder peor al tratamiento que las ausencias típicas.

b. Las convulsiones tónico-clónicas (gran mal) suelen tener un comienzo brusco, sin aviso previo, aunque algunos pacientes refieren síntomas poco definidos en las horas previas, que no deben ser confundidos con auras causadas por un origen focal de la crisis. La fase inicial es una contracción tónica generalizada, acompañada de cianosis, aumento de frecuencia cardíaca y de la presión arterial, y midriasis. En 10-20 segundos generalmente comienza la fase clónica, de

duración variable. En el post crítico, existe ausencia de respuesta a estímulos externos, flaccidez muscular e hipersalivación que pueden comprometer la vía aérea, seguido de una fase de lenta recuperación del nivel de conciencia (minutos, horas) acompañada de confusión. El paciente refiere cansancio, cefalea y mialgias durante varias horas tras la crisis.

El EEG muestra distintos trazados a lo largo de la crisis: existe una actividad rápida de bajo voltaje, con descargas generalizadas y polipuntas de alto voltaje en la fase tónica; en la fase clónica aparece una punta-onda a baja frecuencia; y en el post crítico hay un enlentecimiento global que va resolviéndose junto con la recuperación del nivel de conciencia.

Son el tipo de crisis más frecuentes en el contexto de trastornos metabólicos.

- c. Existen convulsiones tónicas puras y clónicas puras; son similares a las anteriores con ausencia de alguna de las fases.
- d. Crisis atónicas: se caracterizan por la repentina pérdida del tono muscular de escasos segundos de duración, con breve alteración del nivel de conciencia, sin confusión posterior. Suelen presentarse en el contexto de síndromes epilépticos conocidos.
- e. Las mioclonías son contracciones breves de los músculos, que pueden estar originadas en distintos niveles (cortical, subcortical, medular). Cuando existe origen cortical son consideradas fenómenos epilépticos, mostrando el EEG descargas de punta onda bilateral y sincrónica. Suelen coexistir con otros tipos de crisis, aunque son la principal manifestación de algunos síndromes epilépticos (28).

### **2.3.2.2. ETIOLOGÍA**

Los síndromes epilépticos se dividen en:

- Epilepsias idiopáticas o primarias: la influencia genética suele ser mayor.
- Epilepsias sintomáticas o secundarias: de etiología conocida y demostrable.
- Epilepsias criptogenéticas: se suponen que son sintomáticas, pero no se puede demostrar la etiología (28).



### **2.3.2.3. FISIOPATOLOGÍA**

Las crisis son la consecuencia del desequilibrio entre los mecanismos excitatorios e inhibitorios del SNC. El mecanismo básico de producción de las crisis, aunque no bien conocidos, sería el siguiente:

1. Existe inicialmente una actividad de descarga generada por la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Na}^{+}$  al interior de la neurona, causando una despolarización prolongada de la membrana. Esto generaría una punta en el EEG.
2. En condiciones normales, esta actividad es frenada mediante una hiperpolarización mediada por los receptores GABA y los canales de  $\text{K}^{+}$ .
3. Las descargas repetidas originan un aumento del  $\text{K}^{+}$  extracelular, del  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular y de la activación mediada por los receptores NMDA, con lo que se evita que tenga lugar la hiperpolarización normal.

Existen muchos mecanismos que pueden alterar la tendencia de las neuronas a realizar descargas paroxísticas; en ocasiones se produce una transformación de toda un área neuronal que se convierte en hiperexcitable de forma crónica, convirtiéndose en un foco epiléptico: este proceso se conoce como epileptogénesis (28).

### **2.3.2.4. DIAGNÓSTICO**

Se basa en la anamnesis.

- **El EEG:** método complementario de elección para demostrar el carácter epiléptico de una crisis y es esencial para definir algunos síndromes epilépticos.

No es un test que permita diagnosticar o excluir epilepsia por sí mismo (pueden aparecer alteraciones EEG en individuos normales (10-15%): si aparece un EEG anormal en ausencia de clínica no se debe tratar con anticonvulsivantes.

- **Neuroimagen (TAC/RM):** indicada en casi todos los pacientes con crisis epilépticas de comienzo reciente (excepción: niños con trastorno epiléptico generalizado benigno).  
RM: es más sensible para detectar alteraciones estructurales del sistema nervioso central.
- **Diagnóstico diferencial:** síncope, pseudocrisis, AIT, migraña, narcolepsia e hipoglucemia (28).

### 2.3.2.5. TRATAMIENTO

#### **Fármacos anticonvulsivantes**

La indicación de comenzar un tratamiento epiléptico tras el diagnóstico de epilepsia viene marcado por el riesgo de presentar nuevas crisis, el cual a su vez depende de la etiología (mayor riesgo si existe lesión estructural), la edad (mayor en menores de 16 años y mayores de 60), el tipo de crisis (recurren más las parciales que las generalizadas) y el EEG (mayor riesgo si aparecen descargas punta-onda en el primero realizado).

Una vez establecida la conveniencia de iniciar el tratamiento anticonvulsivo, debe iniciarse una escalada de dosis lenta, con control de los niveles séricos del fármaco si es posible, hasta alcanzar las dosis máximas toleradas sin efectos secundarios. Si un primer fármaco no controla las crisis, es preciso utilizar un segundo anticonvulsivante, generalmente manteniendo el tratamiento previo hasta que se alcanzan niveles terapéuticos, hecho lo cual se retira el primero de forma progresiva.

Aproximadamente un tercio de los pacientes no se controlan con monoterapia y precisan la combinación de diversos fármacos. No existe en la actualidad una guía terapéutica única para el uso de politerapia, pero generalmente se combinan dos fármacos de primera línea a los que se puede añadir un tercero de forma coadyuvante.

En un 70% de los niños y un 60% de los adultos epilépticos con buen control terapéutico puede suspenderse el tratamiento tras una temporada sin crisis. No hay unos criterios comunes, pero se consideran signos favorables para

permanecer sin crisis tras la retirada de medicación la presencia de un EEG normal, una exploración neurológica sin alteraciones, un único tipo de crisis, y un período de 1 a 5 años sin crisis. La mayor parte de las recidivas sucede en los tres primeros meses tras la retirada del tratamiento **(28)**.

### **MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTICONVULSIVANTES**

Aunque la mayoría posee mecanismos de acción múltiples, existen unos mecanismos básicos compartidos por distintos fármacos:

- Inhibición de los canales de  $\text{Na}^+$ : fenitoína, carbamazepina, topiramato.
- Inhibición de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$ : fenitoína, valproico, etosuximida.
- Disminución de liberación de glutamato: lamotrigina.
- Potenciación de la función de los receptores GABA: benzodiacepinas, barbitúricos.
- Aumento de la disponibilidad del GABA: gabapentina, tiagabina, vigabatrina **(28)**.

**Figura N°2. Tratamiento de las crisis epilépticas**

	INDICACIONES	EFFECTOS SECUNDARIOS	OTROS	MECANISMO DE ACCIÓN
FENITOINA 1°	- Crisis tónico clónicos - Crisis parciales - Status epiléptico	- Ataxia - Nistagmo - Hiperplasia gingival(MIR) - Hirsutismo - Interfiere con factores dependientes de la vitamina K, con la vitamina D y con el ácido fólico (MIR 08,222)	- 1° elección: ancianos, postraumática, postinfarto, Alzheimer - Empeora las ausencias - ↓ carbamazepina y ↑ fenobarbital	Inhibición canales Na <sup>+</sup>
CARBAMAZEPINA 2°	- Crisis tónico clónicas - Crisis parciales	- Ataxia, diplopía - Hepatotóxica - Anemia aplásica	- Empeora Mioclonías y ausencias - ↓ Fenitoina(MIR)	
TOPIRAMATO 3°	- Crisis parciales - Crisis generalizadas	- Litiasis renal		
ACIDO VALPROICO 2°	- Todas	- Temblor - Hepatotóxico - Trombocitopenia - Aumento de peso - Alopecia - hiperamonemia	1°eleccion: - crisis tónico clónicas - epilepsia Mioclónica juvenil - síndrome de west - síndrome de lennox gastaut	Inhibición canales Ca <sup>+</sup>
ETOSUXIMIDA 1°	- Ausencias	- Síndrome parkinsoniano - Alteraciones hematológicas		
LAMOTRIGINA 3°	- Crisis parciales - Crisis generalizadas - síndrome de lennox gastaut - ausencias atípicas	- Exantema grave(s.steven-johnson)		Disminución liberación glutamato
FENOBARBITAL Y PRIMIDONA 1°	- Crisis tónico clónicas - Crisis parciales	- Sedación - Hiperactividad en niños (efecto paradójico)	- ↓ fenitoina/carbamazepina	Potenciación R. GABA
BENZODIACEPINAS 2°	- Status Epiléptico - Profilaxis crisis febriles - Mioclonías - Síndrome de west (clonazepam)	- Sedación		
GABAPENTINA 3°	- Crisis parciales	- Somnolencia	- No interacciones farmacológicas - Eliminación renal	Aumento disponibilidad GABA
TIAGABINA VIGABATRINA 3°	- Crisis parciales - Crisis parciales	- Mareo, somnolencia - Perdida del campo visual		
FELBAMATO 2°	- Crisis parciales - síndrome de lennox gastaut	- Hematológicos - Hepatotoxicidad		
LEVITIRACETAM	- Crisis parciales			
OXCARBAMACEPINA	- Crisis parciales		- Derivado carbamazepina	

**Fuente: Manual de AMIR.NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA, 3° edición. 2006**

### **2.3.2.6. EFECTOS SECUNDARIOS MÁS FRECUENTES DE LOS FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS (FAE)**

Son fármacos con gran capacidad para desencadenar efectos indeseados. Algunos ensayos clínicos, con diferentes fármacos antiepilépticos, mostraron que fue necesario suspender la medicación entre un 9 y un 20% de los casos, debido a la gravedad y a las molestias que ocasionaron (32).

Los efectos secundarios rara vez constituyen una amenaza vital para la persona, reducen de forma significativa su calidad de vida y son un factor de riesgo para un manejo ineficaz del régimen terapéutico.

La neurotoxicidad (somnolencia, dificultad para concentrarse, dificultad para la coordinación de movimientos, alteraciones cognitivas y conductuales, etc.) es el efecto secundario por excelencia de estos fármacos. Aparece con más frecuencia e intensidad en los de 1º generación y en algunos de la 2º generación. En menor medida en los de la 3º. Esta es la gran ventaja de estos fármacos sobre los fármacos antiepilépticos clásicos (33).

Hay factores que dependen de la persona que implican mayor riesgo de desarrollar efectos secundarios:

- **Edad:** Neonatos, lactantes, niños y ancianos.
- **Sexo:** Mujeres. Las niñas en tratamiento con topiramato abandonan más frecuentemente el tratamiento por efectos secundarios que los niños. Además, los fármacos antiepilépticos pueden interactuar con los anticonceptivos orales (disminuyen su eficacia) y son teratógenos, por lo que la terapia se debe ajustar en mujeres en edad fértil.
- **Presencia de patología asociada:** insuficiencia renal y hepática. En estos casos la dosis debe ajustarse. Se debe estar atento a la aparición de efectos secundarios aún a dosis inferiores a las habituales (34).

#### **Efectos secundarios en los fármacos de 1º generación**

Son los más graves y los más conocidos.

- **Somnolencia (efecto neurotóxico):** todos, en especial el fenobarbital.

- Náuseas, vómitos, dolor epigástrico, anorexia: fenitoína y etosuximida.
- Hiperplasia gingival: fenitoína en el 20% de los pacientes.
- Nistagmo, ataxia, confusión, alucinaciones: intoxicación por fenitoína.
- Lupus eritematoso sistémico: fenitoína y etosuximida.
- Hepatotoxicidad: fenitoína.
- Alteraciones hemáticas: aplasia medular (etosuximida), anemia (fenobarbital y fenitoína) (35).

### **Efectos secundarios en los fármacos de 2º generación**

Menor nivel de toxicidad.

- Somnolencia, sedación, ataxia, dificultad para la coordinación de movimientos, náuseas, vómitos, anorexia: sobre todo con ácido valproico, carbamazepina y clonazepam. Son efectos que tienden a atenuarse con el tiempo porque son fármacos que provocan tolerancia.
- Diplopía, vértigo incoordinación, hiponatremia: en intoxicación por carbamazepina.
- Reacciones cutáneas: todos
- Hepatotoxicidad: mucho más leve que la provocada por fenitoína. La excepción en este grupo es la hepatotoxicidad grave que puede provocar el ácido valproico (36).
- Alteraciones hemáticas: aplasia medular con la carbamazepina (37).

### **Efectos secundarios en los fármacos de 3ª generación (38)**

Se conocen menos, debido a que son de nueva aparición.

- Náuseas, vómitos, mareos, visión borrosa, diplopia: más frecuente con lamotrigina.
- Somnolencia y sedación: gabapentina y vigabatrina.
- Confusión: vigabatrina (puede precipitar brotes psicóticos, se desaconseja su uso en personas con antecedentes de psicosis).
- Reacciones cutáneas graves: lamotrigina (39).

En todos los fármacos antiepilépticos hay riesgo de falta de vitamina K y de ácido fólico, por lo que puede haber riesgo de hemorragias (generalmente poco importantes) y de malformaciones fetales a nivel del tubo neural (40).

### **2.3.3. DESCRIPCIÓN DEL MEDICAMENTO USADO COMO PATRÓN COMPARATIVO EN EL PRESENTE ESTUDIO.**

#### **2.3.3.1. DIAZEPAM**

##### **Introducción (41)**

El diazepam es un fármaco derivada de la 1,4-benzodiazepina, con propiedades ansiolíticas, miorelajantes, anticonvulsivantes y sedantes, sus nombres comerciales son diacepin, valium y metildiazepinona entre otros.

El diazepam es usado para tratar estados de ansiedad y tensión. Es la benzodiazepina más efectiva para el tratamiento de espasmos musculares.

##### **Mecanismo de acción (42)**

El ácido gamma-aminobutírico (GABA) es el neurotransmisor inhibitorio más importante del sistema nervioso central (SNC). Actúa sobre receptores específicos denominados GABA<sub>A, B y C</sub>.

El GABA<sub>A</sub>, situado a nivel postsináptico, es un receptor ionotrópico dado que contiene un canal de cloro conformado por 5 subunidades. Si bien existen múltiples combinaciones posibles de estas subunidades, la más frecuente es 2  $\alpha$ - 2 $\beta$ -1 $\gamma$ . Al unirse el GABA a su sitio de acción específico se produce la apertura de dicho canal, con la consiguiente entrada de cloro a la célula e hiperpolarización de la misma, dando como resultado un efecto inhibitorio.

Las benzodiazepinas actúan solamente sobre los receptores GABA<sub>A</sub> que tienen presente la subunidad  $\gamma$ .

Ejercen su acción aumentando la afinidad del GABA por su receptor y la frecuencia de apertura del canal de cloro, sin modificar la conductancia del mismo ni el tiempo de apertura del canal produciendo hiperpolarización de la membrana quedando la neurona resistente a la excitación.

##### **Propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas (41), (42).**

Las benzodiazepinas actúan en general como depresores del SNC, desde una leve sedación hasta hipnosis o coma lo que depende de la dosis. Se piensa que su mecanismo de acción es potenciar o facilitar la acción inhibitoria del neurotransmisor ácido gamma aminobutínico (GABA), mediador

de la inhibición tanto en el nivel presináptico como postsináptico en todas las regiones del SNC. Se absorbe bien en el tracto gastrointestinal y cuando se inyecta en el músculo deltoides, en general la absorción es rápida y completa. Absorción completa en el TGI, el diazepam se encuentra entre las benzodiazepinas que se absorben más rápidamente. Su absorción es lenta y errática después de la administración intramuscular. Se distribuye ampliamente en el organismo. Se une a proteínas plasmáticas en 98,5 a 98,9%. Al administrar dosis repetidas de benzodiazepinas de vida media larga se produce acumulación del compuesto inalterado o de metabolitos activos. El estado de equilibrio se alcanza en 5 a 14 días. La eliminación del fármaco es lenta pudiendo durar por semanas. Su  $t_{1/2}$  es de 30 a 56 horas. Metabolismo hepático a metabolitos activos. Excreción renal sólo una pequeña parte en las heces.

#### **Indicaciones (41)**

- a) Ansiedad, insomnio (alivio de síntomas por corto tiempo).
- b) Medicación pre-anestésica (sedación), procedimientos endoscópicos y cardioversión (sedación y amnesia anterógrada).
- c) Crisis convulsivas (tratamiento y coadyuvante) y estado epiléptico.
- d) Espasmos musculares, tétanos.
- e) Abstinencia alcohólica (alivio de síntomas agudos).

#### **Dosis (41)**

Estado epiléptico. Crisis convulsivas severas y recurrentes.

**Adultos:** Vía intravenosa 5 a 10 mg repetidos c/10 a 15 minutos hasta alcanzar una dosis máxima de 30 mg. Puede administrarse con extrema cautela otro ciclo en 2 a 4 h.

**Niños** : < 30 días a 4 años: Vía intravenosa lenta 0,2 a 0,5 mg c/2 a 5 min hasta un máximo de 5 mg.

5 años a más: Vía intravenosa lenta 1 mg c/ 2 a 5 min hasta un máximo de 10 mg. Se puede repetir el ciclo en 2 a 4 h. de ser necesario.



## **Reacciones adversas (41)**

**Frecuentes:** somnolencia, fatiga, ataxia (al inicio del tratamiento), enrojecimiento, hinchazón o dolor en el lugar de la inyección.

**Poco frecuente:** depresión neurológica, cefalea, confusión, mareo, dolor abdominal, estreñimiento o diarrea, visión borrosa, cambios en la libido, retención urinaria, sequedad de la boca, aumento de secreciones bronquiales, depresión respiratoria, bradicardia, alucinaciones, nerviosismo, insomnio, rash, disfunción hepática.

Por discontinuación abrupta: (dosis altas por periodos prolongados), irritabilidad, nerviosismo, hasta convulsiones, delirio y paranoia, sudoración, dolor abdominal, náusea y vómito, hipersensibilidad, dolor, fotofobia y taquicardia.

Su administración vía intravenosa puede producir dolor en el sitio de inyección y en algunos casos tromboflebitis (debido a su solvente el propilenglicol).

## **Interacciones (41), (42).**

**Alcohol y depresores del SNC:** Se incrementan los efectos depresores del SNC.

**Fentanilo:** Aumento del riesgo de hipotensión y depresión respiratoria; reducir un tercio de la dosis del Fentanilo.

**Carbamazepina:** Disminución de las concentraciones séricas de ambos fármacos.

**Cimetidina, anticonceptivos, eritromicina, isoniazida, omeprazol:** Prolongan los efectos del diazepam.

**Antihipertensivos:** Potencian los efectos hipotensores.

**Levodopa:** Disminución del efecto del antiparkinsoniano.

**Rifampicina:** Disminuye concentraciones plasmáticas del diazepam, ajustar la dosis.

**Zidovudina:** Incremento de la toxicidad del antiviral.

## **2.3.4. FÁRMACO UTILIZADO COMO INDUCTOR: PENTILENTETRAZOL**

### **Introducción**

El Pentilenotetrazol o Pentilentetrazol es un fármaco de acción estimulante del sistema nervioso central muy potente que se ha prescrito como analéptico para estimular el centro respiratorio, vagal y vasomotor del cerebro, para contrarrestar los efectos de los depresores y para incrementar el flujo sanguíneo cerebral, especialmente en pacientes geriátricos. En inglés es conocido con el nombre de Pentylenetetrazol (43).

### **Historia**

Durante el tamizado de una serie de tetrazoles, los investigadores se dieron cuenta que algunos olían a alcanfor. Esto llevó a probarlos como analépticos. De entre todas las drogas probadas, algunas con actividad depresora, depresora y estimulante al mismo tiempo y estimulantes puras, se seleccionó al pentilenotetrazol por su gran potencia estimulante en las pruebas. Se lanzó a la práctica clínica con una serie de nombres comerciales: Leptazol en Inglaterra; Cardiazol en Alemania y Metrazol en otros países (43).

### **Acciones farmacológicas**

El pentilentetrazol es un fármaco ansiogénico prototípico que ha sido extensamente utilizado en modelos animales para la epilepsia. Es usado principalmente en estudios experimentales de mecanismos de ataques epilépticos.

Por otro lado, una importante característica del PTZ es la facilidad con la que atraviesa la barrera hematoencefálica (44) y la latencia del inicio de la crisis, la cual es dependiente de la dosis suministrada, así como de la edad del animal (45).

### **Mecanismo de Acción**

El pentilentetrazol (PTZ) es un antagonista no competitivo de los receptores GABA<sub>A</sub> (interacciona con el sitio de unión a picrotoxina) (46), (47).

Las manifestaciones conductuales causadas por el PTZ lo hacen un modelo de crisis generalizadas (crisis de ausencia, cuando se emplean dosis bajas

del PTZ (20 mg/kg de peso); o crisis tónico - clónicas, con dosis altas (mayor de 50 mg/kg) (48), (49).

Puede ser administrado en ratas neonatas y ratones adultos. Las manifestaciones conductuales convulsivas son dependientes de la edad.

Las crisis tónico clónicas son observadas durante todo el desarrollo mientras que las crisis clónicas son limitadas durante las dos primeras semanas postnatales de vida (45), (50).

Es un modelo fácil de usar y las crisis producidas generan baja mortalidad. El PTZ es el modelo de primera elección para la investigación de fármacos con efecto anticonvulsivante (51).

### **2.3.5. TEST DE IRWIN- EVALUACIÓN DEL PERFIL NEUROLÓGICO**

Es una prueba sistemática y observacional, llevada a cabo en ratones, que evalúa su comportamiento y estado fisiológico frente al tratamiento con diferentes drogas o fármacos. Éste es uno de los métodos recomendados por el ICH (International Conference on Harmonisation) para determinar posibles efectos de compuestos candidatos activos sobre SNC; esta prueba brinda un amplio rango de información que guía al investigador hacia el posible perfil farmacológico de la droga o fármaco evaluado.

Existen numerosas pruebas para determinar los efectos generales de un fármaco con actividad en el SCN y sobre la función fisiológica. Dentro de estos se encuentran el procedimiento de observación primaria originalmente descrito por Irwin, 1968 y la batería de observación funcional descrito por Moser et al., 1995. El test de Irwin puede ser usado para estimar la dosis letal mínima de una sustancia o fármaco en desarrollo, las dosis que generaran respuesta sobre el SCN, y principalmente, para evaluar los efectos primarios sobre la conducta y funciones fisiológicas ocasionadas por la administración de esta sustancia a una dosis y vía de administración específicas.

Los datos obtenidos pueden ayudar a determinar el rango de la dosis para ser probada en otros estudios de seguridad. Puede proporcionar una orientación inicial sobre la indicación terapéutica, mecanismo de acción o función específica (52), (53).

Para el procedimiento del test de Irwin, se administra la sustancia de prueba a ratas o ratones, y después estos son observados durante las siguientes horas y en el próximo día. En los animales se observan conductas especialmente relacionadas con neurotoxicidad, como excitación, cola de Strauss, saltos, hipersensibilidad a estímulos externos, estereotipia, y conducta agresiva, y para conductas relacionadas a depresión del SNC, como sedación, pérdida del balance, pérdida de la tracción, incoordinación motora, hiposensibilidad a estímulos externos, disminución del tono muscular, acinesia, catalepsia e hipotermia. Los efectos en la función autonómica, como respiración, diámetro de las pupilas, temperatura corporal, salivación y defecación, son también evaluados (52), (53). Ver ANEXO N° 10 y 11

#### **2.3.6. ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA**

Todas las pruebas descriptivas de toxicidad que se llevan a cabo con animales se basan en 2 principios fundamentales. El primer principio es que cuando se cumplen los requisitos adecuados, los efectos producidos por un compuesto en los animales de laboratorio son aplicables a los seres humanos. El segundo principio afirma que la exposición de los animales de experimentación a dosis altas de los productos tóxicos es un método válido y necesario para descubrir posibles peligros para el hombre, ya que la incidencia de un efecto en una población aumenta a medida que se incrementa la dosis de exposición (52).

El ensayo por excelencia que se lleva a cabo en prácticamente todas las sustancias químicas que tienen algún interés biológico es el de toxicidad aguda (53).

El objeto de las pruebas de toxicidad aguda proporciona un cálculo cuantitativo de la toxicidad aguda ( $DL_{50}$ ). Identifican los órganos diana y otras manifestaciones clínicas de toxicidad aguda. Establece la reversibilidad de la respuesta tóxica. Orientan en cuanto al intervalo de dosis para otros estudios (52).

La dosis letal media ( $DL_{50}$ ) es la concentración de la sustancia química, que provoca el 50% de muerte de los animales, en un tiempo de exposición conocido **(52)**.

El procedimiento inicial consiste en investigar una serie de rangos dosis del compuesto en una única especie de animales. Esto requiere seleccionar una vía de administración, preparar el compuesto de una forma adecuada para su administración por la vía seleccionada y elegir una especie apropiada, el objeto es comparar con otros compuestos relacionados y para estimar si será posible recurrir a esta vía para estudios subsiguientes y mucho más extensos de toxicidad prolongada **(53)**.

Fundamentalmente todos los ensayos de toxicidad aguda se llevan a cabo en ratas o ratones debido a su bajo coste, su disponibilidad y el hecho de que hay abundantes referencias de datos toxicológicos sobre la mayoría de los compuestos para estas especies, estos deben estar sanos y ser observados por un período de tiempo (1 semana para ratas o ratones, 3 a 4 semanas para perros) en el laboratorio o en animalarios centrales antes de los ensayos. La secuencia para determinar la toxicidad aguda de un nuevo compuesto consiste en una primera investigación experimental preliminar de rangos o intervalos de dosis, unas experiencias subsiguientes para estrechar el intervalo de las dosis efectivas para determinar la letalidad y finalmente se lleva a cabo una experiencia definitiva para establecer la curva de dosis-respuesta para dicha letalidad **(53)**.

#### **2.3.6.1. MÉTODO DE LORKE PARA LA DETERMINACIÓN DE $DL_{50}$**

El método de Lorke describe un método para la investigación de la toxicidad aguda de una sustancia desconocida, con la determinación de la  $DL_{50}$ . Este método no presenta limitaciones y es aplicable a fármacos y sustancias de la agricultura e industria. Este método también puede usarse por todas las vías de administración **(54)**.

Este método propone la determinación de toxicidad aguda en dos pasos. Además está basada en la suposición de que la sustancia química a ser investigada es completamente desconocida y que la investigación será llevada con número mínimo de animales experimentales **(54)**.

### **2.3.6.2. INFLUENCIA DE LA VÍA DE ADMINISTRACIÓN SOBRE LA TOXICIDAD.**

#### **VÍA ORAL**

La vía oral es probablemente el tercer camino más común por el que entran las sustancias químicas en el organismo. El tracto gastrointestinal en los animales de experimentación puede considerarse como un tubo a través del cuerpo que empieza en la boca y termina en el ano. Aunque está dentro del organismo, su contenido es esencialmente exterior a los fluidos corporales por lo tanto en el tracto gastrointestinal las sustancias químicas solo pueden producir un efecto en la superficie de las células mucosas que revistan dicho tracto, a menos que tenga lugar la absorción del mismo (53).

En condiciones normales sustancias químicas o incluso alimentos permanecen en la boca y el esófago un tiempo demasiado corto para permitir un grado importante de absorción, de hecho el primer lugar desde que las sustancias químicas administradas por vía oral pueden ser translocadas eficazmente es el estómago (o el rumen de aquellas especies que tienen este órgano) (53).

La toxicidad de las sustancias químicas administradas por vía oral puede variar según la frecuencia con la que son y según en qué condiciones se hace, es decir, si son mezcladas con alimentos o administradas a un estómago vacío. Worden y Harper (1963) citan estudios que contemplan los dos casos y que muestran que la toxicidad de un medicamento administrado por sonda oral puede ser considerablemente diferente de la del mismo medicamento administrado mezclado con la ración (53).

**Tabla N° 1: Clasificación de las sustancias de acuerdo a su toxicidad aguda.**

CLASE	DL50 (mg/kg)
Extremadamente tóxica	<10
Tóxica	10-1000
Moderadamente tóxica	100-1000
Ligeramente tóxica	>1000

**Fuente: Lorke, 1983**

### **2.3.7. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS (57), (58).**

**Amnesia anterógrada.-** Amnesia para los acontecimientos que ocurren tras el episodio que precipitó el trastorno.

**Analéptico.-** Fármaco que actúa como restaurador.

**Angioedema.-** Reacción vascular que afecta a la dermis profunda de los tejidos subcutáneos o mucosos.

**Ansiedad.-** Sentimiento de intranquilidad, desasosiego, agitación, incertidumbre y miedo, que aparece al prever una situación de amenaza o de peligro, generalmente de origen intrapsíquico más que externo y cuya causa suele ser desconocida o no admitida.

**Anticonvulsivo.-** Agente que suprime las convulsiones.

**Asterixis.-** Trastorno motor caracterizado por pérdida intermitente de una postura adoptada.

**Atóxico.-** Que no es venenosos o no es debido a un tóxico.

**Bradicinesia.-** Lentitud anormal del movimiento.

**Benzodiacepina.-** Droga usada para tratar trastornos de ansiedad aumentando la capacidad del neurotransmisor GABA para inhibir a células en el cerebro.

**Colestasis.-** Detención o supresión del flujo biliar por causas intrahepáticas o extrahepáticas

**Convulsión.-** Contracción o serie de contracciones involuntarias violentas de los músculos voluntarios, crisis central la que no es desencadenada por causa externa, sino que depende de la lesión del sistema nervioso central.

**Corteza cerebral.-** Es el manto de tejido nervioso que cubre la superficie de los hemisferios cerebrales, es aquí donde ocurre la percepción, la imaginación, el pensamiento, el juicio y la decisión.

**Depresión.-** Estado emocional anormal caracterizado por un excesivo sentimiento de tristeza, melancolía, desánimo, demérito, vacío y desesperanza, en grado inapropiado y desproporcionado respecto a la realidad.

**Disgenesia.-** Desarrollo defectuoso, malformación.

**Distonía.-** Movimientos discinéticos debidos a un alteración del tono de un musculo

**Dopamina.-** Un neurotransmisor de monoamina, formado en el cerebro y esencial para el funcionamiento normal del sistema nervioso central.

**Dosis Letal Media (DL<sub>50</sub>).-** Es la dosis única que, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte del 50 % de los animales a los que se haya administrado. El valor de la DL50 se expresa en peso de la sustancia por unidad de peso del animal (miligramos por kilo, mg/kg).

**Electroforesis.-** Separación de solutos iónicos según las diferencias en sus velocidades de migración en un campo eléctrico aplicado.

**Extracto.-** Es una sustancia, normalmente es un ingrediente activo de una planta o tejido animal, que se prepara utilizando disolventes o evaporación, para separar la sustancia del material original.

**GABA.-** Un neurotransmisor inhibitor en el cerebro que actúa para reducir la actividad o la proporción de disparo de neuronas.

**GABA<sub>A</sub>.-** Son canales iónicos activados por ligando (también conocidos como receptores inotrópicos).

**Neurotransmisor.-** Cualquiera de los numerosos agentes químicos que modifican o producen impulsos nerviosos entre las sinapsis. Noradrenalina (también llamada Norepinefrina): Controla la alerta emocional y aumenta atención.



**Serotonina.-** Un compuesto orgánico formado de triptófano, hallado en tejido animal y humano, especialmente el cerebro, suero sanguíneo, y membranas mucosas gástricas; activo en la vasoconstricción, la estimulación de los músculos lisos, transmisión de impulsos entre células del sistema nervioso, y la regulación de procesos cíclicos del cuerpo.

**Solubilidad.-** Cualidad o propiedad de ser soluble; susceptibilidad a disolverse.

**Toxico.-** Veneno, cualquier sustancia que incorporada al organismo es capaz de producir graves alteraciones orgánicas o funcionales e incluso la muerte.

**Trastorno.-** Interrupción o alteración de las funciones normales o los sistemas establecidos, como en el caso de un trastorno mental o nutricional.

**Trastorno de Ansiedad.-** Cualquiera de las afecciones diversas en las cuales la ansiedad es el disturbio primario, o es el resultado de enfrentar una situación temida u objeto.

## **CAPITULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. MATERIALES**

##### **3.1.1 MATERIAL BIOLÓGICOS**

- **MUESTRA VEGETAL**

En el presente estudio, se trabajó con las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), recolectada en los cercos de las chacras del distrito de Oropesa a una altitud de 3110 m.s.n.m, departamento de Cusco, localizado en la provincia de Quispicanchis (**ANEXO N°4**).

- **ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

Se utilizaron 55 ratones adultos hembras CEPA Balb/c/CNPB de 2 a 3 meses de edad, con un peso entre 30 g a 40 g que se obtuvieron del bioterio del Instituto Nacional de Salud de Lima. Los cuales contaron con el certificado sanitario correspondiente (**ANEXO N°2**).

##### **3.1.2 LUGARES DE EJECUCIÓN**

- Laboratorio de química orgánica de la carrera profesional de química.
- Laboratorio de farmacología N-202 de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica.

##### **3.1.3 MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO**

###### **3.1.3.1 MATERIALES DE CAMPO**

- Tijeras de podar.
- Bolsas de polietileno.
- Bolsas de papel craft.
- Papel periódico.
- Cuaderno de campo.
- Etanol 96°.
- Rociador.

- Balanza.

### **3.1.3.2 MATERIALES DE LABORATORIO**

- Baguetas.
- Lunas de reloj.
- Placas petri.
- Goteros.
- Embudos.
- Tubos de ensayo de 10 y 15 ml.
- Vasos de precipitados de 50, 100, 200 y 500 ml.
- Matraz Erlenmeyer de 1000 ml.
- Probetas de 100 y 1000 ml.
- Pipetas.
- Papel filtro.
- Pinzas para tubos de ensayo.
- Gradillas.
- Papel filtro.
- Algodón.

### **INSTRUMENTOS Y EQUIPOS DE LABORATORIO**

- Alcoholímetro.
- Equipo de reflujo.
- Cocinas eléctricas.
- Estufas.
- Baño María.
- Termómetro ambiental.
- Rotavapor Buchi 215.
- Refrigeradora.
- Balanza digital.
- Balanza analítica con sensibilidad de 0,001 g.

## **REACTIVOS**

### **Solventes**

- Solución salina 0,9%.
- Agua destilada.
- Agua para Inyección.
- Etanol 40%, 50%, 70%, 90% y 96%.
- Metanol 99,95%.
- Acetona 99,5%.
- Acetato de etilo 99,94%.
- Cloroformo 99,5%.
- Éter de petróleo 99,95%.
- Hexano 92,0%
- Tolueno 99,5%.

### **Elementos y compuestos**

- Limaduras de magnesio.
- Cloruro Férrico.
- Ácido Clorhídrico al 1% y 5%.
- Ácido Clorhídrico al 0,5N, 1N y ©.
- Ácido Sulfúrico ©.
- Amoniacó 25%.
- Cloruro férrico al 1%.
- Hidróxido de Sodio al 1%.
- Ninhidrina al 1%.
- Acetato de Cobre.

### **Reactivos para la Identificación fitoquímica**

- Benedict.
- Borntrager.
- Shinoda.
- Dragendorft.
- Baljet.

### **3.1.3.3 MATERIALES DE GABINETE**

- Computadora.
- Impresora.
- Bibliografía especializada.
- Papel bond A4.

### **3.1.3.4. DROGAS EMPLEADAS**

- Diazepam (10 mg/2ml).
- Pentilentetrazol (8,5 mg/ml).

### **3.1.3.5. OTROS MATERIALES**

- Jaulas de malla metálica.
- Jaulas de vidrio.
- Sonda metálica para administración por vía oral.
- Secadero.
- Jeringa descartables de 1ml y 5ml.
- Guantes quirúrgicos descartables.
- Gorros.
- Mascarillas.
- Cronómetro.
- Cámara fotográfica y filmadora.
- Papel Aluminio.
- Papel toalla.
- Tijeras.
- Alimento para ratones (at libitium).

## 3.2. DISEÑO METODOLÓGICO

### 3.2.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

Para el estudio fitoquímico cualitativo se realizó un estudio transversal descriptivo.

Para la determinación de la actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) se realizó un estudio cuasi-experimental de series cronológicas con múltiples grupos y un diseño con grupo control y sin pre-prueba. Se dice que es cuasi-experimental porque se cuenta con un grupo control y los animales de experimentación no se asignaron al azar, ya que los grupos se formaron antes del experimento.

### 3.2.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.2.2.1. DE LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE

**TABLA N°2: DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche)**

<b>G<sub>1</sub></b>	X <sub>1</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>
<b>G<sub>2</sub></b>	X <sub>2</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>	O <sub>7</sub>	O <sub>8</sub>
<b>G<sub>3</sub></b>	X <sub>3</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>9</sub>	O <sub>10</sub>	O <sub>11</sub>	O <sub>12</sub>
<b>G<sub>4</sub></b>	X <sub>4</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>13</sub>	O <sub>14</sub>	O <sub>15</sub>	O <sub>16</sub>
<b>G<sub>5</sub></b>	X <sub>5</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>17</sub>	O <sub>18</sub>	O <sub>19</sub>	O <sub>20</sub>

**Fuente: Elaboración propia**

**Donde:**

G<sub>1</sub> : Grupo control de 6 ratones albinos que recibieron agua estéril para inyección 0,1 ml/10g de peso corporal v.i.p. Pasado 30 minutos se administró Pentilentetrazol 85 mg/kg de peso corporal v.i.p.

- G<sub>2</sub>** : Grupo patrón de 6 ratones albinos a los que se les administró diazepam 1 mg/kg de peso corporal v.i.p. Pasado 30 minutos se administró Pentilentetrazol 85 mg/kg de peso corporal v.i.p.
- G<sub>3</sub>** : Grupo problema de 6 ratones albinos a los que se les administró 400 mg/kg de peso corporal del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) v.i.p. Pasado 30 minutos se administró Pentilentetrazol 85 mg/kg de peso corporal v.i.p.
- G<sub>4</sub>** : Grupo problema de 6 ratones albinos a los que se les administró 800 mg/kg de peso corporal del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) v.i.p. Pasado 30 minutos se administró Pentilentetrazol 85 mg/kg de peso corporal v.i.p.
- G<sub>5</sub>** : Grupo problema de 6 ratones albinos a los que se les administró 1200 mg/kg de peso corporal del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) v.i.p. Pasado 30 minutos se administró Pentilentetrazol 85 mg/kg de peso corporal v.i.p.
- X<sub>1</sub>** : Agua estéril para inyección 0,1 ml/10g de peso corporal v.i.p.
- X<sub>2</sub>** : Diazepam 1 mg/kg de peso corporal v.i.p.
- X<sub>3</sub>** : Extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) 400 mg/kg de peso corporal v.i.p.
- X<sub>4</sub>** : Extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) 800 mg/kg de peso corporal v.i.p.
- X<sub>5</sub>** : Extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) 1200 mg/kg de peso corporal v.i.p.
- y<sub>1</sub>** : Pentilentetrazol 85 mg/kg v.i.p. 30 minutos después de administrar X<sub>n</sub> (n = 1 hasta 5).
- O<sub>1</sub>, O<sub>5</sub>, O<sub>9</sub>, O<sub>13</sub>, O<sub>17</sub>**: Primera medición del tiempo con un cronómetro después de la aplicación del Pentilentetrazol, hasta donde se produjo la primera convulsión clónica (período de latencia).
- O<sub>2</sub>, O<sub>6</sub>, O<sub>10</sub>, O<sub>14</sub>, O<sub>18</sub>**: Observación y conteo de convulsiones clónicas que duran por lo menos 3 segundos después de la administración de Pentilentetrazol, durante 30 minutos.
- O<sub>3</sub>, O<sub>7</sub>, O<sub>11</sub>, O<sub>15</sub>, O<sub>19</sub>**: Medición del tiempo con un cronómetro de la duración de las convulsiones clónicas después de la aplicación del Pentilentetrazol.

O<sub>4</sub>, O<sub>8</sub>, O<sub>12</sub>, O<sub>16</sub>, O<sub>20</sub>: Se observó la muerte o supervivencia de los animales de experimentación por grupo producida por la aplicación del Pentilentetrazol, después de los 30 minutos de evaluación.

### 3.2.2.2. DE LA TOXICIDAD AGUDA POR VIA ORAL - MÉTODO DE LORKE

Se realizó el ensayo de toxicidad aguda por vía oral del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) mediante el método de LORKE desarrollándose las dos fases.

**FASE I:** Los cuatro grupos estuvieron formados por 3 animales de experimentación según el ANEXO N°16 del método de LORKE.

**TABLA N°3: FASE I - DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA DEL EXTRACTO DE LA ESPECIE VEGETAL EN ESTUDIO POR EL MÉTODO DE LORKE.**

GRUPO TRATAMIENTO		MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G <sub>1</sub>	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub> , O <sub>5</sub> , O <sub>9</sub> , O <sub>13</sub> , O <sub>17</sub> , O <sub>21</sub> , O <sub>25</sub> , O <sub>29</sub> , O <sub>33</sub> , O <sub>37</sub> , O <sub>41</sub> , O <sub>45</sub>
G <sub>2</sub>	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub> , O <sub>6</sub> , O <sub>10</sub> , O <sub>14</sub> , O <sub>18</sub> , O <sub>22</sub> , O <sub>26</sub> , O <sub>30</sub> , O <sub>34</sub> , O <sub>38</sub> , O <sub>42</sub> , O <sub>46</sub>
G <sub>3</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub> , O <sub>7</sub> , O <sub>11</sub> , O <sub>15</sub> , O <sub>19</sub> , O <sub>23</sub> , O <sub>27</sub> , O <sub>31</sub> , O <sub>35</sub> , O <sub>39</sub> , O <sub>43</sub> , O <sub>47</sub>
G <sub>4</sub>	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub> , O <sub>8</sub> , O <sub>12</sub> , O <sub>16</sub> , O <sub>20</sub> , O <sub>24</sub> , O <sub>28</sub> , O <sub>32</sub> , O <sub>36</sub> , O <sub>40</sub> , O <sub>44</sub> , O <sub>48</sub>

Fuente: Elaboración propia

**Dónde:**

**G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>:** Grupos de ratones Balb/c/CNPB 2 y 3 meses de edad con un peso de 30 g – 40 g (cada grupo consta de 3 ratones).

**X<sub>1</sub>:** Se administró agua destilada 10 ml/kg (Grupo control).



**X<sub>2</sub>:** Se administró extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) 10 mg/kg de peso corporal.

**X<sub>3</sub>:** Se administró extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) 100 mg/kg de peso corporal.

**X<sub>4</sub>:** Se administró extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) 1000 mg/kg de peso corporal.

**O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, O<sub>4</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 5 minutos.

**O<sub>5</sub>, O<sub>6</sub>, O<sub>7</sub>, O<sub>8</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 10 minutos.

**O<sub>9</sub>, O<sub>10</sub>, O<sub>11</sub>, O<sub>12</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 15 minutos.

**O<sub>13</sub>, O<sub>14</sub>, O<sub>15</sub>, O<sub>16</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 30 minutos.

**O<sub>17</sub>, O<sub>18</sub>, O<sub>19</sub>, O<sub>20</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 60 minutos.

**O<sub>21</sub>, O<sub>22</sub>, O<sub>23</sub>, O<sub>24</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a las 2 horas.

**O<sub>25</sub>, O<sub>26</sub>, O<sub>27</sub>, O<sub>28</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a las 6 horas.

**O<sub>29</sub>, O<sub>30</sub>, O<sub>31</sub>, O<sub>32</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a las 24 horas.

**O<sub>33</sub>, O<sub>34</sub>, O<sub>35</sub>, O<sub>36</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 2 días.

**O<sub>37</sub>, O<sub>38</sub>, O<sub>39</sub>, O<sub>40</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 4 días.

**O<sub>41</sub>, O<sub>42</sub>, O<sub>43</sub>, O<sub>44</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 7 días.

**O<sub>45</sub>, O<sub>46</sub>, O<sub>47</sub>, O<sub>48</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 14 días.

**FASE II:** Los grupos de la segunda fase estuvieron formados por un único animal de experimentación para cada dosificación correspondiente. Las dosis,

se determinaron con ayuda del ANEXO N°16 y estuvieron en función de los resultados de la fase I.

**TABLA N°4: FASE II - DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA DEL EXTRACTO DE LA ESPECIE VEGETAL EN ESTUDIO POR EL MÉTODO DE LORKE.**

GRUPO	TRATAMIENTO	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G <sub>1</sub>	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub> , O <sub>5</sub> , O <sub>9</sub> , O <sub>13</sub> , O <sub>17</sub> , O <sub>21</sub> , O <sub>25</sub> , O <sub>29</sub> , O <sub>33</sub> , O <sub>37</sub> , O <sub>41</sub> , O <sub>45</sub>
G <sub>2</sub>	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub> , O <sub>6</sub> , O <sub>10</sub> , O <sub>14</sub> , O <sub>18</sub> , O <sub>22</sub> , O <sub>26</sub> , O <sub>30</sub> , O <sub>34</sub> , O <sub>38</sub> , O <sub>42</sub> , O <sub>46</sub>
G <sub>3</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub> , O <sub>7</sub> , O <sub>11</sub> , O <sub>15</sub> , O <sub>19</sub> , O <sub>23</sub> , O <sub>27</sub> , O <sub>31</sub> , O <sub>35</sub> , O <sub>39</sub> , O <sub>43</sub> , O <sub>47</sub>
G <sub>4</sub>	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub> , O <sub>8</sub> , O <sub>12</sub> , O <sub>16</sub> , O <sub>20</sub> , O <sub>24</sub> , O <sub>28</sub> , O <sub>32</sub> , O <sub>36</sub> , O <sub>40</sub> , O <sub>44</sub> , O <sub>48</sub>

Fuente: Elaboración propia

Donde:

**G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>:** Grupos formados por 1 ratón Cepa Balb/c/CNPB con 2 a 3 meses de edad y un peso de 30 g – 40 g.

**X<sub>1</sub>:** Solución que fue usada como blanco: Agua destilada 10 ml/kg (Grupo control).

**X<sub>2</sub>:** Se administró 1600 mg/kg del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).

**X<sub>3</sub>:** Se administró 2900 mg/kg del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).

**X<sub>4</sub>:** Se administró 5000 mg/kg del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).

**O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, O<sub>4</sub>:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 5 minutos.

**O<sub>5</sub>, O<sub>6</sub>, O<sub>7</sub>, O<sub>8</sub>:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 10 minutos.

**O<sub>9</sub>, O<sub>10</sub>, O<sub>11</sub>, O<sub>12</sub>:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 15 minutos.

**O<sub>13</sub>, O<sub>14</sub>, O<sub>15</sub>, O<sub>16</sub>:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 30 minutos.

**O<sub>17</sub>, O<sub>18</sub>, O<sub>19</sub>, O<sub>20</sub>:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 60 minutos.

**O<sub>21</sub>, O<sub>22</sub>, O<sub>23</sub>, O<sub>24</sub>:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a la hora.

**O<sub>25</sub>, O<sub>26</sub>, O<sub>27</sub>, O<sub>28</sub>:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 2 horas.

**O<sub>29</sub>, O<sub>30</sub>, O<sub>31</sub>, O<sub>32</sub>:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 6 horas.

**O<sub>33</sub>, O<sub>34</sub>, O<sub>35</sub>, O<sub>36</sub>:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 24 horas.

**O<sub>37</sub>, O<sub>38</sub>, O<sub>39</sub>, O<sub>40</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 2 días.

**O<sub>41</sub>, O<sub>42</sub>, O<sub>43</sub>, O<sub>44</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 4 días.

**O<sub>45</sub>, O<sub>46</sub>, O<sub>47</sub>, O<sub>48</sub>:** Se observó la presencia de efecto tóxico agudo o muerte a los 7 días.

### **3.2.3 VARIABLES:**

**TABLA N°5: OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES IMPLICADAS EN EL ESTUDIO FITOQUÍMICO CUALITATIVO**

VARIABLE	DEFINICIÓN						
	SUB-VARIABLE	INDICADOR	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Estudio fitoquímico del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> L. (Ch'eqche).	Ensayo cualitativo de coloración y/o precipitación	Intensidad de formación de precipitado o desarrollo de coloración.	Cualitativo	Directa	Ordinal	<b>1. AZÚCARES REDUCTORES: PRUEBA DE BENEDICT</b> A 0,5 ml de solución de extracto agregar 0,2 ml del reactivo de Benedict, calentar en baño a ebullición por 5 minutos y dejar enfriar.	+ +: Abundante cantidad. + -: Moderada cantidad --: Ausencia.
						<b>2. GLICÓSIDOS</b> A 200 mg de extracto se agrega 2 ml de HCL al 1%, calentar por 5 minutos, enfriar y neutralizar con NaOH al 1%, luego tratar con carbón activado y filtrar, con porciones de 0,5 ml de la solución, realizar la prueba de Benedict	
						<b>3. AMINOÁCIDOS: PRUEBA DE NINHIDRINA</b> A 0,5 ml de extracto acidificarlo con HCL al 1%, agregar 2 a 3 gotas de la solución de ninhidrina al 1% calentar por 5 minutos en baño de agua a ebullición	
						<b>4. DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDEOS</b> <b>a. REACCIÓN DE SHINODA</b> A 0,5 ml de extracto agregar algunas limaduras de magnesio metálico más 2 a 3 gotas de HCL concentrado, indican prueba positiva coloraciones. <b>b. PRUEBA DE AMONIACO</b> A una pequeña porción de papel filtro dejar caer de 1 a 2 gotas de extracto, observar el color y la fluorescencia a la luz UV.	
						<b>5. COMPUESTOS FENÓLICOS</b> A 0,5 ml de extracto agregar 1 a 2 gotas de cloruro férrico al 1% en solución acuosa.	

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Continúa...

VARIABLE	DEFINICIÓN						
	SUB-VARIABLE	INDICADOR	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Estudio fitoquímico del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).	Ensayo cualitativo de coloración y/o precipitación	Intensidad de formación de precipitado o desarrollo de coloración.	Cualitativo	Directa	Ordinal	<p><b>6. QUINONAS</b> A 0,2 ml de extracto agregar 0,4 ml de ácido sulfúrico concentrado.</p> <p><b>7. ALCALOIDES</b> Solubilizar 0,5 g de extracto con HCL al 5%, filtrar. <b>REACCIÓN DE DRAGENDORFF</b> A 0,5 ml de la solución ácida agregar 2 a 3 gotas del reactivo de Dragendorff.</p> <p><b>8. TANINOS</b> A 0,5 ml de extracto adicionar 2 a 3 gotas de cloruro férrico al 1%.</p> <p><b>9. SAPONINAS: PRUEBA DE ESPUMA</b> Aproximadamente 0,1 g del extracto se solubiliza en 5 ml de agua o en 5 ml de etanol al 40%, filtrar si es necesario, el filtrado agitar vigorosamente por 30 segundos.</p> <p><b>10. RESINAS</b> A 0,2 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas del reactivo acetato de cobre.</p> <p><b>11. LACTONAS</b> A 2 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas del reactivo de Baljet</p> <p><b>12. CUMARINAS</b> <b>a. PRUEBA DE HIDRÓXIDO DE SODIO</b> A 0,2 g de extracto añadir 2 ml de agua destilada, cubrir el tubo con papel filtro humedecido con hidróxido de sodio al 10%, mantener en baño de agua hasta ebullición por varios minutos. Luego exponer el papel a la luz UV. <b>b. PRUEBA DE BALJET</b> A 0,5 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de reactivo de Baljet</p>	<p>+ +: Abundante cantidad.</p> <p>+ -: Moderada cantidad</p> <p>- -: Ausencia.</p>

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 3.2.3.1 VARIABLES IMPLICADAS EN EL ESTUDIO FITOQUÍMICO CUALITATIVO

#### ➤ ESTUDIO FITOQUÍMICO.

##### DEFINICIÓN CONCEPTUAL:

Métodos y técnicas aplicadas; tales como series de extracción, de separación, purificación, ensayos de coloración, precipitación y determinación estructural; para determinar los diferentes constituyentes químicos presentes en la especie vegetal a estudiar (63).

#### ➤ SUB – VARIABLES:

##### ENSAYOS CUALITATIVOS DE COLORACIÓN, PRECIPITACIÓN:

##### DEFINICIÓN CONCEPTUAL:

Procedimientos realizados para medir de manera cualitativa la concentración o cualquier otra propiedad de los diferentes constituyentes fitoquímicos de una especie en estudio mediante reacciones químicas que forman un producto insoluble y/o coloreado (63).

##### DEFINICIÓN OPERACIONAL:

1. INDICADOR: INTENSIDAD DE FORMACIÓN DE PRECIPITADO O DESARROLLO DE COLORACIÓN.

##### DEFINICIÓN OPERACIONAL:

- NATURALEZA : Cualitativo
- FORMA DE MEDICIÓN : Directa
- ESCALA : Ordinal
- PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN:

*AZÚCARES REDUCTORES – PRUEBA DE BENEDICT:* A 0,5 ml de solución de extracto agregar 0,2 ml del reactivo de Benedict, calentar en baño a ebullición por 5 minutos y dejar enfriar.

**GLICÓSIDOS:** A 200 mg de extracto se le agrega 2 ml de HCL al 1%, calentar por 5 minutos, enfriar y neutralizar con NaOH al 1%, luego tratar con carbón activado y filtrar, con porciones de 0,5 ml de la solución, realizar la prueba de Benedict.

**AMINOÁCIDOS – PRUEBA DE NINHIDRINA:** A 0,5 ml de extracto acidificarlo con HCL al 1%, agregar 2 a 3 gotas de la solución de ninhidrina al 1% calentar por 5 minutos en baño de agua a ebullición

**DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES:**

a. Reacción de Shinoda

A 0,5 ml de extracto, agregar algunas limaduras de magnesio metálico más 2 a 3 gotas de HCL concentrado, indican prueba positiva coloraciones.

b. Prueba de amoníaco

A una pequeña porción de papel filtro dejar caer de 1 a 2 gotas de extracto, observar el color y la fluorescencia a la luz UV.

**COMPUESTOS FENÓLICOS:** A 0,5 ml de extracto agregar 1 a 2 gotas de cloruro férrico al 1% en solución acuosa.

**QUINONAS:** A 0,2 ml de extracto agregar 0,4 ml de ácido sulfúrico ©.

**ALCALOIDES:** Solubilizar 0,5 g de extracto con HCL al 5%, filtrar.

**REACCIÓN DE DRAGENDORFF:** A 0,5 ml de la solución ácida agregar 2 a 3 gotas del reactivo de Dragendorff.

**TANINOS:** A 0,5 ml de extracto adicionar 2 a 3 gotas de cloruro férrico al 1%.

**SAPONINAS – PRUEBA DE ESPUMA:** Aproximadamente 0,1 g del extracto se solubiliza en 5 ml de agua o en 5 ml de etanol al 40%, filtrar si es necesario, el filtrado agitar vigorosamente por 30 segundos.

**RESINA:** A 0,2 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas del reactivo acetato de cobre.

**LACTONAS:** A 2ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de reactivo de Baljet

**CUMARINAS:**

a. Prueba de hidróxido de sodio

A 0,2 g de extracto añadir 2 ml de agua destilada, cubrir el tubo con papel filtro humedecido con hidróxido de sodio al 10%, mantener en baño de agua hasta ebullición por varios minutos. Luego exponer el papel a la luz UV.

b. Prueba de Baljet: A 0,5 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de reactivo de Baljet

▪ **UNIDAD DE MEDIDA:**

Abundante cantidad (+ +), moderada cantidad (+ -), ausencia (- -).



**TABLA N°6: OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES IMPLICADAS EN LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE**

VARIABLES INDEPENDIENTES	DEFINICIÓN						
	INDICADORES	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	Dosis del extracto acuoso al 100%	Cuantitativo	Directa	Razón	Balanza	Se calcula la cantidad de extracto según el peso de cada uno de los animales de experimentación y luego se procede a pesar la cantidad calculada en una balanza analítica para posteriormente formar una solución adecuada para la administración por vía I.P.	mg/kg de peso del ratón

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

Continúa...

VARIABLES DEPENDIENTES	DEFINICIÓN						
	INDICADORES	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Actividad Anticonvulsivante del Extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).	Período de latencia	Cuantitativo	Directa	Razón	Cronómetro	Tiempo que transcurrió desde que se administró el Pentilentetrazol hasta que se presentó la primera convulsión.	Segundos
	Número de convulsiones tipo clónicas	Cuantitativo	Directa	Razón	Cronómetro	Número de convulsiones clónicas que duran por lo menos 3 segundos después de la administración de Pentilentetrazol.	Nro. de convulsiones/30 minutos
	Tiempo de duración de las convulsiones clónicas	Cuantitativo	Directa	Razón	Cronómetro	Se midió la duración de las convulsiones clónicas en segundos.	Segundos
	Mortalidad	Cuantitativo	Directa	Razón	Cronómetro y observación	Transcurridos los 30 minutos después de la administración de Pentilentetrazol se procedió al conteo de ratones muertos y sobrevivientes por cada grupo	Muere y/o sobrevive

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 3.2.3.2 VARIABLES IMPLICADAS EN LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE

#### A. VARIABLES INDEPENDIENTES

- **EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).**

##### **DEFINICIÓN CONCEPTUAL:**

Preparados concentrados de los constituyentes activos de las drogas crudas, obtenidas mediante extracción. La cantidad total se expresa con relación a alguna característica del sujeto, por ejemplo en función del peso corporal (63).

##### **DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

**INDICADOR:** DOSIS DE EXTRACTO ACUOSO AL 100%.

##### **DEFINICIÓN CONCEPTUAL:**

Es la cantidad de extracto disuelto en solución fisiológica o agua destilada administrado por vía intraperitoneal, dosificado por kilogramo de peso corporal del animal de experimentación (67). Con el fin de producir el efecto anticonvulsivante.

##### **DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cuantitativo
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa
- **ESCALA** : Razón
- **INSTRUMENTO DE MEDICIÓN** : Balanza
- **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN:** Se calcula la cantidad de extracto según el peso de cada uno de los animales de experimentación y luego se procede a pesar la cantidad calculada en una balanza analítica para posteriormente formar una solución adecuada para la administración por vía I.P.
- **UNIDAD DE MEDIDA:** mg/kg de peso de ratón.

## **B. VARIABLE DEPENDIENTE**

### **➤ ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE**

#### **DEFINICIÓN CONCEPTUAL:**

El bloqueo o supresión de los episodios convulsivos en sus diferentes formas impidiendo su aparición indica una actividad anticonvulsivante.

#### **DEFINICIÓN OPERACIONAL**

##### **1. INDICADOR: PERÍODO DE LATENCIA.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Es el tiempo desde la aplicación del fármaco hasta la aparición del primer efecto farmacológico **(78)**.

#### **DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cuantitativo
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa
- **ESCALA** : Razón
- **INSTRUMENTO DE MEDICIÓN** : Cronómetro
- **UNIDAD DE MEDIDA** : Minutos
- **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN** : Tiempo que transcurrió desde la administración del Pentilentetrazol hasta que se presentó la primera convulsión clónica.

##### **2. INDICADOR: NÚMERO DE CONVULSIONES TIPO CLÓNICAS.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Estas se definen como episodios de espasmos mioclónicos repetitivos que duran por lo menos 3 segundos **(79)**.

#### **DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cuantitativo
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa
- **ESCALA** : Razón
- **INSTRUMENTO DE MEDICIÓN** : Cronómetro.

▪ **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN** : Número de convulsiones clónicas que duran por lo menos 3 segundos después de la administración de Pentilentetrazol y durante 30 minutos.

▪ **UNIDAD DE MEDIDA:** Nro. de Convulsiones/30 minutos.

**3. INDICADOR: TIEMPO DE DURACIÓN DE LAS CONVULSIONES CLÓNICAS.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Una disminución de la duración de las convulsiones clónicas indica un efecto anticonvulsivante (79).

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

▪ **NATURALEZA** : Cuantitativo

▪ **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa

▪ **ESCALA** : Razón

▪ **INSTRUMENTO DE MEDICIÓN** : Cronómetro

▪ **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN** : Se midió la duración de las convulsiones clónicas en segundos.

▪ **UNIDAD DE MEDIDA:** Segundos

**4. INDICADOR: MORTALIDAD.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Número proporcional de defunciones en población o tiempo determinado (57).

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

▪ **NATURALEZA** : Cuantitativo

▪ **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa

▪ **ESCALA** : Razón

▪ **INSTRUMENTO DE MEDICIÓN** : Cronómetro y observación

▪ **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN:** Transcurridos los 30 minutos después de la administración de Pentilentetrazol se procedió al conteo de ratones muertos y sobrevivientes por cada grupo

▪ **UNIDAD DE MEDIDA:** Muere y/o sobrevive.

**TABLA N°7: OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES IMPLICADAS EN LA TOXICIDAD AGUDA**

VARIABLES INDEPENDIENTES	DEFINICIÓN						
	INDICADORES	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	Dosis del Extracto acuoso al 100%	Cuantitativo	Directa	Razón	Balanza	Se preparó el extracto a las distintas concentraciones requeridas en mg/kg, una vez obtenidos estos, se hizo un cálculo de dosis, el cual se obtuvo pesando al animal de experimentación y se procedió a la administración.	mg/kg de peso del ratón

VARIABLES DEPENDIENTES	DEFINICIÓN						
	INDICADORES	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Toxicidad aguda del Extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	Número de ratones muertos por el método de Lorke	Cuantitativo	Directa	Ordinal	Observación del número de muertes	Se procedió a administrar a cada grupo la concentración correspondiente de extracto por vía oral y se observó la pérdida de signos vitales de los animales desde los 5 minutos hasta los 14 días.	Dosis del extracto que ocasiona la muerte del 50% de ratones.

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

Continúa...

VARIABLES DEPENDIENTES	DEFINICIÓN						
	INDICADORES	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Toxicidad aguda del Extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche).	Signos de Neurotoxicidad	Cualitativa	Directa	Nominal	Cronómetro y observación	Después de la administración se realizó observaciones evaluando presencia de signo de neurotoxicidad por lo menos una vez cada 30 minutos durante las primeras 4 luego a las 12 h y finalmente a las 24 h.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presencia.</li> <li>• Ausencia.</li> </ul>

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 3.2.3.3 VARIABLES IMPLICADAS EN LA TOXICIDAD AGUDA

#### A. VARIABLES INDEPENDIENTES

- **EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche).**

##### **DEFINICIÓN CONCEPTUAL:**

Preparados concentrados de los constituyentes activos de las drogas crudas, obtenidas mediante extracción. La cantidad total se expresa con relación a alguna característica del sujeto, por ejemplo en función del peso corporal (63).

##### **DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

**INDICADOR: DOSIS DE EXTRACTO ACUOSO AL 100%.**

##### **DEFINICIÓN CONCEPTUAL:**

Es la cantidad de extracto disuelto en solución fisiológica o agua destilada administrado por vía oral, dosificado por kilogramo de peso corporal del animal de experimentación (67).

##### **DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cuantitativo
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa
- **ESCALA** : Razón
- **INSTRUMENTO DE MEDICIÓN** : Balanza
- **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN:** Se preparó el extracto a las distintas concentraciones requeridas en mg/kg, una vez obtenidos estos, se hizo el cálculo de dosis, el cual se obtuvo pesando al animal de experimentación y se procedió a la administración.
- **UNIDAD DE MEDIDA:** mg/kg de peso del ratón.



## B. VARIABLE DEPENDIENTE

### ➤ TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ACUOSO

#### **DEFINICIÓN CONCEPTUAL:**

Es la capacidad de una sustancia para producir efectos adversos tras una sola dosis que se manifiesta en segundos, minutos, horas o días después de su administración por vía oral. La toxicidad aguda se manifiesta con la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) es decir dosis de la sustancia que produce la muerte en un 50% de la población (53).

#### **1. INDICADOR: NÚMERO DE RATONES MUERTOS POR EL MÉTODO DE LORKE**

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:** La ( $DL_{50}$ ) se determina calculando la media geométrica de la dosis para las cuales se encuentre 0/0 y 1/1 muertes de manera subsecuente en la segunda fase de la prueba.

- **NATURALEZA** : Cuantitativo
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa
- **ESCALA** : Ordinal
- **INSTRUMENTO DE MEDICIÓN:** Observación del número de muertes.
- **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN:** Se procedió a administrar a cada grupo la concentración correspondiente de extracto por vía oral y se observó la pérdida de signos vitales de los animales desde los 5 minutos hasta los 14 días.
- **UNIDAD DE MEDIDA:** Dosis del extracto que ocasiona la muerte del 50% de ratones

#### **2. INDICADOR: SIGNOS DE NEUROTOTOXICIDAD**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Conjunto de efectos secundarios de un tratamiento sobre el sistema nervioso central (68).

#### **DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cualitativo

- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa
- **ESCALA** : Nominal
- **INSTRUMENTO DE MEDICIÓN** : Cronómetro y observación
- **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN:** Después de la administración se realizó observaciones evaluando presencia de signo de neurotoxicidad por lo menos una vez cada 30 minutos durante las primeras 4 luego a las 12 h, 24 h y finalmente a las 48 h.
- **UNIDAD DE MEDIDA:** Presencia o Ausencia.

**TABLA N°8: OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES IMPLICADAS EN LA EVALUACIÓN DEL PERFIL NEUROLÓGICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche)**

VARIABLES INDEPENDIENTES	DEFINICIÓN						
	INDICADORES	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	Dosis del Extracto acuoso al 100%	Cuantitativo	Directa	Razón	Balanza	Se preparó el extracto a las distintas concentraciones requeridas en mg/kg, una vez obtenidos estos, se hizo un cálculo de dosis, el cual se obtuvo pesando al animal de experimentación y se procedió a la administración.	mg/kg de peso del ratón

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

Continuara...

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN						
	INDICADORES	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Evaluación del perfil neurológico del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> L. (Ch'eqche)	Estado de vigilancia	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.
	Comportamiento	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.
	Excitación del SNC	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.
	Depresión del SNC	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.
	Signos autonómicos	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.
	Efecto oculares	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.
	Tono muscular	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.
	Reflejos	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.
	Observaciones dérmicas	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.
	Muerte	Cualitativo	Directa	Ordinal	Cronometro y observación	Evaluación test de Irwin.	+ : Presencia y/o leve incremento N : Normal - : Ausencia y/o leve disminución.

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

**TABLA N°9: OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES INTERVINIENTES**

VARIABLES NO IMPLICADAS	VARIABLES		INDICADORES
	INTERVINIENTE	De la planta en estudio	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Partes a recoger y estadio de crecimiento (tallos, hojas y flores al inicio de la floración).</li> <li>• Altura de recolección (3100 msnm).</li> <li>• Secado del material vegetal (ambiente ventilado sin luz solar).</li> </ul>
		De los animales de experimentación	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Edad (2 – 3 meses).</li> <li>• Sexo (hembras).</li> <li>• Peso (30 g – 40 g).</li> </ul>
		Del extracto	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tipo de extracción (decocción).</li> <li>• Solvente utilizado (agua estéril para inyección).</li> <li>• Evaporación del solvente (rotavapor).</li> <li>• Prueba de solubilidad.</li> </ul>
De la administración de los extractos		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vía de administración (actividad anticonvulsivante v.i.p, toxicidad aguda V.O).</li> <li>• Vehículo (agua estéril para inyección).</li> </ul>	

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

**TABLA N°10: OPERACIONALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD**

VARIABLE INTERVINIENTE : DEL EXTRACTO				
INDICADOR: PRUEBA DE SOLUBILIDAD				
DEFINICIÓN				
NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Cualitativo	Directa	Ordinal	Se colocó pequeñas cantidades del extracto en estudio en diferentes tubos de ensayo, seguidamente a cada tubo se le añadió el solvente correspondiente de entre 5 a 10 gotas, se agito y homogeneizó.	++: Abundante cantidad. + -: Moderada cantidad --: Ausencia.

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA**

### 3.2.3.4 VARIABLES NO IMPLICADAS

#### A. VARIABLES INTERVINIENTES

Por ser un estudio cuasi-experimental se consideró dentro de las variables intervinientes las variables de la planta y de los animales de experimentación (ratones); para ubicar las unidades experimentales en su respectivo grupo tratando de hacerlos lo más homogéneo posible.

##### • DE LA PLANTA EN ESTUDIO

Se tomó en cuenta:

##### **Partes a recoger y estadio de crecimiento:**

Se recolectaron las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) que incluyen tallos, hojas y flores al inicio de la floración.

##### **Altitud de recolección:**

Se recolectó a 3100 msnm (Distrito de Oropesa).

##### **Secado del material vegetal:**

Las hojas, tallos y flores de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche), se secaron en un ambiente ventilado y aislado de la luz solar.

##### • DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se tomó en cuenta:

##### **Edad:**

Variable del sujeto cuya definición es el tiempo transcurrido desde el nacimiento de la unidad experimental hasta el momento de la experimentación, se seleccionó a los animales con 2 - 3 meses.

##### **Sexo:**

Variable del sujeto de escala nominal en hembras y machos, se utilizaron animales hembras:

**Peso:**

Variable del sujeto que se define como la masa que presenta cada unidad experimental. Se utilizaron animales con un rango de entre 30 - 40 g.

**• DEL EXTRACTO**

Se consideró:

**Tipo de extracción:**

Se obtuvo por el proceso de decocción.

**Solvente utilizado:**

Agua estéril para inyección.

**Evaporación del solvente:**

El extracto obtenido de la decocción se evaporó a sequedad con ayuda del rotavapor a una presión reducida de 95 mm de Hg.

**Prueba de solubilidad:**

El extracto obtenido fue evaluado frente a diferentes solventes en orden creciente de polaridad, con la finalidad de conocer su naturaleza.

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:**

La solubilidad es una medida de la capacidad de una determinada sustancia para disolverse en otra (36).

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cualitativo
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa
- **ESCALA** : Ordinal
- **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN:** Se colocó pequeñas cantidades del extracto en estudio en diferentes tubos de ensayo, seguidamente a cada tubo se le añadió el solvente correspondiente de entre 5 a 10 gotas, se agitó y homogeneizó.
- **UNIDAD DE MEDIDA:**  
Abundante cantidad (+ +), moderada cantidad (+ -), ausencia (- -).

- **DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS:**

Se tomó en cuenta:

**Vía de administración:**

El extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) se administró por vía intraperitoneal (actividad anticonvulsivante) y vía oral (toxicidad aguda).

**Vehículo:**

Se empleó como vehículo agua estéril para inyección libre de pirógenos.

### **3.2.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN (INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN)**

- **DEL MATERIAL VEGETAL**

**SE INCLUYEN:**

Se recolecto todas aquellas plantas integras que incluyeron hojas, tallos y flores de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) que no estuvieron marchitas, libres de pesticidas, hongos y partículas de polvo.

**SE EXCLUYEN:**

Muestras vegetales que estaban en mal estado, dañadas, secas o que sufrieron ataque de bacterias, hongos, plagas, etc.

- **DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

**SE INCLUYEN:**

Ratones albinos CEPA CEPA Balb/c/CNPB de 2 - 3 meses de edad, con un peso de 30 – 40 g.

**SE EXCLUYEN:**

Ratones albinos que posean alguna enfermedad, que sobrepase el peso promedio o con bajo peso



### **3.3 PROCEDIMIENTOS:**

#### **3.3.1. MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL**

- **RECOLECCIÓN: LUGAR DE RECOLECCIÓN**

La zona de recolección fue el distrito de Oropesa a una altitud de 3110 m.s.n.m, provincia de Quispicanchis, departamento del Cusco. La muestra vegetal fue recolectada a comienzos de la floración de la planta, durante las primeras horas de la mañana.

- **SELECCIÓN**

El material colectado de esta especie fue cuidadosamente seleccionado, tomando en cuenta que las ramas y hojas estén completamente enteras y libres de partículas de polvo, manchas, insectos y hongos.

- **DESECACIÓN**

Se secó al interior de un cobertizo en mallas, en un área ventilada y sombreada, a temperatura ambiente (20°C promedio) hasta obtener una muestra seca.

- **TROZADO**

Se realizó con el fin de transformar el material vegetal en trozos más pequeños de aproximadamente 3 mm. Esto con el fin de que la muestra tenga el mayor contacto con el solvente en el proceso de decocción.

#### **3.3.2. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA**

La identificación taxonómica de la planta se realizó en el herbario VARGAS de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSAAC. Ver **ANEXO N°1**.

#### **3.3.3. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD**

Para determinar el porcentaje de humedad se utilizó el método gravimétrico, determinando la pérdida de agua por desecación en una estufa. La determinación del porcentaje de humedad se realizó por triplicado, en placas petri con 10 g de muestra fresca de las partes aéreas, trozados en piezas pequeñas, los cuales fueron introducidos a la estufa a

una temperatura de 80°C, hasta que se obtuvo el peso constante de la muestra, luego se procedió a determinar el porcentaje de humedad mediante la siguiente relación.

$$H = \frac{P_{MF} - P_{MS}}{P_{MF}} \times 100$$

Donde:

H : Porcentaje de humedad.

P<sub>MF</sub> : Peso de muestra fresca.

P<sub>MS</sub> : Peso de muestra seca.

#### **3.3.4. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) Y ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO.**

Para la obtención del extracto acuoso se utilizó 50 g de muestra seca y trozada por cada 500 ml de agua destilada, se procedió a la decocción para lo cual se mantuvo en ebullición durante 7 minutos, luego se separó del fuego y se dejó enfriar durante 10 minutos, seguidamente se filtró en algodón. El solvente obtenido de la decocción se evaporó con ayuda del rotavapor a una temperatura de 40°C, 130 rpm y a una presión de 95 mm de Hg (tener cuidado al bajar la presión desde 125 mm de Hg hasta la indicada, debido a que hay formación de espuma), hasta obtener el extracto acuoso concentrado luego se procedió a colocar al desecador a 40°C durante 24 horas, al cabo de este tiempo se procedió a redissolver en agua destilada hasta saturación, se esperó aproximadamente 16 horas a que sedimente seguidamente, se filtró el sobrenadante en filtro whatman N°2 y se evaporó con ayuda del rotavapor a una temperatura de 40°C, 130 rpm y a una presión de 95 mm de Hg, luego se procedió a colocar al desecador a 40°C durante 48 horas. El extracto obtenido se conservó a una temperatura de 4°C a 8°C en un frasco ámbar herméticamente cerrado.

### 3.3.5. PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN O RENDIMIENTO

Después de seguir el procedimiento de obtención del extracto según punto

3.3.4. Se procedió a calcular el porcentaje de rendimiento de extracción mediante la siguiente relación:

$$\%EES = \frac{P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

**% EES** : Porcentaje de extracción del extracto seco.

**P<sub>f</sub>** : Peso final del extracto seco.

**P<sub>i</sub>** : Peso inicial de la muestra seca trozada.

### 3.3.6. PRUEBA DE SOLUBILIDAD

Para la realización de estas pruebas, se colocaron pequeñas cantidades del extracto en estudio en diferentes tubos de ensayo y luego se les añadió varios solventes de diferente polaridad, ordenados desde el más polar al menos polar, así se determinó la naturaleza disolutiva del extracto.

**TABLA N°11: SOLVENTES PARA PRUEBAS DE SOLUBILIDAD**

SOLVENTE
Agua destilada
Etanol al 40%, 50%, 70% y 90%
Metanol 99,95%
Acetato de etilo 99,94%
Acetona 99,5%
Cloroformo 99,5%
Éter etílico 99,95%
Hexano 92,0%
Tolueno 99,5%

FUENTE: Elaboración propia

### 3.3.7. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

El extracto acuoso que se obtuvo de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) se sometió a pruebas fitoquímicas cualitativas para la identificación de los grupos de metabolitos secundarios, empleándose para tal fin **pruebas de coloración y precipitación.**

**TABLA N°12: PRUEBAS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO**

<b>METABOLITO SECUNDARIO</b>	<b>REACTIVO</b>
Azúcares reductores	Benedict
Glicósidos	Benedict modificado
Aminoácidos	Ninhidrina
Flavonoides	Shinoda, amoniaco
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico
Alcaloides	Dragendorff
Taninos	Cloruro férrico
Saponinas	Prueba de la espuma
Quinonas	Borntrager
Resinas	Acetato de cobre
Lactonas	Baljet
Cumarinas	Baljet, hidróxido de sodio

**FUENTE:** Elaboración propia de acuerdo a textos consultados.

### **3.3.8. EVALUACIÓN DEL PERFIL NEUROLÓGICO – TEST DE IRWIN**

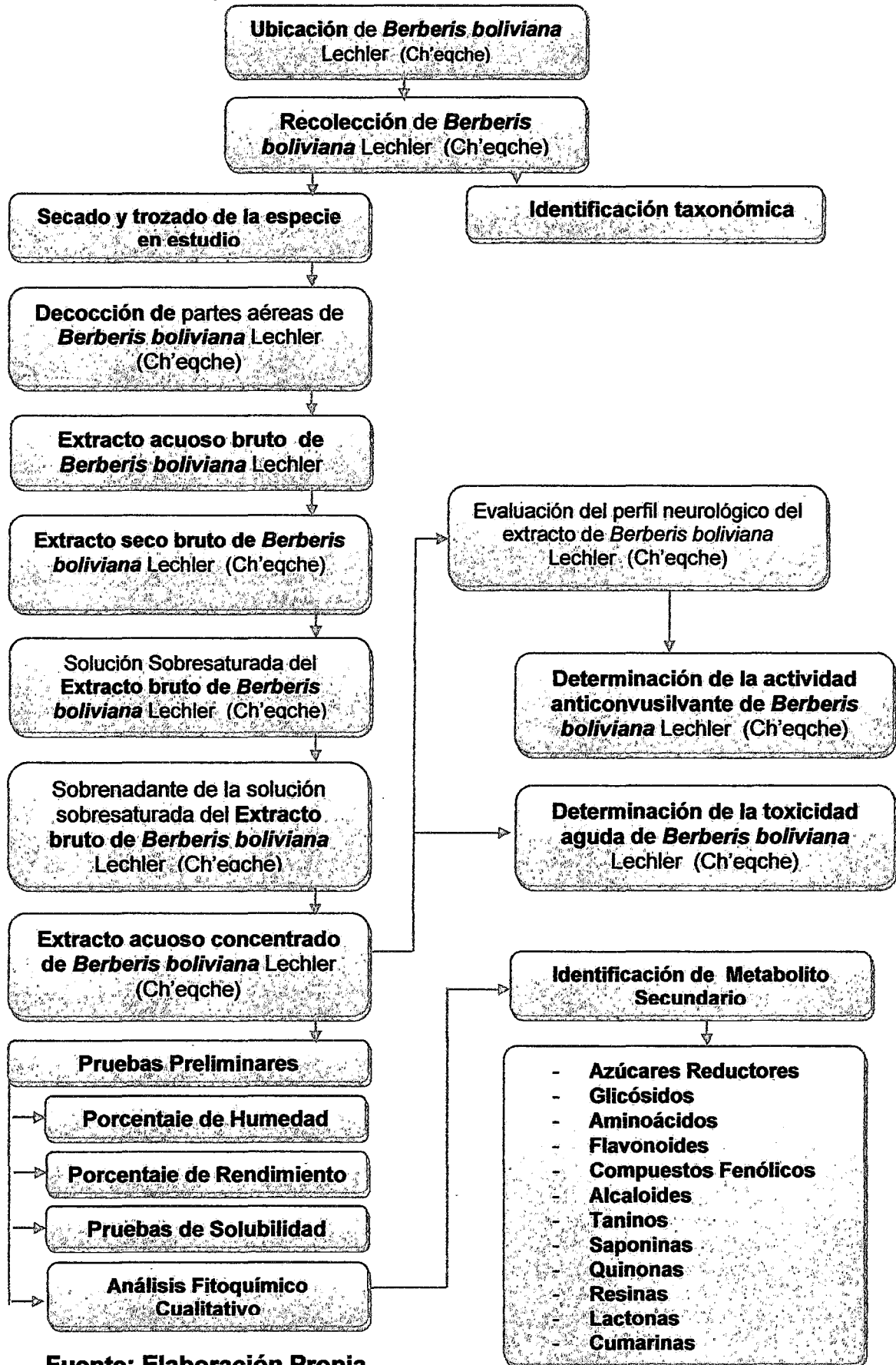
Con el fin de evaluar la actividad del extracto acuoso obtenido de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) en el SNC se desarrolló los ensayos del perfil neurológico incluidos en el test de Irwin.

Se evaluaron 4 dosis (500, 750, 1000 y 1200 mg/kg) administradas por vía i.p. utilizando tres ratones por cada dosis. Se observó el comportamiento de los animales comparados con un control negativo (agua estéril 10 ml/kg v.i.p) cada 5 minutos la primera media hora, luego a los 60 minutos, 2 horas, 6 horas y 24 horas post aplicación.

Los datos que se obtuvieron podrán ayudar a determinar el rango de la dosis para ser probada en otros estudios de seguridad, en nuestro caso los resultados obtenidos nos proporcionaron una orientación inicial sobre la indicación terapéutica, mecanismo de acción y función específica (56).

**ANEXOS N° 10 y ANEXO N°11**

**Figura N°3: Flujograma de investigación del Extracto Acuoso de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche)**



Fuente: Elaboración Propia

### **3.4. ESTUDIO FARMACOLÓGICO**

#### **3.4.1. ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE**

##### **CONVULSIONES INDUCIDAS POR PENTILENTETRAZOL**

Para la evaluación del efecto anticonvulsivante se utilizó el ensayo del ataque por Pentilentetrazol (Cardiazol) debido a su uso frecuente en animales como un modelo de epilepsia generalizada; uniéndose al sitio para picrotoxina en el receptor GABA<sub>A</sub>, produce daño en la actividad del canal de cloro y así bloquea la actividad inhibitoria mediada por el GABA. Las convulsiones clónicas en el ratón son definidas como movimientos rápidos en forma de sacudidas de uno o varios miembros del cuerpo que duran por lo menos 3 segundos (79).

El ataque por Pentilentetrazol se caracteriza por que comienzan con convulsiones mioclónicas intermitentes se generalizan y cambian a convulsiones clónicas al cabo de aproximadamente 3 a 10 minutos, se pierde la postura y tras aproximadamente otros 5 a 10 minutos se alcanza la tercera fase caracterizada por la extensión tónica de todos los miembros, seguida de la muerte.

Los ratones se afectan gradualmente tras la administración de una dosis de 85 mg/kg (61).

#### **PROTOCOLO EXPERIMENTAL (62), ANEXO N° 09**

##### **A. MATERIAL BIOLÓGICO**

Se utilizó 30 ratones hembras de la CEPA Balb/c/CNPB con un peso promedio de 35 g y un tiempo de adaptación de 14 días. Los animales se mantuvieron en grupos de 5 por jaula alimentadas con una dieta balanceada (agua y *ad libitum*) y condiciones ambientales controladas (62).

##### **B. PATRÓN**

Se empleó el diazepam como patrón, debido a su uso como patrón en los protocolos consultados.

Diazepam inyectable 10 mg/2ml. Vía Intraperitoneal 1 mg/kg.

#### **Preparación del patrón:**

Se preparó el patrón para que el volumen a administrar sea de 0,1 ml por cada 10 g de peso corporal.

Se transfirió los 2ml que contienen 10mg de diazepam a una fiola de 100 ml y se diluyó a volumen con agua estéril para inyección, finalmente se mezcló y homogeneizó.

*(Concentración de diazepam 0,1 mg/ml)*

Se administró el patrón en dosis de 1 mg/kg en una solución de 0,1 mg/ml; según la fórmula:

$$\text{ml administrar} = \frac{W \times 1 \text{ mg/kg} \times 1 \text{ mL}}{0,1 \text{ mg}}$$

Donde:

W = peso en kg del ratón.

#### **C. EXTRACTO**

Las soluciones de los extractos fueron preparadas a partir del extracto seco en el mismo día de la experimentación.

Se prepararon las diferentes soluciones del extracto para que el volumen a administrar sea de 0,1 ml por cada 10g de peso corporal.

Extracto acuoso de *Berberis boliviana* L. al 100%  $\left\{ \begin{array}{l} \text{Vía I.P 400 mg/kg} \\ \text{Vía I.P 800 mg/kg} \\ \text{Vía I.P 1200 mg/kg} \end{array} \right.$

#### **Preparación del extracto de *Berberis boliviana* L. 400 mg/kg:**

Se pesó 1 g del extracto y transfirió a una fiola de 25 ml se diluyó a volumen con agua estéril para inyección, finalmente se mezcló y homogeneizó.

*(Concentración del extracto 40 mg/ml)*

Se administró el extracto en dosis de 400 mg/kg en una solución de 40 mg/ml; según la fórmula:

$$\text{ml administrar} = \frac{W \times 400 \text{ mg/kg} \times 1 \text{ mL}}{40 \text{ mg}}$$

Donde:

W = peso en kg del ratón.

**Preparación del extracto de *Berberis boliviana* L. 800 mg/kg:**

Se pesó 2 g del extracto y transfirió a una fiola de 25 ml se diluyó a volumen con agua estéril para inyección, finalmente se mezcló y homogeneizó.

*(Concentración del extracto 80 mg/ml)*

Se administró el extracto en dosis de 800 mg/kg en una solución de 80 mg/ml; según la fórmula:

$$\text{ml administrar} = \frac{W \times 800 \text{ mg/kg} \times 1 \text{ mL}}{80 \text{ mg}}$$

Donde:

W = peso en kg del ratón.

**Preparación del extracto de *Berberis boliviana* L. 1200 mg/kg:**

Se pesó 3 g del extracto y transfirió a una fiola de 25 ml se diluyó a volumen con agua estéril para inyección, finalmente se mezcló y homogeneizó.

*(Concentración del extracto 120 mg/ml)*

Se administró el extracto en dosis de 1200 mg/kg en una solución de 120 mg/ml; según la fórmula:

$$\text{ml administrar} = \frac{W \times 1200 \text{ mg/kg} \times 1 \text{ mL}}{120 \text{ mg}}$$

Donde:

W = peso en kg del ratón.



#### D. DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

El material biológico se distribuyó en 5 grupos de 6 animales cada uno de la siguiente forma.

**TABLA N°13: DISTRIBUCIÓN PARA LOS ESTUDIOS DE ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE**

GRUPO	N° DE ANIMALES	FARMACO/EXTRACTO	DOSIS
CONTROL	06	Agua estéril	0,1 ml/10g
PATRÓN	06	Diazepam	1 mg/kg
GRUPO A	06	Extracto acuoso de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	400 mg/kg
GRUPO B	06	Extracto acuoso de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	800 mg/kg
GRUPO C	06	Extracto acuoso de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	1200 mg/kg

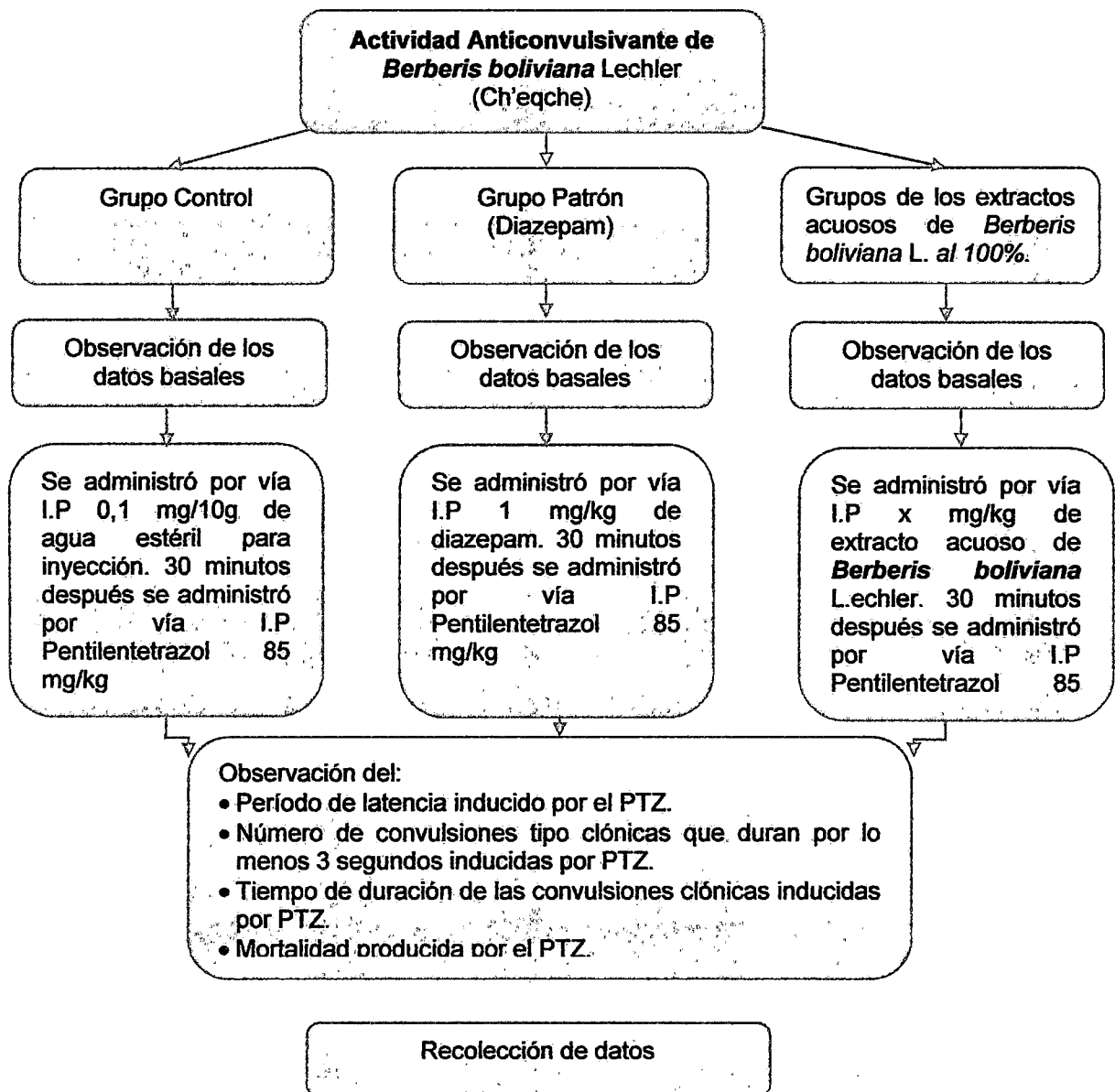
FUENTE: Elaboración propia de acuerdo a textos consultados.

#### E.- PROCEDIMIENTO

- Se utilizó 30 ratones hembras CEPA Balb/c/CNPB con un peso promedio de 35 g se puso en ayuno 6 horas antes del comienzo de los experimentos con acceso libre a una solución nutritiva de sacarosa al 8 % (p/v) en NaCl al 0,2 % (p/v). Durante el ayuno se mantuvo a los ratones en jaulas con piso enrejillado (62).
- Se pesó y distribuyó los ratones.
- Se preparó el extracto en agua estéril para inyección, según las dosis a administrar 400, 800 y 1200 mg/kg
- Se administró la solución preparada 0,1 ml/10 g de peso corporal.
- Después de 30 minutos, tiempo suficiente para la absorción de la droga, se administró la sustancia pro-convulsivante Pentilentetrazol 85 mg/kg por vía intraperitoneal seguidamente se observó y registró.

- El período de latencia para la presencia de las convulsiones clónicas después de la administración del Pentilentetrazol (70) y (79). ANEXO N°12.
- La presencia de episodios de espasmos rápidos en forma de sacudidas de uno o varios miembros del cuerpo que duren por lo menos 3 segundos inducidos por Pentilentetrazol (79). ANEXO N° 13.
- Se registró la duración de los las convulsiones así como la mortalidad de ratones por grupo después de la administración de Pentilentetrazol. ANEXO N° 14 y ANEXO N° 15.

**Figura N°4: Flujograma de evaluación de la actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche)**



Fuente: Elaboración Propia

### **3.4.2. ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA.**

#### **MÉTODO DE LORKE PARA LA DETERMINACIÓN DE DL<sub>50</sub>**

Este método propone la determinación de toxicidad aguda en dos pasos. Está basada en la suposición de que la sustancia química a ser investigada es completamente desconocida, además la investigación se requiere un número mínimo de animales experimentales. Inicialmente es necesario determinar el rango aproximado de toxicidad aguda. Esto se logra administrando dosis diferentes a los animales, por ejemplo en la **FASE I** se administra 10, 100 y 1000 mg/kg por vía oral. Los resultados muestran si una sustancia es muy toxica, toxica, poco o débilmente toxica. Para esta primera fase se utilizó tres animales por cada nivel de dosis. El resultado de esta primera etapa se empleó para determinar las dosis subsecuentes experimentales en la **FASE II (54). ANEXO N°16 y ANEXO N°17.**

Los siguientes postulados son hechos con respecto a los programas de administración subsecuentes:

- La sustancias más toxicas que 1 mg/kg, son altamente toxicas de tal modo que no es importante determinar la DL<sub>50</sub> exactamente.
- Los valores de DL<sub>50</sub> mayores a 5000 mg/kg no son de interés práctico.
- Un valor aproximado de DL<sub>50</sub> es usualmente adecuado para estimar el riesgo de intoxicación aguda.

### **3.4.3. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Para un manejo adecuado de los resultados de la investigación y una correcta recolección de los datos se utilizaron fichas de recolección de datos previamente elaboradas de acuerdo a los ensayos y a los datos a recolectar.

- Para la recolección de datos del porcentaje de humedad (**ANEXO N°5**).
- Para la recolección de datos de la prueba de solubilidad (**ANEXO N°6**).
- Para la recolección de datos de la prueba fitoquímica cualitativa (**ANEXO N°8**).

- Para la recolección de datos de la evaluación del perfil neurológico del extracto acuoso. **(ANEXO N° 10).**
- Para la recolección de datos del período de latencia para la primera convulsión clónica después de la administración del Pentilentetrazol **(ANEXO N° 12).**
- Para la recolección del número de convulsiones tipo clónicas que duran por lo menos 3 segundos después de la administración del Pentilentetrazol **(ANEXO N° 13).**
- Para la recolección del tiempo de duración de las convulsiones clónicas después de la administración de Pentilentetrazol **(ANEXO N° 14).**
- Para la evaluación de la mortalidad después de la administración de Pentilentetrazol **(ANEXO N° 15).**
- Para la recolección de datos en la evaluación de la toxicidad aguda por el método de Lorke **(ANEXO N° 17).**

#### **3.4.4. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS ESTADÍSTICOS**

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía con un nivel de confianza del 95%, con el fin de determinar si existieron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los datos de las poblaciones muestrales de cada grupo de experimentación, seguidamente se realizó la prueba de comparaciones múltiples y subconjuntos homogéneos de Tukey para agrupar y ordenar las medias de los datos de las poblaciones muestrales de cada grupo de experimentación en grupos de medias estadísticamente similares, con el fin de comparar estadísticamente cada una de las medias sustentando de una manera más precisa la interpretación y análisis de resultados. Esta pruebas se realizaron con la ayuda del software SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 20 y hojas de cálculo Excel.

Los datos se expresan como la media ± error estándar medio (E.S.M). Las diferencias con  $p < 0,05$  entre los grupos experimentales con el grupo control fueron considerados estadísticamente significativas. El porcentaje de Variación se determinó mediante la siguiente formula.

$$\% \text{ Variación} = \left[ \frac{(\text{Media}_{\text{Control}} - \text{Media}_{\text{Tto}}) \times 100}{\text{Media}_{\text{Control}}} \right]$$

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1 ENSAYOS PRELIMINARES

**TABLA N°14: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche)**

	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
<b>Peso de muestra fresca (g)</b>	10,091	10,018	10,038
<b>Peso de muestra seca (g)</b>	4,061	3,815	4,028
<b>Porcentaje de humedad (%)</b>	59,76	61,92	59,87
<b>Porcentaje promedio de humedad (%)</b>	60,52		

**FUENTE:** Datos experimentales obtenidos en fichas (ver ANEXO N°5)

#### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:**

El porcentaje de humedad que se obtenido para las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. fue de 60,52%, este valor nos indicó que la humedad presente en la planta era alta, por lo cual fue indispensable realizar el proceso de secado inmediato tras la recolección del material vegetal para evitar reacciones enzimáticas que podrían favorecer la fermentación y desarrollo de microorganismos provocando con ello consecuencias perjudiciales en las características organolépticas, en el contenido de principios activos y en las propiedades terapéuticas (59), (61).

**TABLA N° 15: PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche)**

	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
Peso inicial de la muestra trozada (g)	50,00	50,00	50,00
Peso final del extracto (g)	6,28	6,05	6,56
Porcentaje de extracción del extracto seco (%)	12,56	12,10	13,12
Porcentaje promedio de extracción del extracto seco (%)	12,59		

FUENTE: Datos Experimentales.

#### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

La TABLA N° 15 nos muestra que el porcentaje de rendimiento del proceso de extracción acuosa de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. fue de 12,59%, este dato nos permitió determinar la cantidad de material vegetal que se requiere para obtener la cantidad suficiente de extracto requerido para los diferentes ensayos del trabajo de investigación.

Fatehi et. al., 2005 al realizar el proceso de extracción acuosa obtuvieron 0,522 mg de extracto a partir de 10 g de frutos secos de *Berberis vulgaris* a partir del cual se obtuvo un rendimiento de 5,22 % (6). De lo anterior podemos decir que existe un mayor porcentaje de rendimiento del extracto obtenido a partir de las partes aéreas de *Berberis Boliviana* L. (tallos, hojas y flores al inicio de la floración) en comparación al obtenido por los frutos secos de *Berberis vulgaris*.

**TABLA N°16: PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche)**

SOLVENTE	SOLUBILIDAD T° Ambiente
Cloruro de sodio 0,9%	+ -
Agua destilada	+ +
Etanol al 40%	+ +
Etanol al 50%	+ +
Etanol al 70%	+ +
Etanol al 90%	+ +
Metanol 99,95%	+ -
Acetato de etilo 99,94%	--
Acetona 99,5%	--
Cloroformo 99,5%	--
Éter etílico 99,95%	--
Hexano 92,0%	--
Tolueno 99,5%	--

**FUENTE:** Datos experimentales obtenidos en fichas (ver ANEXO N°6)

**LEYENDA:**

- + + : Totalmente Soluble.
- + - : Parcialmente soluble.
- : Insoluble.

**ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:**

La TABLA N°16 muestra el resultado obtenido de las pruebas de solubilidad, siendo el extracto totalmente soluble en solventes polares (Agua destilada, Etanol al 40%, 50%, 70% y 90%), parcialmente soluble en con cloruro de sodio 0,9% y metanol e insoluble en solventes medianamente polares y apolares (Acetato de Etilo, Acetona, Cloroformo, Éter Etilico, Hexano, Tolueno) esto se debe básicamente a la naturaleza polar del extracto.

Resultados similares presentó el extracto de los frutos de *Berberis boliviana* L., observándose una mayor solubilidad en solventes polares, lo que nos indica la presencia mayoritaria de compuestos de alta polaridad en ambas partes de la especie en estudio (21).

**TABLA N° 17: ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche)**

<b>METABOLITO SECUNDARIO</b>	<b>REACTIVO</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>Azúcares reductores</b>	<i>Benedict</i>	++
<b>Glicósidos</b>	<i>Benedict</i>	+ -
<b>Aminoácidos</b>	<i>Ninhidrina</i>	+ -
<b>Flavonoides</b>	<i>Shinoda</i>	+ -
	<i>Amoníaco</i>	+ -
<b>Compuestos Fenólicos</b>	<i>Cloruro férrico</i>	++
<b>Alcaloides</b>	<i>Dragendorff</i>	++
<b>Taninos</b>	<i>Cloruro férrico</i>	++
<b>Saponinas</b>	<i>Prueba de espuma</i>	+ -
<b>Cumarinas</b>	<i>Hidróxido de Sodio</i>	++
	<i>Bajet</i>	++
<b>Quinonas</b>	<i>Borntrager</i>	++
<b>Resinas</b>	<i>Acetato de cobre 1%</i>	+ -
<b>Lactonas</b>	<i>Bajet</i>	++

**FUENTE:** Datos experimentales obtenidos en fichas (ver ANEXO N° 8)

**Leyenda:**

Abundante cantidad : ++  
 Moderada cantidad : + -  
 Ausencia : - -

**ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:**

Se puede apreciar la presencia abundante de compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, cumarinas, quinonas, lactonas y azúcares reductores mientras que se observa la presencia moderada de glicósidos, aminoácidos, saponinas,



flavonoides y resinas. Podemos deducir por prueba de Shinoda la presencia de flavonas y dihidroflavonas por las coloraciones observadas, las cuales se corroboran con la prueba de Amoniaco donde también podemos observar la presencia de flavonoles, xantonas.

La literatura consultada nos dice que los compuestos fenólicos y flavonoides presentan capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria, analgésica y antimicrobiana (36), también se caracterizaron acciones neurofarmacológicas como analgésicas, efectos sobre la movilidad y el sueño, la modulación del metabolismo oxidativo neuronal y efectos anticonvulsivantes, sedantes y ansiolíticos, los mecanismos que ejercen sobre el sistema nervioso central son complejos e involucran diferentes mecanismos, incluyendo acciones sobre receptores sinápticos y/o canales iónicos (80). Sus derivados engloban un grupo con un amplio rango de acciones farmacológicas; entre ellas: anticoagulante, antioxidante, antiinflamatoria (82), además de posibles efectos farmacológicos sobre el sistema nervioso central de tipo sedante (83), tranquilizante (84), antidepresivo (85) y neuroprotector (86).

Las quinonas proveen una fuente de radicales libres estables y son capaces de inactivar proteínas por formación de complejos irreversibles con los aminoácidos.

Los taninos tienen acción astringente, antimicrobiana, antifúngica, inhibidora enzimática y antídoto de alcaloides y metales pesados (87).

Los alcaloides constituyen un grupo heterogéneo de bases nitrogenadas, entre sus funciones destacan efectos antitrombóticos, antiinflamatorios y vasodilatadores (36) y (87). Además estudios recientes demostraron que la berberina, un alcaloide aislado de la corteza y la raíz de *Berberis vulgaris*, ejerce un efecto ansiolítico en ratones, aunque no exista evidencia experimental que también presente un efecto sedante (88).

En el estudio "Actividad anticonvulsiva del extracto de *Apium graveolens* L. en ratones" realizado por Guerrero et. al., 1997 se puede apreciar en la marcha fitoquímica del extracto etanólico de las partes aéreas, la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, taninos, cumarinas y lactonas terpenicas, el autor manifiesta que el efecto anticonvulsivante se debe

básicamente a la presencia de las lactonas terpenicas como butilftalato y sedanólido (17). Ojala M. 2001, en su estudio "Biological screening of plant coumarins" indica que las cumarinas son uno de los principios activos presentes en especies naturales como *Peucedanum palustre*, *Ruta graveolens*, etc utilizadas por la tradición popular con fines tranquilizantes (81). Según Hanrahan R.J. y col., 2011, indican que, los flavonoides han demostrado actividades ansiolíticas, sedante y anticonvulsivante (92).

De lo anterior podemos decir que la actividad anticonvulsivante en el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) se debe a la presencia de cumarinas, compuestos fenólicos y alcaloides como la berberina, sin descartar la presencia de un posible sinergismo entre los metabolitos.

**TABLA Nº 18: TEST DE IRWIN PARA LA DETERMINACIÓN DEL PERFIL NEUROLÓGICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Cheqche) ADMINISTRADO POR V.I.P.**

T de respuesta (min) Parámetros	SIGNO NORMAL	Dosis del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> L. (Cheqche) al 100%																Control negativo agua estéril 10 ml/kg			
		500 mg/kg				750 mg/kg				1000 mg/kg				1200 mg/kg				20	30	60	120
		20	30	60	120	20	30	60	120	20	30	60	120	20	30	60	120	20	30	60	120
<b>ESTADO DE VIGILIA</b>																					
<i>Estereotipia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>COMPORTAMIENTO</b>																					
<i>Miedo</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	-	-	-	N	-	-	-	N	N	N	N	N
<b>↑ SNC</b>																					
<i>Convulsiones</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Temblores</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cola de Straub</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Excitación</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saltos</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Contracciones de cabeza</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tasa de respiración</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	-	-	N	-	-	-	N	N	N	N	N
<b>↓ SNC</b>																					
<i>Sedación</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Pérdida del equilibrio</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Incoordinación motora</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Acinesia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Catalepsia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tasa de respiración</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	-	-	N	-	-	-	N	-	-	-	-
<i>Analgesia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Marcha anormal</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
<b>SIGNOS AUTONÓMICOS</b>																					
<i>Retorcimientos</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Piloerección</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Datos experimentales obtenidos en fichas (ver ANEXO Nº 10). Test de Irwin modificado de Roux et al., 2003.

Continúa...

... siguiente

T. de respuesta (min) Parámetros	SIGNO NORMAL	Dosis del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> L. (Cheqche) al 100%																Control negativo agua estéril 10 ml/kg			
		500 mg/kg				750 mg/kg				1000 mg/kg				1200 mg/kg				20	30	60	120
		20	30	60	120	20	30	60	120	20	30	60	120	20	30	60	120	20	30	60	120
Salivación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Defecación	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Tasa de respiración	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	-	-	N	-	-	-	N	N	N	N	N
<b>EFFECTOS OCULARES</b>																					
Ptosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Exoftalmos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pérdida del reflejo corneal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lagrimo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>TONO MUSCULAR</b>																					
Pérdida de aprensión	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pérdida de tracción	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tono abdominal	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
<b>REFLEJOS</b>																					
Reactividad al tacto	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	-	-	N	-	-	-	N	N	N	N	N
Enderezamiento	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>OBSERVACIONES DÉRMICAS</b>																					
Palidez	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cianosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>MUERTE</b>																					
Letalidad	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Datos experimentales obtenidos en fichas (ver ANEXO N° 10). Test de Irwin modificado de Roux et al, 2003.

**Leyenda:**

- + : Presencia y/o leve incremento.
- N : Normal.
- : Ausencia y/o leve disminución.

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:**

Antes de la administración se observó el comportamiento espontáneo de los animales. Se administró por vía I.P., a grupos de tres animales dosis de 500, 750, 1000 y 1200 mg/kg del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Cheqche).

Se realizaron observaciones a los 5, 10, 15, 20, 30, 60, 120, 180 min. y 24 h tras la administración, usando la hoja de trabajo incluida en el **ANEXO N°10**. Registrándose signos de ligera depresión del SNC al cabo de 20 minutos post administración del extracto a las dosis de 1000 y 1200 mg/kg hasta aproximadamente los 90 minutos, observándose que dentro de este rango de tiempo se produjo una ligera sedación, presencia de marcha anormal e incoordinación motora, así como una ligera disminución en la tasa de respiración, reactividad al tacto y miedo. Al realizarse la observación a los 180 minutos no se presentaron diferencias observables entre los grupos a los que se les administró el extracto a distintas dosis y el control negativo. Así mismo se observó ausencia de muerte, de cambios en el estado de vigilia, excitación del SNC, efectos oculares, tono muscular, observaciones dérmicas y signos autonómicos como retorcimientos, piloerección, salivación y defecación, se siguió con la observación por 24 h encontrándose el mismo resultado.

Según los trabajos realizados por **Rosell & Pérez** "Determinación de la actividad ansiolítica y sedante del extracto etanólico al 70% de *Physalis peruviana* L. (Aguaimanto)" al realizar la evaluación del test de Irwin se obtuvo como resultados que a las dosis de 640 y 1280 mg/kg administradas por v.i.p., se observa un efecto depresor en el SNC al cabo de 15 minutos post administración del extracto. A partir de los 30 y 60 minutos se observó un incremento ligero de la sedación e incoordinación motora, disminución de la tasa de respiración, ausencia de reactividad al tacto, tono muscular disminuido (89). Según los trabajos de **Ariza S. et. al., 2006** el extracto etanólico de *Hygrophila tyttha* posee un efecto depresor sobre el sistema nervioso central y actividad anticonvulsivante. Con dosis superiores a 120 mg/kg, se empezaron a evidenciar los primeros cambios en el patrón de comportamiento, tales como disminución de la actividad motora, leve disminución de la fuerza prensil y disminución del reflejo corneal. Con dosis de 1000 y 2000 mg/kg se hicieron mucho más evidentes los signos de sedación.

Estos cambios aparecieron entre los 30 minutos y las 2 horas post aplicación, hacia las 6 horas se observó una recuperación del comportamiento normal en los animales **(18)**.

Se ha reportado por **Irwin 1968** y **Roux et al; 2003** que la sedación, incoordinación motora, disminución en la tasa de respiración etc., son conductas relacionadas a la depresión del SNC **(55)**, **(56)**, por lo tanto el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Cheqche) presentó un ligero efecto depresor a las dosis de 1000 y 1200 mg/kg.

De lo anterior podemos decir que el extracto de *Berberis boliviana* L. presentó signos de ligera depresión del SNC a dosis elevadas, considerándose que dosis superiores a las evaluadas son poco prácticas, debido a la cantidad de extracto que se requeriría por kilogramo de peso, es por esta razón que se toma como dosis a evaluar (400, 800 y 1200 mg/kg). Además según los estudios de **Ariza S., et. al., 2006** se evidenció actividad sobre el SNC del extracto etanólico y fracciones de *Hygrophila tyttha* (500 mg/kg v.o) que dan cuenta del potencial ansiolítico y anticonvulsivante de esta especie, al realizar la evaluación del perfil psicofarmacológico mediante el test de Irwin se obtuvo como resultado que a dosis superiores a 120 mg/kg se empezaron a evidenciar los primeros cambios en el patrón de comportamiento y que a dosis de 1000 y 2000 mg/kg se hicieron más evidentes los signos de una ligera sedación **(18)**.

## **4.2. ESTUDIO FARMACOLÓGICO**

### **4.2.1 DE LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE**

Para la evaluación de la actividad anticonvulsivante fue importante establecer la homogeneidad de pesos de los animales asignados en los diferentes grupos de tratamiento.

Los indicadores que se tomaron en cuenta en la determinación de la actividad anticonvulsivante fueron; el período de latencia inducido por el PTZ, disminución en la duración de convulsiones inducidas por el PTZ, número de convulsiones inducidas por el PTZ y la protección frente a la mortalidad inducida por PTZ. Se realizó el análisis estadístico calculando la media y el E.S.M para cada indicador además se aplicó el método de análisis de varianza para evaluar diferencias estadísticamente significativas con  $p$  menor de 0,05 entre el grupo control (–) y los demás grupos, así como para evaluar diferencias estadísticamente significativas entre cada uno de los diferentes grupos.

**TABLA N°19: PESO INICIAL PROMEDIO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

Tratamiento	Dosis (v.i.p.) mg/kg	N	Peso Promedio	Mínimo	Máximo
Control	--	6	32,96	30,71	34,63
Control Diazepam	1 mg/kg	6	30,71	30,71	32,29
<i>Berberis boliviana L.</i>	400 mg/kg	6	31,66	30,21	33,86
<i>Berberis boliviana L.</i>	800 mg/kg	6	32,06	30,19	34,16
<i>Berberis boliviana L.</i>	1200 mg/kg	6	32,17	30,55	34,84

Fuente: Datos experimentales

**TABLA N°20: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA EL PESO INICIAL PROMEDIO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

ANOVA de un factor					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	16,223	4	4,056	2,158	0,103
Intra-grupos	46,983	25	1,879		
Total	63,206	29			

$p < 0,05$

Fuente: Datos experimentales

#### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:**

En la **Tabla N°19** podemos observar que el promedio mínimo y máximo de los animales de experimentación fue de 30,19 g y 34,84 g respectivamente.

Podemos apreciar en la **Tabla N°20** el análisis de varianza (ANOVA) donde se observa que el valor de Sig., es mayor a ( $p < 0,05$ ) lo que nos indica que no existen diferencias significativas entre los pesos de los animales de experimentación, es decir que los distintos grupos tienen un peso homogéneo.

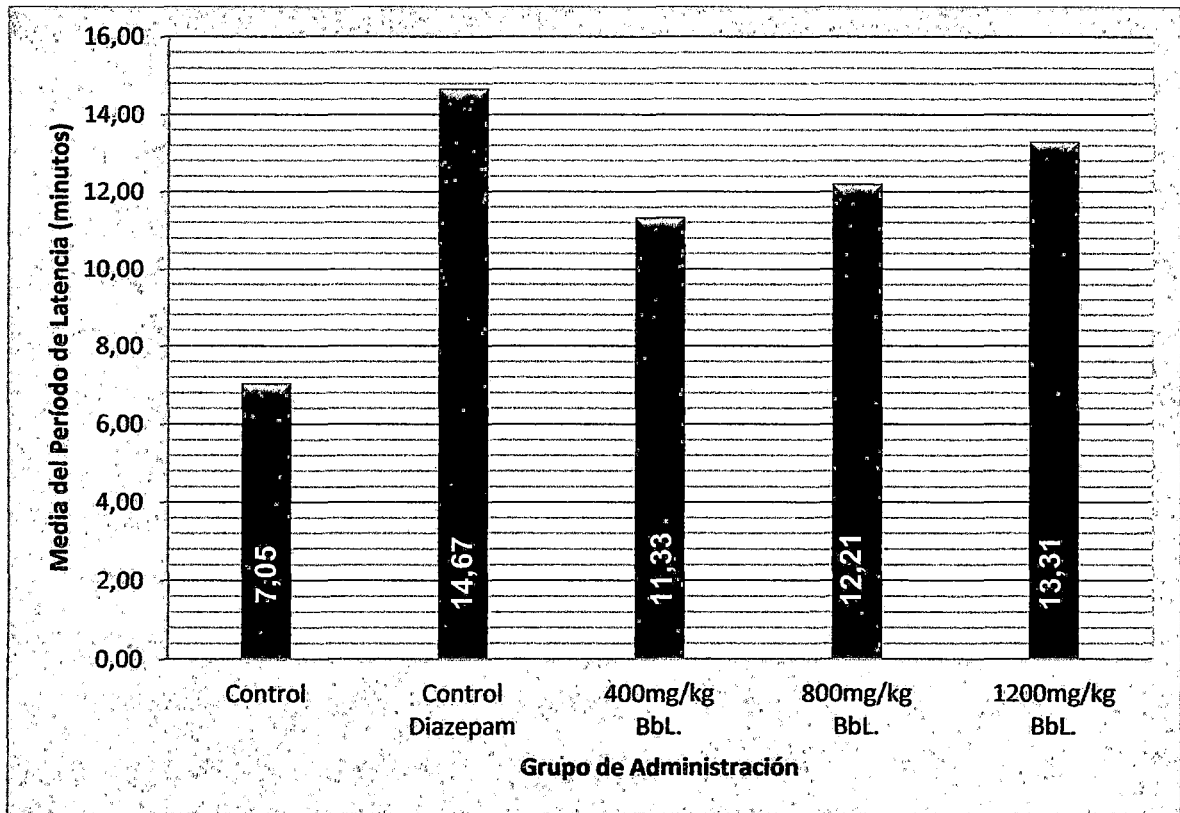


**TABLA N°21: PERÍODO DE LATENCIA PARA LA PRIMERA CONVULSIÓN CLÓNICA, EN MINUTOS, INDUCIDO POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN.**

<b>GRUPO DE ADMINISTRACIÓN</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Ratón</b>	<b>Período de Latencia (Min.)</b>	<b>Promedio del período de Latencia (Media ± E.S.M) (minutos)</b>	<b>Variación %</b>
Grupo 1	Control Agua estéril para inyección 10 ml/kg	1	6,58	7,05 ± 0,18	-
		2	7,59		
		3	7,35		
		4	7,09		
		5	6,48		
		6	7,22		
Grupo 2	Diazepam 1mg/kg	1	15,45	14,67 ± 0,26	108,08
		2	15,00		
		3	14,25		
		4	14,11		
		5	14,00		
		6	15,23		
Grupo 3	<i>Berberis boliviana L.</i> 400 mg/kg	1	11,46	11,33 ± 0,20	60,67
		2	11,29		
		3	11,12		
		4	11,50		
		5	10,56		
		6	12,05		
Grupo 4	<i>Berberis boliviana L.</i> 800 mg/kg	1	11,53	12,21 ± 0,24	73,13
		2	13,03		
		3	12,56		
		4	12,35		
		5	12,25		
		6	11,53		
Grupo 5	<i>Berberis boliviana L.</i> 1200 mg/kg	1	13,48	13,31 ± 0,23	88,70
		2	13,30		
		3	13,56		
		4	13,18		
		5	14,00		
		6	12,32		

**Fuente: Datos experimentales**

**FIGURA N°5: MEDIA DEL PERÍODO DE LATENCIA PARA LA PRIMERA CONVULSIÓN CLÓNICA, EN MINUTOS INDUCIDO POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN.**



**Leyenda:** BbL. Extracto de *Berberis boliviana* L.

**Fuente:** Datos experimentales

**TABLA N°22: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL PERÍODO DE LATENCIA PARA LA PRIMERA CONVULSIÓN CLÓNICA INDUCIDO POR PENTILENTETRAZOL**

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Inter-grupos</b>	200,540	4	50,135	168,559	,000
<b>Intra-grupos</b>	7,436	25	,297		
<b>Total</b>	207,976	29			

**p<0,05**

**Fuente:** Datos experimentales

**TABLA N°23: ANÁLISIS DE POST-PRUEBA DE TUKEY PARA EL PERÍODO DE LATENCIA DE LA PRIMERA CONVULSIÓN CLÓNICA INDUCIDO POR PENTILENTETRAZOL.**

Período de Latencia para la primera convulsión clónica						
Prueba	Grupo de Administración	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
			1	2	3	4
HSD de Tukey <sup>a</sup>	Control	6	7,0517			
	400mg/kg BbL.	6		11,3300		
	800mg/kg BbL.	6		12,2083		
	1200mg/kg BbL.	6			13,3067	
	Diazepam	6				14,6733
	Sig.			1,000	,068	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.000.

**Leyenda:** BbL. Extracto de *Berberis boliviana* Lechler.

**Fuente:** Datos experimentales

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

En la TABLA N°21 y FIGURA N°5 podemos observar el promedio del período de latencia para la primera convulsión clónica inducida por PTZ en los distintos grupos, siendo para el control (7,05 minutos), diazepam (14,67 minutos) y el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L, (Ch'eqche) administrado por vía I.P., a la dosis de 400 mg/kg (11,33 minutos), 800 mg/kg (12,21 minutos) y 1200 mg/kg (13,31 minutos).

Al observar la columna del porcentaje de variación podemos decir que el período de latencia para la primera convulsión clónica del extracto de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a las dosis de 400 mg/kg, 800 mg/kg y 1200 mg/kg se incrementó en un 60,67%, 73,13% y 88,70% respectivamente, así como el grupo diazepam presenta un incremento de 108,08% con respecto al grupo control el cual solo recibió agua estéril.

A partir de los resultados presentados en la TABLA N°21 se realizó un análisis de varianza ANOVA (TABLA N°22) con la finalidad de comparar el promedio del período de latencia para los distintos grupos de tratamiento, se observa en la

columna de Sig que el valor de P-valor es mucho menor que 0,05 lo que nos indica que existen diferencias significativas entre los distintos grupos de tratamiento.

Para determinar específicamente que promedios del período de latencia difieren y cuales son homogéneos, se realizó a partir de la TABLA N°21 el análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey presentado en la TABLA N°23 dónde podemos observar la formación de cuatro columnas las que son estadísticamente distintas entre sí, al observar la columna 4 se encuentra solo al grupo diazepam lo cual nos indica que ninguno de los promedios del período de latencia de los extractos formo un subconjunto homogéneo con el grupo diazepam.

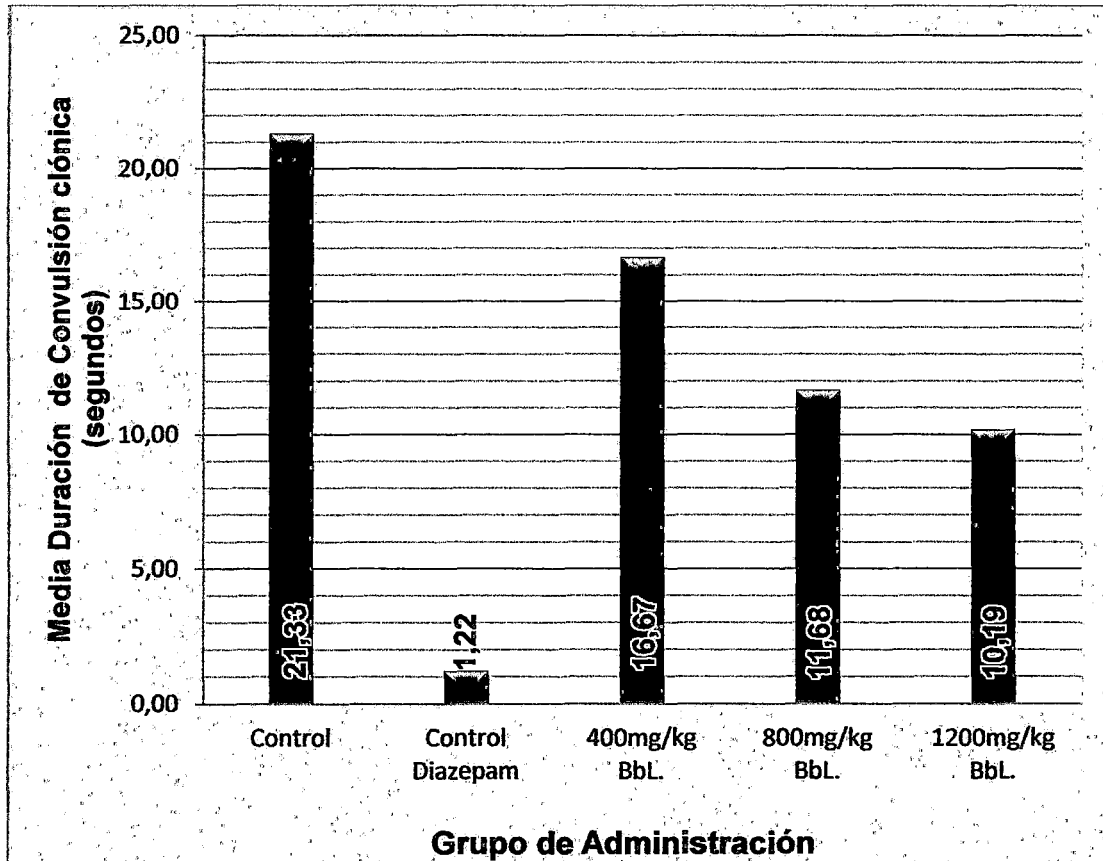
Se ha reportado por **Nassiri M. et. al., 2007** en su estudio “Anticonvulsant effects of aerial parts of *Passiflora incarnata* extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors” que la prolongación en la aparición de las convulsiones es un parámetro importante a evaluar en la actividad anticonvulsivante (20), de igual manera indica **Mora A. et. Al., 2008** que un incremento en el período de latencia de las crisis indica una actividad anticonvulsivante (10). Se observó que el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana L.* (Ch’eqche) administrado por vía I.P., a la dosis de 400 mg/kg, 800 mg/kg y 1200mg/kg incrementaron significativamente el período de latencia para la primera convulsión clónica inducida por PTZ frente al grupo Control, efecto mostrado de igual manera para el Diazepam 1mg/kg, de lo que podemos decir, que el extracto de *Berberis boliviana L.* a la dosis de 1200 mg/kg presentó el período de latencia de **13,31 minutos** tiempo aproximado al presentado por el diazepam (**14,67 minutos**) de lo que deducimos que tal proximidad se debe a que hubo una buena absorción de los metabolitos secundarios implicados en la actividad anticonvulsivante (cumarinas, compuestos fenólicos y alcaloides como la berberina) presentes en mayor concentración a esta dosis del extracto llegando así a una concentración adecuada para ejercer su acción de manera similar al diazepam, al nivel del GABA<sub>A</sub>.

**TABLA N°24: DETERMINACIÓN DE LA DURACIÓN DE CONVULSIONES CLÓNICAS (segundos) INDUCIDOS POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN.**

GRUPO DE ADMINISTRACIÓN	TRATAMIENTO	Ratón	Duración de las convulsiones (seg.)	Duración promedio de las convulsiones (seg.) (Media ± E.S.M)	Variación %
Grupo 1	Control Agua estéril para inyección 10 ml/kg	1	21,14	21,33 ± 0,23	—
		2	21,44		
		3	22,03		
		4	21,89		
		5	20,69		
		6	20,78		
Grupo 2	Diazepam 1mg/kg .	1	1,45	1,22 ± 0,06	94,29
		2	1,34		
		3	1,21		
		4	1,13		
		5	1,10		
		6	1,08		
Grupo 3	<i>Berberis boliviana</i> L. 400 mg/kg	1	17,40	16,67 ± 0,29	21,85
		2	17,36		
		3	17,13		
		4	16,35		
		5	16,02		
		6	15,75		
Grupo 4	<i>Berberis boliviana</i> L. 800 mg/kg	1	11,44	11,68 ± 0,35	45,23
		2	12,53		
		3	12,44		
		4	12,24		
		5	11,00		
		6	10,44		
Grupo 5	<i>Berberis boliviana</i> L. 1200 mg/kg	1	10,81	10,19 ± 0,20	52,22
		2	10,61		
		3	10,35		
		4	10,07		
		5	9,72		
		6	9,58		

**Fuente: Datos experimentales**

**FIGURA N°6: MEDIA DE LA DURACIÓN DE CONVULSIONES CLÓNICAS (segundos) INDUCIDAS POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN.**



Fuente: Datos experimentales

**TABLA N°25: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA DETERMINACIÓN DE DURACIÓN DE CONVULSIONES CLÓNICAS (segundos) INDUCIDOS POR PENTILENTETRAZOL.**

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1369,180	4	342,295	937,247	,000
Intra-grupos	9,130	25	,365		
Total	1378,311	29			

$p < 0,05$

Fuente: Datos experimentales

**TABLA N°26: ANÁLISIS DE POST-PRUEBA DE TUKEY DE LA DETERMINACIÓN DE DURACIÓN DE CONVULSIONES CLÓNICAS (segundos) INDUCIDOS POR PENTILENTETRAZOL.**

Duración de las convulsiones clónicas							
Prueba	Grupo de Administración	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
HSD de Tukey <sup>a</sup>	Diazepam	6	1,2183				
	1200 mg/kg BbL.	6		10,1900			
	800 mg/kg BbL.	6			11,6817		
	400 mg/kg BbL.	6				16,6683	
	Control	6					21,3283
	Sig.			1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.000.

**Leyenda:** BbL. Extracto de *Berberis boliviana* Lechler.

**Fuente:** Datos experimentales

#### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

En el TABLA N°24 y FIGURA N° 6 se aprecia la media expresada en segundos para la duración de las convulsiones clónicas según cada grupo de administración obteniéndose así para el grupo control (21,33 seg), control diazepam (1,22 seg) y para los extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a la dosis de 400 mg/kg (16,67 seg), 800 mg/kg (11,68 seg) y 1200 mg/kg (10,19 seg). Al comparar los promedios de las duración de las convulsiones clónicas de los distintos grupos de administración con el grupo negativo (control) podemos decir que la duración de las convulsiones clónicas del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a las dosis de 400 mg/kg, 800 mg/kg y 1200 mg/kg disminuyeron en 21,85%, 45,23% y 52,22% respectivamente,

así como el grupo diazepam presentó la máxima reducción (94,29%) con respecto al grupo control.

Se realizó a partir de la TABLA N°24 el análisis de varianza ANOVA (TABLA N°25) el cual compara el promedio de duración de las convulsiones clónicas para los distintos grupos experimentales, se puede observar que en esta tabla se obtuvo un valor de significancia de 0,000 ( $p < 0,05$ ) este valor nos indica que existen diferencias significativas entre los distintos grupos de tratamiento.

A partir de la TABLA N°24 se realiza el análisis de comparaciones múltiples de Tukey TABLA N°26, donde se obtuvo como resultado que los grupos de tratamiento: diazepam, control y el extracto de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a la dosis de 400 mg/kg, 800 mg/kg y 1200 mg/kg no formaron ningún subconjunto homogéneo, por ende son estadísticamente distintos entre sí.

Según Nassiri M. et. al., 2007 indican que una disminución en la duración de la convulsión es otro parámetro importante a evaluar en la actividad anticonvulsivante, es así que en su estudio obtuvieron como resultado que el extracto hidroalcohólico a la dosis de 0,2 mg/kg y 0,4 mg/kg disminuyeron la duración de las convulsiones en un 60% y 100% presentando la última dosis el mismo efecto que el diazepam 1 mg/kg (20). Se observó que el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) administrados por vía I.P., a la dosis de 1200 mg/kg, 800 mg/kg y 400 mg/kg redujeron significativamente la duración de las convulsiones clónicas frente al grupo negativo (Control) pero ninguno de ellos se comparó al efecto producido el grupo control diazepam 1mg/kg.

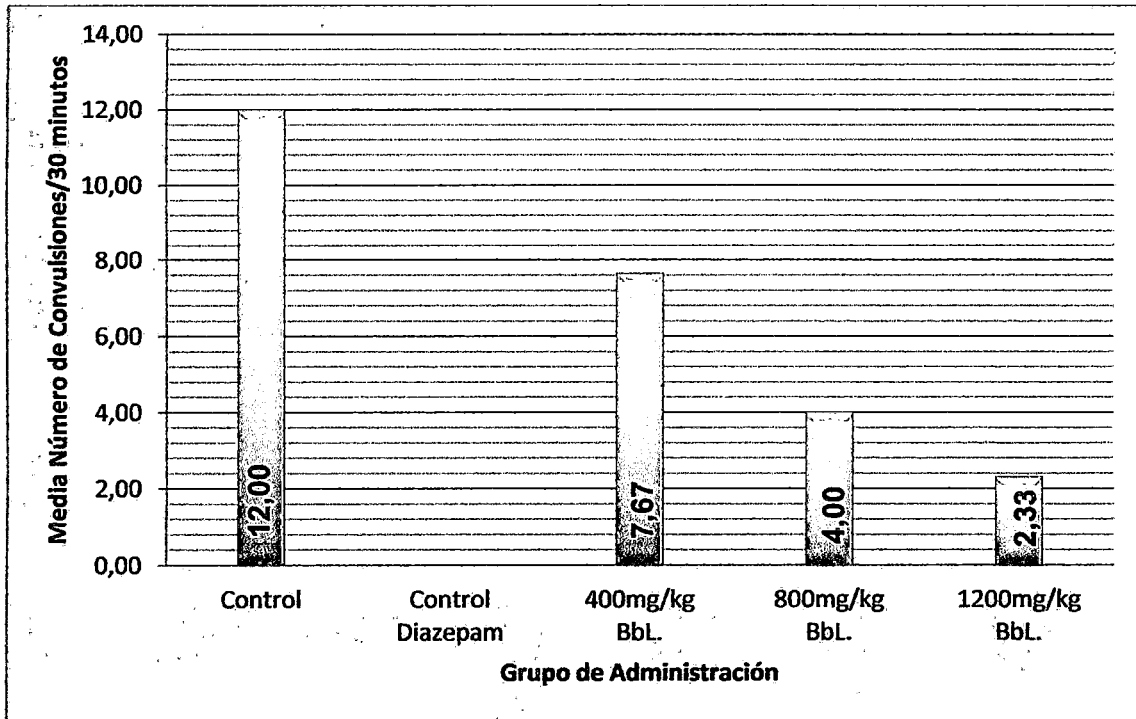


**TABLA N°27: DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE CONVULSIONES CLÓNICAS CON DURACIÓN MÍNIMA DE 3 SEGUNDOS / INDUCIDOS POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN / DURANTE 30 MIN.**

GRUPO DE ADMINISTRACIÓN	TRATAMIENTO	Ratón	Nro. de convulsiones duración mínima de 3 seg	Promedio del Nro. de convulsiones duración mínima de 3 seg. (Media ± E.S.M)	Variación %
Grupo 1	Control Agua estéril para inyección 10 ml/kg	1	12	12 ± 0,37	-
		2	11		
		3	12		
		4	13		
		5	13		
		6	11		
Grupo 2	Diazepam 1mg/kg	1	0	0 ± 0,00	100,00
		2	0		
		3	0		
		4	0		
		5	0		
		6	0		
Grupo 3	<i>Berberis boliviana</i> L. 400 mg/kg	1	8	8 ± 0,33	36,11
		2	7		
		3	7		
		4	9		
		5	7		
		6	8		
Grupo 4	<i>Berberis boliviana</i> L. 800 mg/kg	1	5	4 ± 0,26	66,67
		2	4		
		3	4		
		4	4		
		5	3		
		6	4		
Grupo 5	<i>Berberis boliviana</i> L. 1200 mg/kg	1	2	2 ± 0,21	80,56
		2	2		
		3	3		
		4	2		
		5	3		
		6	2		

**Fuente: Datos experimentales**

**FIGURA N° 7: MEDIA DEL NÚMERO DE CONVULSIONES CLÓNICAS CON DURACIÓN MÍNIMA DE 3 SEGUNDOS/ INDUCIDOS POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN / DURANTE 30 MIN.**



Fuente: Datos experimentales

**TABLA N°28: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE CONVULSIONES CLÓNICAS CON DURACIÓN MÍNIMA DE 3 SEGUNDOS INDUCIDOS POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN.**

ANOVA de un factor					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	534,133	4	133,533	312,969	,000
Intra-grupos	10,667	25	,427		
Total	544,800	29			

$p < 0,05$

Fuente: Datos experimentales

## ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

En la **TABLA N°27** y **FIGURA N°7** podemos observar que el grupo que presentó mayor promedio de número de convulsiones fue el control (12 convulsiones) seguido del extracto de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a las dosis de 400 mg/kg (8 convulsiones), 800 mg/kg (4 convulsiones) y 1200mg/kg (2 convulsiones) y finalmente el grupo diazepam que no presentó ninguna convulsión clónica con una duración mínima de 3 segundos. Al observar el porcentaje de variación podemos decir que el promedio de número de convulsiones del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a las dosis de 400 mg/kg, 800 mg/kg y 1200 mg/kg disminuyeron en un 36,11%, 66,78% y 80,56% respectivamente, así como el grupo diazepam presentó una reducción de 100,00% con respecto al grupo control.

A partir de los resultados presentados en la **TABLA N°27** se realizó un análisis de varianza ANOVA (**TABLA N°28**) para comprobar si los promedio obtenidos de la determinación del número de convulsiones clónicas inducidos por PTZ según el grupo de tratamiento difieren entre sí, de observar la columna de Sig. podemos decir que el P-valor es mucho menor que 0,05 lo que nos indica que existen diferencias significativas entre los distintos grupos de tratamiento.

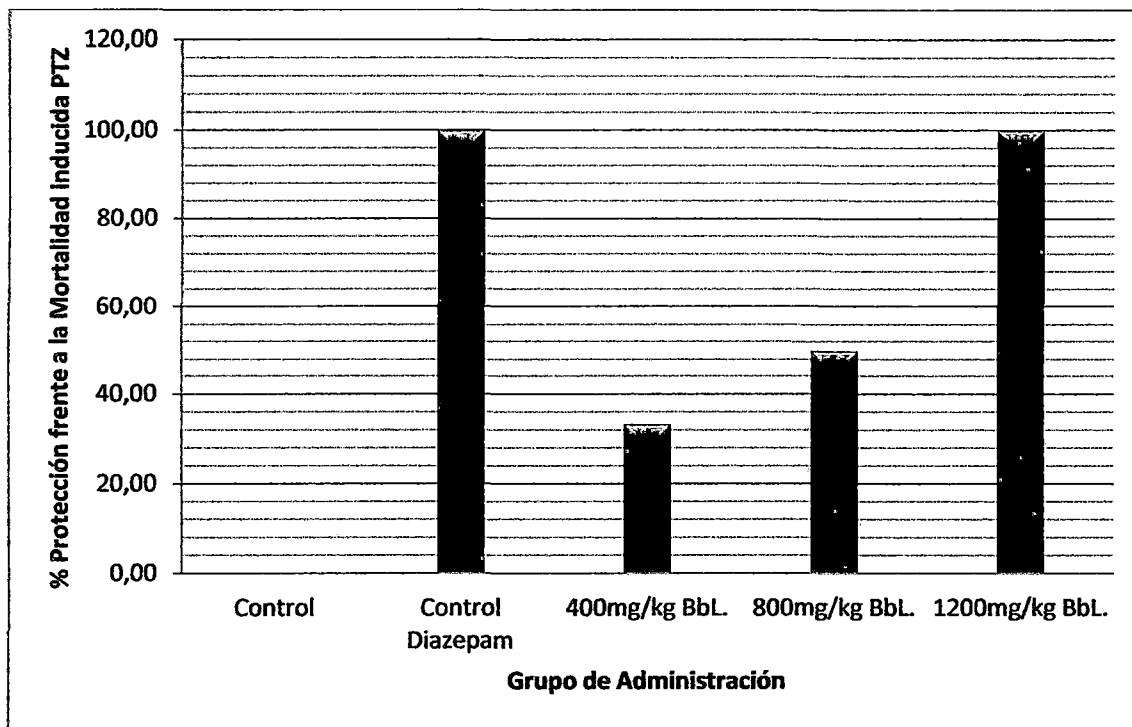
Según el "Manual de técnicas de la investigación" del CYTED, la ausencia de convulsiones mayores de 3 segundos, durante 30 minutos es un parámetro de protección de los anticonvulsivantes (62), además se ha reportado por **Mora A. et. Al., 2008** que una disminución en el número de convulsiones indica una actividad anticonvulsivante (10). De lo anterior podemos decir que el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) administrado por vía I.P., a las dosis de 1200mg/kg, 800 mg/kg y 400mg/kg redujeron significativamente el número de convulsiones clónicas frente al grupo Control, siendo el extracto a la dosis de 1200 mg/kg el que más se aproxima al efecto ejercido por el grupo control diazepam 1mg/kg en la reducción del número de convulsiones de lo que concluimos que dicha reducción en el número de convulsiones se debe a que ejerce un mecanismo de acción similar al producido por el diazepam, actuando así a nivel de los receptores GABA<sub>A</sub>.

**TABLA N° 29: PORCENTAJE DE PROTECCIÓN FRENTE A LA MORTALIDAD INDUCIDO POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN.**

GRUPO DE ADMINISTRACIÓN	TRATAMIENTO	Ratón	Protección frente a la mortalidad	Frecuencia		%Protección frente a la Mortalidad inducida PTZ
				Muere	Sobrevive	
Grupo 1	Control Agua estéril para inyección 10 ml/kg	1	No	6	0	0,00
		2	No			
		3	No			
		4	No			
		5	No			
		6	No			
Grupo 2	Diazepam 1mg/kg	1	Si	0	6	100,00
		2	Si			
		3	Si			
		4	Si			
		5	Si			
		6	Si			
Grupo 3	<i>Berberis boliviana</i> L. 400 mg/kg	1	No	4	2	33,33
		2	No			
		3	No			
		4	Si			
		5	No			
		6	Si			
Grupo 4	<i>Berberis boliviana</i> L. 800 mg/kg	1	No	3	3	50,00
		2	Si			
		3	No			
		4	Si			
		5	Si			
		6	No			
Grupo 5	<i>Berberis boliviana</i> L. 1200 mg/kg	1	Si	0	6	100,00
		2	Si			
		3	Si			
		4	Si			
		5	Si			
		6	Si			

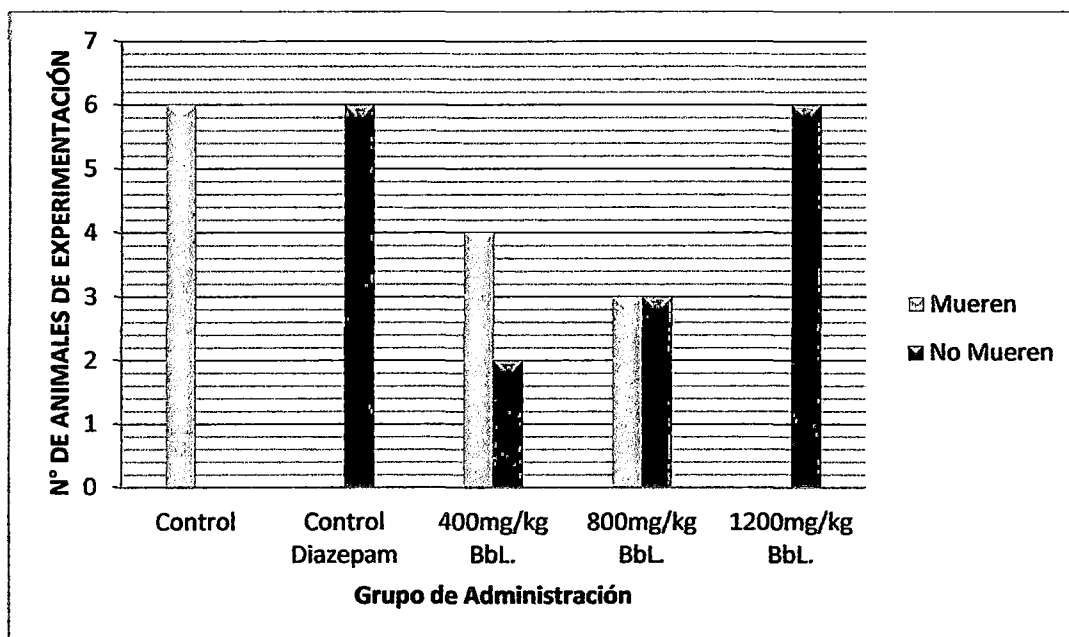
**Fuente: Datos experimentales**

**FIGURA N° 8: PORCENTAJE DE PROTECCIÓN FRENTE A LA MORTALIDAD INDUCIDO POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN.**



Fuente: Datos experimentales

**FIGURA N°9: MORTALIDAD Y SUPERVIVENCIA PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN.**



Fuente: Datos experimentales

**TABLA N°30: ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA LA PROTECCIÓN FRENTE A LA MORTALIDAD INDUCIDA POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN**

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	6,679	4	1,670	17,625	,000
Intra-grupos	3,600	38	,095		
Total	10,279	42			

p < 0,05

Fuente: Datos experimentales

**TABLA N° 31: ANÁLISIS DE POST-PRUEBA DE TUKEY PARA LA PROTECCIÓN FRENTE A LA MORTALIDAD INDUCIDO POR PENTILENTETRAZOL PARA LOS DISTINTOS GRUPOS DE ADMINISTRACIÓN**

Prueba	Protección frente a la mortalidad inducida por PTZ			
	Grupo de administración	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
			1	2
HSD de Tukey <sup>a</sup>	Diazepam	6	0,000	
	1200mg/kg BbL	6	0,000	
	800mg/kg BbL	6		50,000
	400mg/kg BbL	6		66,67
	Control	6		100,00
	Sig.			,107

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.000.

**Leyenda:** BbL. Extracto de *Berberis boliviana* Lechler.

Fuente: Datos experimentales

## **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:**

En la **TABLA N°29** y **FIGURA N°8** se aprecia el porcentaje de protección frente a la mortalidad inducida por PTZ para los distintos grupos de tratamiento, observándose que el grupo control no presenta protección puesto que los 6 ratones del grupo murieron mientras que el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a las dosis de 400 mg/kg y 800 mg/kg presentan un porcentaje de protección de mortalidad de 33,3% y 50,0% con respecto al grupo control y finalmente se observó que el grupo diazepam y el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a la dosis de 1200 mg/kg presentaron un 100% de protección.

En la **TABLA N°29** y **FIGURA N°9** podemos observar el número de muertes y supervivencia de cada grupo conformado por 6 ratones, el grupo que presentó menor mortalidad fue el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a la dosis de 1200 mg/kg y el grupo Diazepam (0 ratones muertos); en los grupos del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a las dosis de 400 mg/kg (4 ratones muertos), 800 mg/kg (3 ratones muertos) y finalmente el grupo control (6 ratones muertos).

De los resultados presentados en la **TABLA N°29** se realizó un análisis de varianza ANOVA (**TABLA N°30**) para comprobar si los promedios obtenidos de la protección frente a la mortalidad inducida por PTZ para los distintos grupos son homogéneos, de dicho análisis se obtuvo un valor de significancia 0,000 ( $p < 0,05$ ) el cual nos indica que existen diferencias significativas entre los distintos grupos de tratamiento.

A partir de la **TABLA N°29** se realizó el análisis estadístico de comparaciones múltiples de Tukey presentado en la **TABLA N°31**, para determinar específicamente que promedios difieren y cuales son homogéneos. En esta tabla podemos observar la formación de dos subconjuntos homogéneos, el primero subconjunto está conformado por el diazepam y el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. a la dosis de 1200 mg/kg, los cuales son estadísticamente iguales entre sí y son estadísticamente distintos con el segundo subconjunto conformado por el control y el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a las dosis de 800 mg/kg y 400 mg/kg.

Según el trabajo realizado por **Fatehi M., y col., 2005** la especie del género *Berberis* tiene información suficiente que apoya la hipótesis de que extracto acuoso de *B. vulgaris* tiene efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular y neural, con potencial uso en el tratamiento de la hipertensión, taquicardia, y desórdenes neuronales como la epilepsia y convulsiones (6). Según **Nassiri M. et. al., 2007** en su estudio obtuvo como resultado que el extracto hidroalcohólico a la dosis de 0,2 mg/kg y 0,4 mg/kg protegen frente a la mortalidad producida por el PTZ en un 80% y 100% ejerciendo este último el mismo efecto que el diazepam 1 mg/kg (20). En el estudio realizado por **Guerrero et. al., 1997** se puede apreciar que el extracto hidroalcohólico de las semillas a la dosis de 380 mg/kg presenta un 90% de protección frente a la muerte producida por PTZ, mientras que el fármaco de referencia fenitoina presentó un 95% de protección frente a la mortalidad (17). Los resultados obtenidos por **Mora A.,y col., 2008** revelan que el extracto metanólico del tallo de *Kalanchoe pinnata* (EMT) ejerce efectos anticonvulsivantes, siendo la dosis mínima efectiva de 100 mg/kg protegiendo el 100% de los sujetos experimentales contra los efectos letales del agente proconvulsivante empleado (10), en todos los estudios mencionados se ha demostrado la actividad anticonvulsivante con el indicador de protección frente a la mortalidad.

De lo anterior podemos decir que los extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) administrado por vía I.P., a las dosis de 1200 mg/kg, 800 mg/kg y 400 mg/kg redujeron significativamente el número de muertes frente al grupo Control, siendo el extracto de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a la dosis de 1200 mg/kg y el grupo diazepam 1 mg/kg los que protegieron al 100% de los animales de experimentación de la muerte inducidas por PTZ, por consiguiente esta especie surge entonces como una fuente posible de compuestos con actividad frente a las crisis de convulsivas, ya que los metabolitos activos de *Berberis Boliviana* L. (cumarinas, compuestos fenólicos, alcaloides como la berberina, etc) ejercen efectos en favor del restablecimiento del equilibrio sináptico entre circuitos excitatorios e inhibitorios que se altera en las crisis de convulsivas y que son reproducidos de cierta manera por el PTZ ya que este es un antagonista del GABA. No obstante, no se descartaría que *Berberis*



*Boliviana* L. ejerza algún tipo de selectividad sobre el subtipo de receptor GABA<sub>A</sub>, debido a que presentó principalmente actividad anticonvulsivante y no tanto sedante, lo cual indicaría que el extracto acuoso de *Berberis boliviana* L. ejerce mayor acción sobre el subtipo  $\alpha 2$  del receptor GABA<sub>A</sub>, ligado a la protección anticonvulsivante y actividad ansiolítica, más que sobre el subtipo  $\alpha 1$  ligado al efecto sedante, lo cual podría considerarse como una ventaja frente a medicamentos anticonvulsivantes que a la vez producen somnolencia, considerándose este como uno de sus principales efectos secundarios. No obstante son necesarios ensayos adicionales que puedan asegurar lo anteriormente expuesto.

#### 4.2.3 TOXICIDAD AGUDA

**TABLA N° 32: DETERMINACIÓN DE LA DL<sub>50</sub> POR MÉTODO DE LORKE DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) ADMINISTRADO V.O EN RATONES Balb/c/CNPB**

SUSTANCIA	PRIMERA FASE		
	Dosis (mg/kg )	Mortalidad en 24 hs	Efectos neurotóxicos
Extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	10	0/3*	Ausencia
	100	0/3	Ausencia
	1000	0/3	Ausencia (Se observa ligera sedación en el 66,67% de animales a los 60 minutos después de la administración del extracto).
	SEGUNDA FASE		
	1 600	0/1	Ausencia (Se observa ligera sedación en el 100% de animales aproximadamente a los 50 minutos después de la administración del extracto).
	2 900	0/1	Ausencia (Se observa ligera sedación, incoordinación motora y disminución al miedo en el 100% de animales aproximadamente a los 50 minutos después de la administración del extracto).
	5 000	0/1	Ausencia (Se observa sedación, incoordinación motora y disminución al miedo moderadamente en el 100% de animales aproximadamente a los 50 minutos después de la administración del extracto).
<b>DL<sub>50</sub></b>	Para el extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche) es mayor a 5000 mg/kg.		

\*Número de animales que mueren/número de animales usados.

FUENTE: Datos experimentales obtenidos en fichas (ver ANEXO N° 16).

## **INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:**

En la **TABLA N°32** se aprecia la determinación de los valores de  $DL_{50}$  del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) administrado por V.O., en ratones cepa Balb/c/CNPB. En la **FASE I** que ninguno de los extractos administrados por V.O., a las dosis de 10, 100 y 1000 mg/kg causó la muerte de los animales además de observarse ausencia de efectos neurotóxicos a la dosis de 10, 100 y 1000 mg/kg sin embargo se encontró la presencia de algunos efectos a nivel neuronal que no necesariamente indican toxicidad sino más bien se debe al efecto ejercido del extracto a nivel de los receptores  $GABA_A$  entre la sintomatología se observó que a la dosis de 1000 mg/kg del extracto de *Berberis boliviana* L. se presencia una ligera sedación a los 60 minutos en el 66,67% del total de ratones, dicho efecto desapareció aproximadamente al cabo de 2 horas.

De igual manera en la **FASE II** ninguno de los extractos a las dosis de 1600, 2900 y 5000 mg/kg causo la muerte de los animales empleados ni se observó la presencia de efectos neurotóxicos, sin embargo se encontró que el extracto a estas dosis presenta algunos efectos a nivel neuronal como una ligera sedación en el 100% de los animales a los que se les administró una dosis de 1600 mg/kg de extracto, en tanto los animales que fueron administrados con una dosis de 2900 mg/kg de extracto presentaron en un 100% una ligera sedación con incoordinación motora y disminución al miedo finalmente el 100% de los animales a los que se les administró la dosis de 5000 mg/kg de extracto presentó una moderada sedación, incoordinación motora y disminución al miedo, el comportamiento anormal de todos los ratones desaparece aproximadamente después de 3 horas. Podemos decir que la presencia de dicha sintomatología se debe a la presencia de flavonoides en el extracto acuoso de *Berberis boliviana* L. los cuales están implicados en acciones neurofarmacológicas como analgésicas, efectos sobre la movilidad y el sueño, la modulación del metabolismo oxidativo neuronal y efectos anticonvulsivantes, sedantes y ansiolíticos (80).

Al cabo del día 14 para la evaluación de la Fase I y del día 7 en la evaluación de la Fase II no se encontró signos de toxicidad o mortalidad en los animales de experimentación por lo que llegamos a la conclusión de que el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) es atoxico.

Según **Deciga-Campos et al; 2007** la investigación de la toxicidad es el primer paso en el análisis toxicológico y farmacológico de las drogas vegetales **(93)**. No se encontró estudios de toxicidad de la especie *Berberis boliviana* L. y tampoco del género *Berberis*, sin embargo se encontraron algunos estudios de toxicidad en extractos acuosos es así que según los trabajos realizados por **Rueda Milachay, L., et al., 2000**. En la determinación de la toxicidad de posibles metabolitos secundarios de importancia responsables de la actividad anticonvulsivante en la fase acuosa del extracto alcohólico de las hojas de *Euphorbia peplus* **(91)**, se obtuvieron como resultados que la dosis letal media de 2551.02, 1587.3 y de 16.03 mg/kg por vía oral, intraperitoneal e intracerebroventricular respectivamente. Según los trabajos realizados por **Ruiz P. A., y col 2011** en la "Evaluación de la actividad anticonvulsivante y toxicidad aguda del extracto acuoso en cocimiento de *Mansoa alliacea* (ajos sachá) en ratones" no se evidenciaron efecto tóxico a las dosis de 1000, 2500, 5500 mg/kg y 10000 mg/kg **(90)**

De los trabajos anteriormente mencionados y de la evaluación de la toxicidad aguda de *Berberis boliviana* L. se puede apreciar que la dosis a la que se ejerce un efecto tóxico por vía oral los extractos acuosos de las especies mencionadas son mayores a 2000 mg/kg de peso, siendo a estas dosis según **Lorke, 1983 (54)** sustancia débilmente tóxica.

## CONCLUSIONES

De la investigación realizada del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. "Ch'eqche" se concluye:

- Se realizó el estudio fitoquímico cualitativo y determinación de la actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. "Ch'eqche" en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol, determinándose que el extracto a la dosis de 1200 mg/kg presentó mayor actividad anticonvulsivante para convulsiones tipo clónicas, teniendo a las cumarinas, compuestos fenólicos y alcaloides como responsables de dicha actividad.
- Se obtuvo el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) con un porcentaje de rendimiento 12,56% y un porcentaje de humedad de 60,52%, presentando una amplia solubilidad en solventes polares (Agua destilada, Etanol 40%, Etanol 50%, Etanol al 70%, etanol al 90%).
- Se determinó cualitativamente la composición fitoquímica del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) presentando abundante cantidad de compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, cumarinas, quinonas, lactonas y azúcares reductores mientras que se observa la presencia moderada de glicósidos, aminoácidos, saponinas, flavonoides y resinas.
- Se determinó en el período de latencia para la primera convulsión clónica inducida por Pentilentetrazol, como indicador de la actividad anticonvulsivante, para las dosis de 400 mg/kg, 800mg/kg y 1200 mg/kg del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) administrado por vía I.P., los cuales fueron 11,33 minutos, 12,21 minutos y 13,31 minutos respectivamente, observándose un incremento en el período de latencia con respecto al grupo control en 60,67%, 73,13% y 88,70%;

siendo la dosis de 1200 mg/kg la que más se aproxima al efecto ejercido por el diazepam 1mg/kg.

- Se determinó el tiempo de duración de las convulsiones clónicas y el número de convulsiones que duran por lo menos 3 segundos inducidas por Pentilentetrazol durante 30 minutos como indicadores de la actividad anticonvulsivante para el extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. "Ch'eqche" administrado por vía I.P., determinándose que la duración de las convulsiones clónicas a la dosis de 400 mg/kg, 800 mg/kg y 1200 mg/kg fueron 16,66 segundos, 11,68 segundos y 10,19 segundos respectivamente observándose una disminución de 21,85%, 45,23% y 52,22% con respecto al grupo control, mientras que el número de convulsiones clónicas para las dosis de 400 mg/kg, 800 mg/kg y 1200 mg/kg fueron 8, 4 y 2 convulsiones respectivamente observándose una disminución de 36,11%, 66,67% y 80,56% con respecto al grupo control.
- Se determinó el porcentaje de protección frente a la mortalidad inducida por Pentilentetrazol del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) a las dosis de 400 mg/kg, 800 mg/kg y 1200 mg/kg fue de 33,3%, 50,0% y 100,0% respectivamente.
- Se determinó que la dosis 1200 mg/kg del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) presentó mayor actividad anticonvulsivante frente a las convulsiones tipo clónicas inducidas por Pentilentetrazol, puesto que esta dosis prolongó el período de latencia para la aparición de la primera convulsión clónica así como disminuyó el tiempo de duración y número de convulsiones clónicas además ofreció un 100% de protección frente a la mortalidad inducida por Pentilentetrazol.
- Se evaluó la toxicidad aguda por vía oral del extracto acuoso de la parte aérea de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) en ratones mediante el método de Lorke, encontrándose este atóxico debido a que después de administrarse la dosis más alta (5000 mg/kg) solo se observó en los

ratones una moderada sedación, incoordinación motora y disminución al miedo los cuales desaparecieron aproximadamente después de 3 horas.

- Se determinó método de Lorke que no existe dosis letal media del extracto acuoso de la parte aérea de *Berberis boliviana* L. (Ch'eqche) administrado por vía oral debido a la ausencia de muertes al cabo de las 24 h de evaluación de los animales de experimentación.

## RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS

### A las autoridades:

- Buscar convenios con instituciones públicas o privadas, dedicadas a la investigación de plantas medicinales que den un mayor respaldo en la ejecución de proyectos.
- Implementar y ampliar el laboratorio de farmacología experimental para el desarrollo adecuado de los trabajos de investigación en plantas medicinales y otros.

### A los docentes:

- Motivar al estudiante a profundizar la investigación en productos naturales, ya que existe una variedad de especies vegetales que aún no han sido completamente estudiados y está demostrado que estos tienen un gran potencial en diversos campos de aplicación, tales como medicina, agroquímica, biotecnología así como los compuestos aislados sirven como referentes en la síntesis de nuevas moléculas.
- Buscar convenios con institutos, universidades y centros de investigación dedicados a la investigación en diseño y obtención de nuevos fármacos y en estudios farmacológicos.
- Buscar los medios adecuados para realizar la publicación del presente trabajo de investigación así como de los trabajos de investigación realizados por la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica.

### A los investigadores:

- Realizar la cuantificación e identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de *Berberis boliviana* Lechler (alcaloides, compuestos fenólicos, cumarinas), a los que se les atribuye la actividad anticonvulsivante.
- Realizar otros estudios para la determinación de perfil anticonvulsivante de los extractos de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) en los distintos tipos de convulsiones y otras pertenecientes al género *Berberis* de nuestra región.



- Realizar estudios de toxicidad aguda de las diversas especies pertenecientes al género *Berberis* existentes en nuestra región, de manera tal que sirva como cribado previo para realización de pruebas farmacológicas.
- Continuar los estudios de *Berberis boliviana* Lechler (Ch'eqche) demostrando otros efectos atribuidos en la medicina tradicional.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKERELE O. Nature's medicinal bounty: Don't throw it away. World Health Forum; 14 (4): 390-5. 1993
2. GURIB FA. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Mol Aspects Med.; 27(1):1-93. 2006
3. GARCÍA CÁCERES U. Enciclopedia temática del Perú "salud"; tomo XII: pag.151. 2004
4. PRADILLA G; BORIS E; VESGA A; FIDIAS E Y LEÓN-SARMIENTO E. Grupo GENECO, Estudio neuroepidemiológico nacional (EPINEURO) Colombiano, Revista Panamericana de Salud Pública, 14, 2. 2003
5. FATEHI M; SALEH T.M; FATEHI-HASSANABAD Z; FARROKHFAL K; JAFARZADEH M; DAVODI S. A pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract, J. Ethnopharmacol. 102 (1), 46-52. 2005
6. MING J; SAI L. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry 64, 923-933, Pergamon. 2003
7. PÉREZ P. Costo médico directo de la epilepsia en la población hospitalaria del Hospital III Miguel Grau de Es Salud. Acta Med Per 27(1). 2010
8. ESPINOZA JIMENEZ J. Manual de epilepsia, guía de tratamiento integral para el primer nivel de atención. 2° edición. Lima. 2008
9. BRODIE MJ. "Do we need any more new antiepileptic drugs?" Epilepsy Res 45:3-6. 2001
10. MORA A; HERNÁNDEZ M. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, "Actividad anticonvulsivante del extracto metanólico de tallo de *kalanchoe pinnata*" C.P. 91190. 2008
11. VILLAR LOPEZ M. Investigación en plantas medicinales (Rates&Salles, 2004) citado por (Provenci 2007).
12. JAVELA J. Modulación serotoninérgica de las crisis epilépticas temporales en un modelo de kindling químico, Universidad Complutense de Madrid facultad de Medicina. 2011
13. GARCÍA-ALBEA E. Epilepsia. Historia. Concepto. Síndromes epilépticos. Crisis epiléptica. Clasificación, Epidemiología, Valoración socioeconómica. Medicine. 9:4801-4805. 2007

14. CRUZ CAMPOS G, "Concepción y evolución histórica de la epilepsia en el Perú precolombino y Virreinato" Rev. Per. Neurol. Volumen 5, 1999. Citado 12/06/12. Disponible desde internet en: URL: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/neurologia/v05\\_n3/concepcion\\_evol.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/neurologia/v05_n3/concepcion_evol.htm)
15. LÓPEZ-MUÑOZ F, UCHA-UDABE R, ALAMO C, the history of barbiturates a century after their clinical introduction. Neuropsychiatr Dis Treat. 329-343. 2005
16. PÉREZ DE ALEJO J; MIRANDA R; RODRÍGUEZ G. "Actividad anticonvulsivante (antiepiléptica) del extracto fluido de *Indigofera suffruticosa* (añil cimarrón)", REV CUBANA PLANT MED 1(2):7-10, mayo-agosto. 1996. Citado 22/05/12. Disponible desde internet en: URL: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol1\\_2\\_96/pla03296.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol1_2_96/pla03296.htm)
17. GUERRERO M; GRACIA DE GARCÍA C; MENESES DE GÓNGORA Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia. 1997. Citado 03/05/12. Disponible desde internet en: URL: [www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/.../V26P7-10.pdf](http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/.../V26P7-10.pdf)
18. ARIZA S; RINCÓN J; GUERRERO M., "Efectos sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico y fracciones de *Hygrophila tytttha Leonard*", Colombia. 2006. Citado 15/05/12. Disponible desde internet en: URL: [www.quimica.unal.edu.co/publicaciones/art/122/35.../V35N1-06.pdf](http://www.quimica.unal.edu.co/publicaciones/art/122/35.../V35N1-06.pdf)
19. RODRIGUES DE ALMEIDA E; RAYANE DE OLIVEIRA R; LINDOSO G; AND MATOS A." Anxiolytic and Anticonvulsant Effects on Mice of Flavonoids, Linalool, and  $\alpha$ -Tocopherol presents in the Extract of Leaves of *Cissus sicyoides L.* (Vitaceae)", Journal of Biomedicine and Biotechnology Volume 2009, Article ID 274740, 6 pages doi:10.1155/2009/274740; 2009. Citado 22/05/12. Disponible desde internet en: URL: <http://www.hindawi.com/journals/jbb/2009/274740/>
20. NASSIRI M; SHARIATI S; ZAMANSOLTANI F., "Anticonvulsant effects of aerial parts of *passiflora incarnata* extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors", bmc complementary and alternative medicine 2007, 7:26, Iran. Citado 19/05/12. Disponible desde internet en: URL: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/7/26>

21. DEL CARPIO JIMENEZ C; SERRANO FLORES C; GIUSTI MONICA.  
Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler.  
Rev Soc Quím Perú. 75 (1) 2009
22. KULKARNI S; DHIR A. Pharmacology Division, University Institute of  
Pharmaceutical Sciences, Panjab University, " Possible involvement of L-  
arginine-nitric oxide (NO)-cyclic guanosine monophosphate (cGMP) signaling  
pathway in the antidepressant activity of berberine chloride", Pharmacology  
Division, University Institute of Pharmaceutical Sciences, Panjab University,  
Chandigarh-160014, India. 2007. Citado 18/05/12. Disponible desde internet  
en: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17585901>
23. POMILIO A.B. Anthocyanins in fruits of *Berberis buxifolia*; phytochemical  
reports, Phytochemistry, volume 12, 218-220. 1973
24. DUEÑAS MALPARTIDA, NOEMI. Botánica Fanerogámica, Investigación  
realizada en la Facultad de Biología de la UNSAAC. 1992
25. MOSTACERO J; MEJÍA F. Taxonomía de fanerógamas peruanas, Primera  
edición, Concytec, Perú. 1993
26. BRAKO L; ZARUCCHI J.L. Catalogue of the flowering plants and  
gymnosperms of Perú, Vol. 45, Missouri Botanical Garden. 1993
27. COBO BERNABÉ, Historia del Nuevo Mundo, Book V, Chapter LXIII, pag.  
501, in E. Yacovleff and Herrera F.L, El mundo vegetal de los antiguos  
peruanos, Revista del Museo Nacional, Tomo IV N° 1, 1<sup>er</sup> semestre. 1935
28. Manuales CTO 6ta Edición, Editorial: Mc graw-Hill. 2005
29. FISHER R, ET AL. Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for  
treatment of refractory epilepsy. *Epilepsia*; 51(5):899-908. 2010
30. GASTAUT H. In Collaboration with an International Group of Experts:  
Dictionary of Epilepsy. Part I: Definitions. World Health Organization, Geneva  
1973. German edition: H. Gastaut and J. Kugler: Wörterbuch der Epilepsie.  
Stuttgart, Hippokrates. 1976.
31. ENGEL J. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures  
and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and  
Terminology. *Epilepsia*. 42: 796-803. 2001
32. KARIN BORGEAUD, BORIS LEÓN, PERLA DAVID, ALVARO OTÁROLA.  
Efectos adversos (EA) clínicos más frecuentes de los fármacos antiepilepticos

- (FAE). Unidad de Neurología, Hospital Exequiel González Cortés. Año 6, N° 1, Junio de 2005. Revista chilena de epilepsia. 1:44- 49. Citado 12/06/12. Disponible desde internet en URL: [www.revistachilenadeepilepsia.cl/.../a6\\_1\\_tr\\_efecadveaclinmfrec.pdf](http://www.revistachilenadeepilepsia.cl/.../a6_1_tr_efecadveaclinmfrec.pdf)
33. SORIANO GOMIS VICTOR. Reacciones adversas cutáneas por medicamentos anticonvulsivantes. Médico Adjunto de Alergología. Hospital "Vega Baja". Orihuela (Alicante). España. 2010. at 15:56. Citado 12/06/12. Disponible desde internet en: URL: <http://mx.groups.yahoo.com/group/SindromedeStevensJohnson/message/7>
  34. DAROCA P, FONTELA JL, GARCIA JC, HOYOS M, VILLARREAL O. Manifestaciones clínicas por órganos y sistemas de las reacciones alérgicas a drogas. Ed. Luzán 5 S.A. Tratado de Alergología e Inmunología Clínica. Primera edición. Tomo VII. 75-142.
  35. HARATS N, SHALIT M. Carbamazepine induced vasculitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 50(9):1241-1243. 1987
  36. DOMINGUEZ, X. A. "Métodos de investigación fitoquímica". México. 1973
  37. ROBERTS D L, MARKS R. Skin reactions to Carbamazepine. *Arch Dermatol*, 117: 273-275. 1981
  38. ROUJEAU JC, STERN RS. Severe adverse cutaneous reactions to drugs. *N Engl J Med*, 331:1272-1285. 1994
  39. SHEAR NH, SPIELBERG SP. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: in vitro assessment of risk. *J Clin Invest*, 82: 1826-1832. 1988
  40. VELEIRO B, VIVES R, CANTÓ G, BORJA J, FERNÁNDEZ S, ROYO J, DAROCA P. Hipersensibilidad a anticonvulsionantes: reactividad cruzada con otros antocomiciales. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin*, 12 (2): 71. 1997
  41. P.R. VADEMECUM 2008. Citado 20/04/12. Disponible desde internet en: URL: <http://www.prvademecum.com/paises.php>
  42. Formulario nacional de medicamentos esenciales - Ministerio de Salud. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas; 2<sup>da</sup> Edición. Lima. Ministerio de Salud; 815 p. 2008
  43. RAMANJANEYULU R, TICKU MK. Interactions of pentamethylenetetrazole and tetrazole analogues with the picrotoxinin site of the benzodiazepine- GABA receptor-ionophore complex. *Eur J Pharmacol* 98: 337-345. 1984

44. PADOU V, BOYET S, NEHLIG A. Changes in transport of alpha-aminoisobutyric acid across the blood-brain barrier during pentylenetetrazol-induced status epilepticus in the immature rat. *Epilepsy Res.* 3:175-83. 1995.
45. VELÍSEK L, KUBOVÁ H, POHL M, STANKOVÁ L, MARES P, SCHICKEROVÁ R. Pentylenetetrazol-induced seizures in rats: An ontogenetic study. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 346: 588–591. 1992
46. HANSEN SL, SPERLING BB, SANCHEZ C. Anticonvulsant and antiepileptogenic effects of GABA<sub>A</sub> receptor ligands in pentylenetetrazole-kindled mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 28: 105–113. 2004
47. RAMANJANEYULU R, TICKU MK. Interactions of pentamethylenetetrazole and tetrazole analogues with the picrotoxinin site of the benzodiazepine-GABA receptor-ionophore complex. *Eur J Pharmacol* 98: 337–345. 1984
48. CORTEZ M. A, SNEAD III OC. Pharmacologic Models of generalized absence seizures in rodentse en: Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL (Ed.). *Models of seizures and epilepsy.* Elsevier Academic Press, pp 111-126. 2006
49. ZHAO Q, HOLMES GL. Repetitive Seizures in the Immature Brain. En: Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL (Ed.). *Models of seizures and epilepsy.* Elsevier Academic Press, p341-350. 2006.
50. MORA A; HERNÁNDEZ-MEDEL M. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, Av. Luis Castelazo Ayala s/n Col. Industrial Animas C.P. 91190. 2008
51. KUPFERBERG H. Animal models used in the screening of antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 42 (4): 7–12. 2001
52. KLAASEEN CURTIS-WATKINS, Jhon, "Fundamentos de Toxicología", editorial Mc Graw Hill Interamericana. Madrid-España. 2005.
53. LOOMIS A. TED. "Fundamentos de Toxicología", 3° edición, Editorial Acribia, Zaragoza- España. 1982
54. LORKE, DIETRICH. "Un nuevo acercamiento a la comprobación de toxicidad aguda práctica" toxicot. 1983
55. IRWIN, S; comprehensive observational assessment: A systematic quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychofarmacologia* 13(3): 222-257. 1968
56. ROUX S, SABLE E, PORSOLT RD. Primary observation (irwin) test in rodents for assessing acute of a test agent and its effects on behavior and

- physiological function. Current protocols in pharmacology. Chapter 10.wiley – interscienc. (2002)
57. DORLAND. "Diccionario Médico de Bolsillo" 27<sup>ava</sup> edición. Editorial Mac Graw Hill Interamericana. Madrid-España. 2002
  58. MASSON. Diccionario Médico, ediciones científicas y técnicas. Barcelona España. 1990
  59. VILLAR DEL FRESNO, Á. M. "*Farmacognosia General*". España. Síntesis S.A: 1999
  60. GIARDINA WJ. "Models of epilepsy: Electroshock and chemical induced convulsions in the mouse". Current protocols in pharmacology: 5.22.1 – 5.22.22. 2000.
  61. WILLIAM O. FOYEP "Principios de Químico Farmacéutico". Tomo I. Barcelona – España. Editorial Reverte S.A. 1984
  62. CYTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo). Sub-programa X. Química fina Farmacéutica. Proyecto X-1. "Búsqueda de principios bioactivos en plantas de la región". Manual de técnicas de la investigación. 1995.
  63. LOCK DE UGAZ, OLGA. "Investigación fitoquímica" 2<sup>a</sup> Edición, Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú – Lima. 1994
  64. AND SCHEFFER, IE. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia*, 51(4): 676–685. 2010
  65. ALVARADO A, J. C. "Manual de farmacología". 2<sup>a</sup> edición. Perú. Apuntes Médicos del Perú. UNMSM. Tomo I.1999
  66. ARROYO ACEVEDO, J. L; ROJAS ARMAS J. P; CHENGUAYEN FLORES, J. E. "Manual de modelos experimentales de farmacología". Lima-Perú. Editorial ASDIMOR Publicaciones. 2004
  67. BRUNETON, J. "Farmacognosia, fitoquímica de plantas medicinales". 2<sup>a</sup> edición. Zaragoza- España. Editorial Acribia S.A. 1993
  68. Diccionario Médico, Dicciones.es 2009. Citado 22/04/12. Disponible desde internet en: URL: <http://www.dicciomed.es/php/>
  69. GARCIA G., MANUEL, Diccionario Médico 2008. Citado 04/05/12. Disponible desde internet en: URL:[http://www.portalesmedicos.com/diccionario\\_medico](http://www.portalesmedicos.com/diccionario_medico)

70. KUMAR V. Potential medicinal plants for CNS disorders: an overview. *Phytother Res.*; 20(12):1023-35. 2006
71. KUPFERBERG HJ, SCHMUTZ M. "Screening of new compounds and the role of the pharmaceutical industry". En: Engel J Jr, Pedley TA, editors. *Epilepsy: A comprehensive textbook*. Philadelphia: Lippincott-Raven, p.1417-1434. 1997
72. LITTER M. "Farmacología experimental y clínica". 7ª edición. Argentina. Editorial El ateneo. 1988
73. VELÍSEK L. Models of Chemically-Induced Acute Seizures en: Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL (Ed.). *Models of seizures and epilepsy*. Elsevier Academic Press, pp127-152. 2006
74. WESTBROOK GL. Seizure and Epilepsy. In Kandel ER, Schwartz JH, T.M J, (Eds) *Principles of Neural Science*. 4th ed. McGraw-Hill, New York; 910-935. 2000
75. TESIS Y TRABAJOS DE INVESTIGACION DE LAS FACULTADES Y ESCUELAS DE FARMACIA Y BIOQUIMICA DE LAS UNIVERSIDADES DEL PERU; ABRIL DEL 2012. Citado 26/05/12. Disponible desde internet en:  
URL:<http://www.uwiener.edu.pe/portales/Farmacologia-y-Bioquimica/misionvision-.aspx>
76. WOODLEY M, WHECAN A. Manual de terapéutica médica. 8ª edición. Científicos y Técnicos I.S.A. 1993
77. VELÁSQUEZ. Farmacología Básica y Clínica. 17ª edición. Editorial Panamericana. Argentina. 2003
78. GOODMAN & GILMAN, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 9ª edición. México. Editorial Mcgraw-Hill. 2003
79. PÖLDIGNER W., Compendio de Psicofarmacología. 3ª edición. Suecia. Editorial Roche. 1972.
80. FILE, S. E. Factors controlling measures of anxiety and response to novelty in the mouse. *Behav. Brain res.* 125, 151-157 2001
81. OJALA T. Biological screening of plant coumarins. Faculty of Science of the University of Helsinki, Yliopistopaino, Helsinki. 20-21. 2001
82. FYLAKTAKIDOU KC, HADJIPAVLOU-LITINA DJ, LITINAS KE, NICOLAIDES DN. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory / antioxidant activities. *Curr. Pharm. Des.* 10 (30): 3813-3833. 2004



83. APSELOFF G, HILLIARD JB, GERBER N, MAYS DC. Inhibition and induction of drug metabolism by psoralens: alterations in duration of sleep induced by hexobarbital and in clearance of caffeine and hexobarbital in mice. *Xenobiotica*; 21(11):1461-1471. 1991
84. BARREIRO-ARCOS ML, CREMASCHI G, WERNER S, COUSSIO J, FERRARO G, ANESINI C. *Tilia cordata* Mill extracts and scopoletin (isolated compound): differential cell growth effects on lymphocytes. *Phytother Res.*; 20(1):34-40. 2006
85. CHEN Y, KONG LD, XIA X, KUNG HF, ZHANG L. Behavioral and biochemical studies of total furocoumarins from seeds of *Psoralea corylifolia* in the forced swimming test in mice. *J Ethnopharmacol.*; 15; 96 (3):451-459. 2005
86. HOWES M, PERRY N, HOUGHTON P. Plants with traditional uses and activities relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Phytotherapy Res.* 17: 1-18. 2003
87. COWAN MM. Plants products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 564-582. 1999
88. PENG, W., WU, C., CHEN, C., CHEN, C., LEU, Z., HSIEH, T. Anxiolytic effect of berberine on exploratory activity of the mouse in two experimental anxiety models: interaction with drugs acting at 5-HT receptors. *Life Sciences* 75, 2451-2462. 2004
89. ROSELL H, PEREZ D., "Efecto del extracto etanólico al 70% de *Physalis peruviana* L. (Aguaimanto) sobre la conducta en ratones Balb/c/CNPB, en la prueba de laberinto Cruz elevado y tiempo de sueño inducido por pentobarbital sódica". 2012.
90. RUIZ A; GARCIA F; MANCILLA P., y CASTAÑEDA B., "Evaluación de la actividad anticonvulsivante y toxicidad aguda del extracto acuoso en cocimiento de *mansoa alliacea* (ajos sachá) en ratones.", *Revista del cuerpo médico* 26, 1. 2011
91. RUEDA MILACHAY L. "Acción Anticonvulsivante de la Hoja de *Euphorbia Peplus* en ratones Albinos". Tesis para optar el grado académico de Magister en Farmacología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 2000.
92. HANRAHAN RJ, CHEBIB M, Johnston ARG. Flavonoid modulation of GABA A receptors. *BritJ Pharmacol* 2011;163:234-245.

93. DÉCIGA CAMPOS M; RIVERO CRUZ; ARRIAGA ALBA M; CASTAÑEDA  
CORRAL G; ANGELES LÓPEZ G.E; NAVERRETE A; MATA R. 2007. Acute  
toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in tradicional medicine.  
J. Ethnopharmacol 110: 334-342

# **ANEXOS**

## ANEXO N° 1.

### IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA DE LA PLANTA EN ESTUDIO

#### UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- APARTADO POSTAL  
N° 921 - Cusco - Perú
- FAX: 238156 - 238173 - 222512
- RECTORADO  
Calle Tigre N° 127  
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398
- CIUDAD UNIVERSITARIA  
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210  
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- LOCAL CENTRAL  
Plaza de Armas s/n  
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- MUSEO INCA  
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA  
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"  
Av. De la Cultura N° 721  
"Estudio Universitario" - Teléfono: 227192

#### EL QUE SUSCRIBE, PROFESOR INVESTIGADOR ASOCIADO AL HERBARIO VARGAS (CUZ).

#### CERTIFICA:

Que la señorita, **Dianira Acuña Solis** y el Señor **Braulio Cusi Luza**, Bachilleres de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Físicas, Químicas Farmacia e Informática de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, han solicitado a la Dirección del Herbario (CUZ), la determinación taxonómica de una especie vegetal, la misma al ser diagnosticada utilizando bibliografía especializada y muestras del Herbario, corresponde a la especie: *Berberis boliviana*, cuya posición taxonómica de acuerdo al Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group, APG III (2009), es la siguiente:

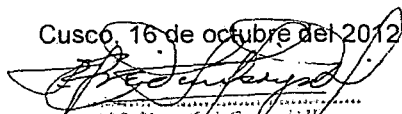
División : Magnoliophyta (= Angiospermas)  
Clase : Magnoliopsida =Tricolpados  
(Eudicotiledoneas)  
Subclase : Magnolidae  
Orden : Ranunculales  
Familia :Berberidaceae  
Género :*Berberis*  
Especie :*Berberis boliviana* Lechler

**Sinonimias:** *Berberis conferta* var. *boliviana* (Lechler) C. Schneider

**Nombres comunes:** "ch'ecche", "q'eshua checche", "agracejo peruano"

Se expide la presente certificación, para fines que vieran por conveniente los interesados.



Cusco, 16 de octubre del 2012



Dr. Carlos Vargas  
Prof. Investigador Asociado al Herbario Vargas (CUZ)

## ANEXO Nº 2

### CERTIFICADO SANITARIO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN EMITIDO POR EL BIOTERIO DEL INS

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO
<b>CERTIFICADO SANITARIO Nº</b> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">017-2013</span>	
Producto : Ratón albino	Lote Nº : M-04 -2013
Especie : <u>Mus musculus</u>	Cantidad : 60
Cepa : Balb/c/CNPB	Edad : 1 mes ½
Peso : Mayor a 25 gr.	Sexo : Hembras
G.R. Nº : 027059	Destino : Cusi Luza, Braulio Cuzco
: 25-01-2013	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, <b>Arturo Rosales Fernández</b>. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias * .</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p>	
Chorrillos, 25 de Enero del 2013	
<p><b>NOTA</b> : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>	 ..... M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586

### ANEXO Nº 3.

## FICHA DE SEGURIDAD DEL REACTIVO (PENTILENTETRAZOL)

# SIGMA-ALDRICH

*sigma-aldrich.com*

## FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.0 Fecha de revisión 12.10.2012

Fecha de impresión 04.12.2012

GENERIC EU MSDS - NO COUNTRY SPECIFIC DATA - NO OEL DATA

### 1. IDENTIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA O LA MEZCLA Y DE LA SOCIEDAD O LA EMPRESA

#### 1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : **Pentylene tetrazole**

Referencia : P6500

Marca : Sigma

No. CAS : 54-95-5

#### 1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

#### 1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich  
3050 Spruce Street  
SAINT LOUIS MO 63103  
USA

Teléfono : +1 800-325-5832

Fax : +1 800-325-5052

#### 1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : (314) 776-6555

### 2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

#### 2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

**Clasificación de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008 [UE-GHS/CLP]**

Toxicidad aguda, Oral (Categoría 3)

Irritación cutánea (Categoría 2)

Irritación ocular (Categoría 2)

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única (Categoría 3)

**Clasificación de acuerdo con las Directivas de la UE 67/548/CEE ó 1999/45/CE**

Tóxico por ingestión. Irrita los ojos, la piel y las vías respiratorias.

#### 2.2 Elementos de la etiqueta

**Etiquetado de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008 [UE-GHS/CLP]**

Pictograma



Palabra de advertencia : Peligro

Indicación(es) de peligro

H301

Tóxico en caso de ingestión.

H315

Provoca irritación cutánea.

H319

Provoca irritación ocular grave.

H335

Puede irritar las vías respiratorias.

Declaración(es) de prudencia

P261

Evitar respirar el polvo/ el humo/ el gas/ la niebla/ los vapores/ el aerosol.

P301 + P310

EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.

P305 + P351 + P338

EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto

cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

Declaración Suplementaria del Peligro ninguno(a)

De acuerdo con la Directiva Europea 67/548/CEE, y sus enmiendas.

Símbolo(s) de peligrosidad



Frase(s) - R

R25

R36/37/38

Tóxico por ingestión.

Irrita los ojos, la piel y las vías respiratorias.

Frase(s) - S

S45

En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstresele la etiqueta).

S26

En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

S36/37/39

Úsense indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

### 2.3 Otros Peligros - ninguno(a)

## 3. COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES

### 3.1 Sustancias

Sinónimos

: 1,5-Pentamethylenetetrazole  
Metrazole  
6,7,8,9-Tetrahydro-5H-tetrazolo[1,5-a]azepine  
 $\alpha,\beta$ -Cyclopentamethylenetetrazole

Formula

:  $C_6H_{10}N_4$

Peso molecular

: 138,17 g/mol

Componente	Concentración
<b>Pentetrazol</b>	
No. CAS	54-95-5
No. CE	200-219-3

## 4. PRIMEROS AUXILIOS

### 4.1 Descripción de los primeros auxilios

#### Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

#### Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

#### En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Llevar al afectado en seguida a un hospital. Consultar a un médico.

#### En caso de contacto con los ojos

Lávese a fondo con agua abundante durante 15 minutos por lo menos y consulte al médico.

#### Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

### 4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Estimulación del SNC, Convulsiones

- 4.3 **Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente**  
sin datos disponibles

---

## 5. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIOS

### 5.1 Medios de extinción

#### Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

### 5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Óxidos de carbono, óxidos de nitrógeno (NOx)

### 5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

### 5.4 Otros datos

sin datos disponibles

---

## 6. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

### 6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Usar protección respiratoria. Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Evacuar el personal a zonas seguras. Evitar respirar el polvo.

### 6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

### 6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Recoger y preparar la eliminación sin originar polvo. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

### 6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

---

## 7. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

### 7.1 Precauciones para una manipulación segura

Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evítese la formación de polvo y aerosoles.

Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo. Disposiciones normales de protección preventivas de incendio.

### 7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Temperatura de almacenaje recomendada: -20 °C

### 7.3 Usos específicos finales

sin datos disponibles

---

## 8. CONTROLES DE EXPOSICIÓN/ PROTECCIÓN INDIVIDUAL

### 8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

### 8.2 Controles de la exposición

#### Controles técnicos apropiados

Evitar el contacto con la piel, ojos y ropa. Lávense las manos antes de los descansos e inmediatamente después de manipular la sustancia.



## Protección personal

### Protección de los ojos/ la cara

Caretas de protección y gafas de seguridad. Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

### Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser controlados antes de la utilización. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

### Protección Corporal

Traje de protección completo contra productos químicos, El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

### Protección respiratoria

Donde el asesoramiento de riesgo muestre que los respiradores purificadores de aire son apropiados, usar un respirador que cubra toda la cara tipo N99 (EEUU) o tipo P2 (EN 143) y cartuchos de respuesto para controles de ingeniería. Si el respirador es la única protección, usar un respirador suministrado que cubra toda la cara Usar respiradores y componenetes testados y aprobados bajo los estandards gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

---

## 9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

### 9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

- |  |  |
|--|--|
| a) Aspecto   | Forma: cristalino                            |
| b) Olor  | sin datos disponibles                        |
| c) Umbral olfativo                                       | sin datos disponibles                        |
| d) pH  | sin datos disponibles                        |
| e) Punto de fusión/ punto de congelación                 | Punto/intervalo de fusión: 59 - 61 °C - lit. |
| f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición | 194 °C a 16 hPa - lit.                       |
| g) Punto de inflamación                                  | sin datos disponibles                        |
| h) Tasa de evaporación                                   | sin datos disponibles                        |
| i) Inflamabilidad (sólido, gas)                          | sin datos disponibles                        |
| j) Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos | sin datos disponibles                        |
| k) Presión de vapor                                      | sin datos disponibles                        |
| l) Densidad de vapor                                     | sin datos disponibles                        |
| m) Densidad relativa                                     | sin datos disponibles                        |
| n) Solubilidad en agua                                   | sin datos disponibles                        |
| o) Coeficiente de reparto n-octanol/agua                 | sin datos disponibles                        |
| p) Temperatura de auto-inflamación                       | sin datos disponibles                        |
| q) Temperatura de  | sin datos disponibles                        |

descomposición

- r) Viscosidad sin datos disponibles
- s) Propiedades explosivas sin datos disponibles
- t) Propiedades comburentes sin datos disponibles

**9.2 Otra información de seguridad**  
sin datos disponibles

---

**10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD**

**10.1 Reactividad**

sin datos disponibles

**10.2 Estabilidad química**

sin datos disponibles

**10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas**

sin datos disponibles

**10.4 Condiciones que deben evitarse**

sin datos disponibles

**10.5 Materiales incompatibles**

Agentes oxidantes fuertes, Ácidos fuertes

**10.6 Productos de descomposición peligrosos**

Otros productos de descomposición peligrosos - sin datos disponibles

---

**11. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA**

**11.1 Información sobre los efectos toxicológicos**

**Toxicidad aguda**

DL50 Oral - rata - 140 mg/kg

Observaciones: Conducta: Convulsiones o efectos en el umbral de colapso.

**Corrosión o irritación cutáneas**

sin datos disponibles

**Lesiones o irritación ocular graves**

sin datos disponibles

**Sensibilización respiratoria o cutánea**

sin datos disponibles

**Mutagenicidad en células germinales**

sin datos disponibles

**Carcinogenicidad**

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

**Toxicidad para la reproducción**

sin datos disponibles

**Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única**

Inhalación - Puede irritar las vías respiratorias.

**Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas**

sin datos disponibles

**Peligro de aspiración**

sin datos disponibles

**Efectos potenciales sobre la salud**



**15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla**  
sin datos disponibles

**15.2 Evaluación de la seguridad química**  
sin datos disponibles

---

**16. OTRA INFORMACIÓN**

**Otros datos**

Copyright 2012 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a [www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com) y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

---

#### ANEXO Nº 4.

##### FICHA DE RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL *Berberis boliviana* Lechler

- **NOMBRE COMÚN:** Ch'eqche
- **SINÓNIMOS:** Qeswa Ch'eqche, Agracejo peruano, Ailampo, Uva – uva, Quiscaquisca.
- **TIPO:** Hoja, tallo
- **FAMILIA:** Berberidaceae
- **GENERO:** Berberis
- **ESPECIE:** *boliviana* Lechler
- **DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA:** Vegetal espontáneo que crece entre matorrales de alturas, climas fríos de preferencia en zonas templadas en laderas y montañas.
- **CARACTERÍSTICA PRINCIPAL:** Hojas fasciculadas de 12 mm de longitud y 5 mm de ancho, reticuladas, venación sobre ambos lados, sésiles o subsésiles de una coloración verde.
- **DESCRIPCIÓN GENERAL:** Plantas herbáceas o arbustivas inermes o espinosas, con rizomas arrastrados o gruesos tubérculos, pueden alcanzar de 1 a 2 metros de altura, siendo raro que sean más altas pero pueden ser más bajas.
- **LUGAR DE RECOLECCIÓN:**
  - Departamento : Cusco
  - Provincia : Quispicanchi
  - Distrito : Oropesa
  - Altitud : 3110 m.
  - Determinado por
    - Arbol ( )
    - Arbusto (x)
    - herbácea ( )

Colectores: Dianira Acuña Solís, Braulio Cusi Luza

Fecha: / /2012

**OBSERVACIONES**.....  
.....

**ANEXO N° 5.**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD**

	NÚMERO DE DETERMINACIONES		
	1	2	3
<b>Peso de muestra fresca</b>			
<b>Peso de muestra seca</b>			
<b>Porcentaje de humedad</b>			
<b>Porcentaje promedio de humedad</b>			

**FUENTE:** Elaboración propia

**ANEXO N° 6.**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD**

<b>SOLVENTE</b>	<b>SOLUBILIDAD A T° AMBIENTE</b>
Cloruro de sodio 0,9%	
Agua destilada	
Etanol al 40%	
Etanol al 50%	
Etanol al 70%	
Etanol al 90%	
Metanol 99,95%	
Acetato de etilo 99,94%	
Acetona 99,5%	
Cloroformo 99,5%	
Éter etílico 99,95%	
Hexano 92,0%	
Tolueno 99,5%	

**FUENTE: Elaboración Propia**

**LEYENDA:**

- ++ : Totalmente Soluble.**
- + - : Parcialmente soluble.**
- - : Insoluble.**

## ANEXO N° 7.

### **PRUEBAS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO (63).**

#### **1. DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES: PRUEBA DE BENEDICT**

A 0,5 ml de solución de extracto agregar 0,2 ml del reactivo de Benedict, calentar en baño a ebullición por 5 minutos y se deja enfriar. La formación de un precipitado de color rojo ladrillo indica prueba positiva.

*Reactivo de Benedict:*

*Disolver 1,73 g de sulfato de cobre pentahidratado, 17,3 g de citrato de sodio y 10 g de carbonato de sodio anhidro en 100 ml de agua destilada.*

#### **2. DETERMINACIÓN GLICÓSIDOS**

A 200 mg de extracto se le agrega 2 ml de HCL al 1%, calentar por 5 minutos, enfriar y neutralizar con NaOH al 1%, luego tratar con carbón activado y filtrar, con porciones de 0,5 ml de la solución, realizar la prueba de benedict la formación de un precipitado rojo ladrillo, indica prueba positiva.

#### **3. DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS: PRUEBA DE NINHIDRINA**

A 0,5 ml de extracto acidificarlo con HCL al 1%, agregar 2 a 3 gotas de la solución de ninhidrina al 1% calentar por 5 minutos en baño de agua a ebullición. Las coloraciones rojizas, violetas o amarillas indican prueba positiva.

#### **4. DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES**

##### **a. REACCIÓN DE SHINODA**

A 0,5 ml de extracto, agregar algunas limaduras de magnesio metálico más 2 a 3 gotas de HCL concentrado, indican prueba positiva coloraciones.

Amarillo a Rojo : Flavonas.

Rojo a Magenta : Flavanoles.

Rojo, magenta, violeta, azul : Flavanonas.

Amarillo : Isoflavonas.

Isoflavanonas, chalconas y auronas no da coloración, por consiguiente no dan prueba positiva.



## **b. PRUEBA DE AMONIACO**

A una pequeña porción de papel filtro dejar caer de 1 a 2 gotas de extracto, observar el color y la fluorescencia a la luz UV, exponer a vapores de amoniaco y observar el cambio de color producido fuera y dentro de la lámpara UV. Es positiva la fluorescencia o cambio de color dependiendo del tipo de flavonoide que pueden ser:

Amarillo	: Flavonas, flavonoles y Xantonas.
Amarillo a rojo	: Chalconas y auronas.
Anaranjado	: Dihidroflavonoles.
Incoloro-anaranjado	: Dihidroflavonas.
Azul	: Antocianinas

## **5. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS**

A 0,5 ml de extracto agregar 1 a 2 gotas de cloruro férrico al 1% en solución acuosa. La presencia de precipitados o coloraciones azuladas - verdosas indican prueba positiva.

## **6. DETERMINACIÓN DE QUINONAS**

A 0,2 ml de extracto agregar 0,4 ml de ácido sulfúrico concentrado, coloraciones rojizas indican prueba positiva.

## **7. DETERMINACIÓN DE RESINAS**

A 0,2 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas del reactivo acetato de cobre. Una coloración verde esmeralda indica prueba positiva.

## **8. DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES**

Para realizar las pruebas; solubilizar 0,5 g de extracto con HCL al 5%, filtrar y finalmente se realiza el siguiente ensayo:

### **REACCIÓN DE DRAGENDORFF**

A 0,5 ml de la solución ácida agregar 2 a 3 gotas del reactivo de dragendorff. La formación de un precipitado naranja o marrón, indica presencia de alcaloides.

## **9. DETERMINACIÓN DE TANINOS**

A 0,5 ml de extracto adicionar 2 a 3 gotas de cloruro férrico al 1%, la aparición de coloración o formación de precipitado indica que la prueba es positiva.

La coloración azul oscuro indica presencia de taninos gálicos y una coloración verde la presencia de taninos catequicos.

## **10. DETERMINACIÓN DE SAPONINAS: PRUEBA DE ESPUMA**

Aproximadamente 0,1 g del extracto se solubiliza en 5 ml de agua o en 5 ml de etanol al 40%, filtrar si es necesario, el filtrado agitar vigorosamente por 30 segundos. La formación de espuma persiste por 30 minutos, indica la presencia de saponinas.

## **11. DETERMINACIÓN DE LACTONAS**

A 2 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de reactivo de Baljet (mezcla A y B en volúmenes iguales); una coloración naranja o rojo oscuro indicara prueba positiva.

Reactivo de Baljet:

Reactivo A: Acido pícrico al 1% en etanol.

Reactivo B: Hidróxido de potasio al 10%.

## **12. DETERMINACIÓN DE CUMARINAS :**

### **a. PRUEBA DE HIDRÓXIDO DE SODIO**

En un tubo de ensayo agregar 0,2 g de extracto y añadir 2 ml de agua destilada, cubrir el tubo con papel filtro humedecido con hidróxido de sodio al 10% y mantener en baño de agua a ebullición por varios minutos, luego exponer el papel a la luz UV. Es positiva la aparición de una fluorescencia amarilla verdosa o azul (cumarinas volátiles).

### **b. PRUEBA DE BALJET**

A 0,5 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de Reactivo de Baljet. Es positivo coloraciones naranja a rojo oscuro.

**ANEXO N° 8.**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO**

<b>METABOLITO SECUNDARIO</b>	<b>REACTIVO</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>Azúcares reductores</b>	<i>Benedict</i>	
<b>Glicósidos</b>	<i>Benedict</i>	
<b>Aminoácidos</b>	<i>Ninhidrina</i>	
<b>Flavonoides</b>	<i>Shinoda</i>	
	<i>Amoniaco</i>	
<b>Compuestos Fenólicos</b>	<i>Cloruro férrico</i>	
<b>Alcaloides</b>	<i>Dragendorff</i>	
<b>Taninos</b>	<i>Cloruro férrico</i>	
<b>Saponinas</b>	<i>Prueba de espuma</i>	
<b>Cumarinas</b>	<i>Hidróxido de Sodio</i>	
	<i>Bajet</i>	
<b>Quinonas</b>	<i>Bomtrager</i>	
<b>Resinas</b>	<i>Acetato de cobre 1%</i>	
<b>Lactonas</b>	<i>Bajet</i>	

**Fuente:** Elaboración propia

**Leyenda:**

Abundante cantidad : ++

Moderada cantidad : +-

Ausencia : --

## ANEXO Nº 9.

### PROTOCOLO DE LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE

#### ACTIVIDAD SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

- Polidonger, W. Compendio de Psicofarmacoterapia. Basilea: Suiza, Roche, 3a. edición, pp 43-49 (1984).

#### ANTICONVULSIVANTES

##### Introducción

La máxima estimulación del Sistema Nervioso Central es la convulsión. Las convulsiones pueden ser inducidas por descargas eléctricas transcraneanas, que se aplican a los ratones por medio de electrodos colocados en las orejas, o también se pueden provocar convulsiones mediante la inyección de compuestos químicos como el pentilentetrazol o la estriquina.

##### Objetivo.

Evaluar el efecto protector de algunos fármacos sobre las convulsiones producidas por aplicación de estimulación eléctrica o química.

##### Estímulo Eléctrico

- Se administran los patrones anticonvulsivantes y los compuestos de ensayo antes de la aplicación del estímulo.
- Se aplica una descarga eléctrica a los animales, colocándose los electrodos en las orejas, de acuerdo a la clase de convulsión que se pueda producir (ver cuadro No. 1).
- Se observa cuáles fueron protegidos y cuáles no.

##### Estímulo Químico

- Se pesan y marcan los ratones.
- Se administran los patrones y los compuestos de prueba. Se espera el tiempo de absorción.
- Se aplican por vía I.P. 85 mg/kg de pentilentetrazol y/o 2 mg/kg de nitrato de estriquina. Se observa si aparecen o no las convulsiones.

ACTIVIDAD SOBRE EL  
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Cuadro No. 1

Métodos de producción de convulsiones. Características de cada umbral

Umbral	Clase de Convulsión (miem. posterior)	Método	Parámetro de Protección
Mínimo	Convulsiones clónicas	PTZ 85 mg/kg S.C.	Ausencia de convulsiones clónicas mayores de 3 seg. Tiempo observación: 30 min.
		-Electroshock: corriente al- terna de 60 Hz. tiempo e intensidad para producir convulsión clónica.	Ausencia de convulsiones clónicas. El animal trata de huir.
Máximo	Convulsión clónico-tónica extensora clónicas	PTZ 125 mg/kg S.C.	Abolición de convulsiones extensora de miembros posteriores y ausencia de clónicas mayores a 3 seg.
		Electroshock: corriente alterna de 60 Hz. Tiempo e intensidad adecuadas	Abolición de convulsión extensora de miembros posteriores.
Supra- máximo	Convulsión tónico- flexora - extensora clónicas	PTZ 175 mg/kg I.V.	Abolición de convulsión extensora de miembros posteriores y ausencia de clónicas mayores a 3 seg.
		Electroshock: corriente alterna de 60 Hz. Tiempo e intensidad adecuadas	Abolición de convulsión extensora de miembros posteriores.

FUENTE: CYTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo)

ACTIVIDAD SOBRE EL  
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

se considera cataléptico y se califica como 1. Si permanece 29 o 30 segundos presenta catalepsia parcial y se califica como 0.5. Si no se mantiene no presenta catalepsia y se califica como 0.

9. ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE: ANTAGONISMO  
FRENTE AL PENTAMETILENTETRAZOL

Se pueden utilizar diferentes métodos para provocar en los animales de experimentación convulsiones que reproduzcan una sintomatología semejante a la de la epilepsia. Los métodos más importantes son los que inducen las convulsiones por estimulación eléctrica, por la administración de sustancias químicas o por la implantación de material irritante bajo el córtex cerebral. Se ha utilizado un método de inducción de las convulsiones por la administración de una sustancia química, el Pentametilentetrazol.

Descripción de la técnica (De Angelis 1979)

Se utilizan lotes de seis ratones machos a los que se les administra intraperitonealmente 5 mg/kg de suero fisiológico, productos en estudio y patrones (excepto Haloperidol que se usa a una dosis de 1 mg/kg). Transcurridos 30 minutos se inyecta por la misma vía 100 mg/kg de Pentametilentetrazol y se colocan en compartimientos individuales de vidrio para una mejor observación. A continuación se anota el tiempo al que aparecen las convulsiones (periodo de latencia, t<sub>1</sub>), el tiempo al que se produce la extensión tónica de los miembros traseros (t<sub>2</sub>) y la supervivencia.

FUENTE: CYTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo)

**ANEXO N°10.**

**TEST DE IRWIN PARA LA EVALUACIÓN DEL PERFIL NEUROLÓGICO DEL  
EXTRACTO ACUOSO DE LAS PARTES AÉREAS DE *Berberis boliviana*  
*Lechler* (C'heqche) ADMINISTRADO POR V.I.P.**

T de respuesta (min)	SIGNO NORMAL	Dosis del extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> L. (C'heqche) al 100%								BLANCO agua estéril			
		5	10	15...	120	5	10	15...	120	5	10	15...	120
<b>Parámetros</b>													
<b>ESTADO DE VIGILIA</b>													
<i>Estereotipia</i>													
<b>COMPORTAMIENTO</b>													
<i>Miedo</i>													
<b>↑ SNC</b>													
<i>Convulsiones</i>													
<i>Temblores</i>													
<i>Cola de Straub</i>													
<i>Excitación</i>													
<i>Salto</i>													
<i>Contracciones de cabeza</i>													
<i>Tasa de respiración</i>													
<b>↓ SNC</b>													
<i>Sedación</i>													
<i>Pérdida del equilibrio</i>													
<i>Incoordinación motora</i>													
<i>Acinesia</i>													
<i>Catalepsia</i>													
<i>Tasa de respiración</i>													
<i>Analgesia</i>													
<i>Marcha anormal</i>													
<b>SIGNOS AUTONÓMICOS</b>													
<i>Retorcimientos</i>													
<i>Piloerección</i>													
<i>Salivación</i>													
<i>Defecación</i>													
<i>Tasa de respiración</i>													
<b>EFECTOS OCULARES</b>													
<i>Ptosis</i>													
<i>Exoftalmos</i>													
<i>Pérdida del reflejo corneal</i>													
<i>Lagrimeo</i>													
<b>TONO MUSCULAR</b>													
<i>Pérdida de aprensión</i>													
<i>Pérdida de tracción</i>													
<i>Tono abdominal</i>													
<b>REFLEJOS</b>													
<i>Reactividad al tacto</i>													
<i>Enderezamiento</i>													
<b>OBSERVACIONES DÉRMICAS</b>													
<i>Palidez</i>													
<i>Cianosis</i>													
<b>MUERTE</b>													
<i>Letalidad</i>													

Legenda: +: Presencia y/o leve incremento. N : Normal. -: Ausencia y/o leve disminución.

## ANEXO N°11.

### **MEDICIONES FISIOLÓGICAS Y CONDUCTUALES EVALUADAS EN EL TEST DE IRWIN (Modificado de ROUX *et al.*, 2003.)**

<b>SIGNOS</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
<b>LETALIDAD</b>	Presencia (+)
<b>CONVULSIONES</b>	Presencia (+)
<b>TEMBLORES</b>	Presencia (+): todo el cuerpo del animal tiembla.
<b>COLA DE STRAUB</b>	Presencia (+): la cola adquiere forma de arco en posición vertical.
<b>SEDACIÓN</b>	Presencia (+), con 3 intensidades: intensidad 1: después de quitar la tapa de la jaula y de manipulación, los animales se mueven más lentamente que el control; intensidad 2: en las mismas condiciones, los animales se mueven muy lentamente; intensidad 3: en las mismas condiciones, los animales no se mueven.
<b>EXCITACIÓN</b>	Presencia (+), con 3 intensidades: intensidad 1: después de quitar la tapa de la jaula y de manipulación, los animales son un poco más activo que el control; intensidad 2: en las mismas condiciones, los animales se mueven rápidamente (con pausas); intensidad 3: en las mismas condiciones, los animales se mueven muy rápidamente (sin pausas).
<b>MARCHA ANORMAL</b>	Presencia (+)
<b>SALTOS</b>	Presencia (+)
<b>PÉRDIDA DEL EQUILIBRIO</b>	Presencia (+): los animales caen de costado al caminar.
<b>INCOORDINACIÓN MOTORA</b>	Presencia (+): locomoción desorganizada.
<b>RETORCIMIENTO</b>	Presencia (+): estiramiento de las extremidades traseras, con los flancos huecos (visualmente aparentes movimientos abdominales).
<b>PILOERECCIÓN</b>	Presencia (+)
<b>ESTEREOTIPIAS</b>	Presencia (+): movimientos repetidos anormales en comparación con el control (indicar si el animal se dedica a oler, masticar o a realizar movimientos de la cabeza).



**CONTRACCIONES DE CABEZA** Presencia (+): sacudidas súbitas (sacádicos) de la cabeza.

**TASA DE RESPIRACIÓN** Incremento (+) o disminución (-): La tasa de respiración es comparada con el grupo control. Esta es solo una observación subjetiva y es únicamente anotada cuando es claramente observada.

**AGRESIVIDAD** Presencia (+): muerde en respuesta a un golpe suave hacia la cabeza con la pluma un bolígrafo.

**MIEDO** Incremento (+) o disminución (-): se realiza un "snap" por encima de la jaula: la reacción del animal (retroceso, saltos, etc.) se compara con el control.

**REACTIVIDAD AL TACTO** Incremento (+) o disminución (-): la reacción de escape a la presión con los dedos sobre las patas traseras, se compara con el control.

**TONO ABDOMINAL** Incremento (+) o disminución (-): La dureza o la suavidad de las paredes del estómago cuando se presiona lateralmente entre dedo índice y el pulgar.

**PÉRDIDA DEL REFLEJO DE ENDEREZAMIENTO** Presencia (+): incapacidad del animal a erguirse por sí mismo después de su puesta de espaldas.

**PTOSIS** Presencia (+): párpados parcial o totalmente cerrados.

**EXOFTALMOS** Presencia (+): protrusión de los globos oculares.

**PÉRDIDA DE LA FUERZA DE APREHENSIÓN** Presencia (+): puesto en una malla de alambre horizontal, los animales no pueden mantenerse sobre ella cuando son rápidamente arrastrado por la cola.

**ACINESIA** Presencia (+): al situar una malla de alambre en la cabeza con un ángulo de aproximadamente 30° respecto a la horizontal, el animal no se mueven de forma espontánea.

**CATALEPSIA** Presencia (+): colocado una postura erguida sobre sus patas traseras (posición de Buda), el animal no se mueve.

<b>PÉRDIDA DE TRACCIÓN</b>	Presencia (+): el animal suspendido en una barra horizontal por las patas delanteras no poner sus patas traseras sobre la barra en un plazo de 5 seg., se repite por 3 veces para estar seguro.
<b>PÉRDIDA DEL REFLEJO CORNEAL</b>	Presencia (+): en los animales no se cierra completamente los ojos cuando se les toca con un bolígrafo en los ojos.
<b>ANALGESIA</b>	Presencia (+): el animal no reacciona (por ejemplo, orientándose hacia las pinzas, vocalización) cuando se pellizca en la base de la cola con pinzas.
<b>DEFECACIÓN</b>	Presencia (+)
<b>SALIVACIÓN</b>	Presencia (+): humedad visible alrededor de la boca.
<b>LAGRIMEO</b>	Presencia (+): humedad visible alrededor de los ojos.
<b>PALIDEZ</b>	Presencia (+)
<b>CIANOSIS</b>	Presencia (+)

## ANEXO N° 12

### PERÍODO DE LATENCIA PARA LA PRIMERA CONVULSION DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DEL PENTILENTETRAZOL

GRUPO DE ADMINISTRACIÓN	TRATAMIENTO	Ratón	Período de Latencia (Min.)	Promedio del período de Latencia
Grupo 1	Control Agua estéril para inyección 10 ml/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 2	Diazepam 1 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 3	<i>Berberis boliviana L.</i> 400 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 4	<i>Berberis boliviana L.</i> 800 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 5	<i>Berberis boliviana L.</i> 1200 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO N° 13.**

**NÚMERO DE CONVULSIONES TIPO CLÓNICAS QUE DURAN POR LO MENOS 3  
SEGUNDOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DEL PENTILENTETRAZOL**

<b>GRUPO DE ADMINISTRACIÓN</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Ratón</b>	<b>Nro. de convulsiones duración mínima de 3 seg.</b>	<b>Promedio del Nro. de convulsiones duración mínima de 3 seg</b>
Grupo 1	Control Agua estéril para inyección 10 ml/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 2	Diazepam 1 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 3	<i>Berberis boliviana</i> L. 400 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 4	<i>Berberis boliviana</i> L. 800 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 5	<i>Berberis boliviana</i> L. 1200 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO N° 14.**

**TIEMPO DE DURACIÓN DE LA CONVULSIONES CLÓNICAS DESPUÉS DE LA  
ADMINISTRACIÓN DEL PENTILENTETRAZOL**

<b>GRUPO DE ADMINISTRACIÓN</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Ratón</b>	<b>Duración de las convulsiones (seg.)</b>	<b>Duración promedio de las convulsiones (seg.)</b>
Grupo 1	Control Agua estéril para inyección 10 ml/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 2	Diazepam 1 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 3	<i>Berberis boliviana L.</i> 400 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 4	<i>Berberis boliviana L.</i> 800 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		
Grupo 5	<i>Berberis boliviana L.</i> 1200 mg/kg	1		
		2		
		3		
		4		
		5		
		6		

**Fuente: Elaboración propia**

**ANEXO N° 15.**

**EVALUACIÓN DE LA MORTALIDAD DESPUÉS DE ADMINISTRAR PENTILENTETRAZOL**

GRUPO DE ADMINISTRACIÓN	TRATAMIENTO	Ratón	Mortalidad	Frecuencia	
				Muere	Sobrevive
Grupo 1	Control Agua estéril para inyección 10 ml/kg	1			
		2			
		3			
		4			
		5			
		6			
Grupo 2	Diazepam 1 mg/kg	1			
		2			
		3			
		4			
		5			
		6			
Grupo 3	<i>Berberis boliviana</i> L. 400 mg/kg	1			
		2			
		3			
		4			
		5			
		6			
Grupo 4	<i>Berberis boliviana</i> L. 800 mg/kg	1			
		2			
		3			
		4			
		5			
		6			
Grupo 5	<i>Berberis boliviana</i> L. 1200 mg/kg	1			
		2			
		3			
		4			
		5			
		6			

**Leyenda:**

**M : Muere**

**SV : Sobrevive**

**Fuente: Elaboración propia**

**ANEXO N° 16.**

**DIFERENTES DOSIS PARA DETERMINAR LA TOXICIDAD AGUDA POR EL  
MÉTODO DE LORKE**

<b>REGISTRO DE LA MORTALIDAD</b>	<b>PRIMERA ETAPA</b> Dosis mg/kg por peso (tres ratones por lote)			<b>SEGUNDA ETAPA</b> Dosis mg/kg de peso (un ratón por lote)			
	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>1000</b>				
	0/3*	0/3	0/3	--	1600	2900	5000
	0/3	0/3	1/3	600	1000**	1600	2900
	0/3	0/3	2/3	200	400	800	1600
	0/3	0/3	3/3	140	225	370	600
	0/3	1/3	3/3	50	100**	200	400
	0/3	2/3	3/3	20	40	80	160
	0/3	3/3	3/3	15	25	40	60
	1/3	3/3	3/3	5	10**	20	40
2/3	3/3	3/3	2	4	8	16	
3/3	3/3	3/3	1	2	4	8	

\*Número de animales que mueren/ número de animales empleados.

\*\*Los resultados del primer test son considerados para estas dosis.

FUENTE: Lorke 1983

**ANEXO N° 17.**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA TOXICIDAD AGUDA POR MÉTODO DE LORKE**

SUSTANCIA	PRIMERA FASE		
	Dosis (mg/kg)	Mortalidad en 24 hs	Observaciones
Extracto acuoso de las partes aéreas de <i>Berberis boliviana</i> Lechler (Ch'eqche)	10	0/3	
	100	0/3	
	1000	0/3	
	SEGUNDA FASE		
	A	-/1	
	B	-/1	
	C	-/1	
D	-/1		
DL <sub>50</sub>			

**\* Número de animales que mueren/número de animales usados**

Calculo de la DL<sub>50</sub> es igual al promedio geométrico de las dosis para las cuales se encuentren 0/1 y 1/1 muertes de manera subsecuentes en la segunda prueba.

**Fuente: Elaboración propia**



**ANEXO N° 18.**

**RESULTADO DEL CULTIVO MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO ACUOSO  
DE *Berberis boliviana* Lechler**



[www.labmillennium.com.pe](http://www.labmillennium.com.pe)

NOMBRE : UNSAAC  
INDICACIÓN :  
FECHA : Cusco, 26 de Febrero de 2013

MICROBIOLOGIA

FECHA DE TOMA DE MUESTRA : 21/02/2013

S.S. CULTIVO CON RTMA Y RTCHL  
MUESTRA : Extracto seco acuoso de *Berberis Boliviana*

E. Coli : Ausencia  
Salmonella spp.: Ausencia  
S. Aureus : Ausencia  
P. Aeruginosa : Ausencia  
RTCHL :  $\leq 1$  UFC

Laboratorio Millennium E.I.R.L.

Lic. T.M. José Antonio Chávez García  
C.7312.255

**EMERGENCIAS: 984672795 - 984705899 - RPM \*240369 NEXTEL: 409\*5189**

**CUSCO: Av. Micaela Bastidas N° 654**

**(frente a puerta de personal de EsSalud) Telef.: 231639**

Plazoleta Belén 632  
frente a la beneficencia Telf. 084-232897

Urb. Quispicanchi Av. Perú K-3  
Of. 104 Wanchaq

Calle Matara con Lechugal N°410  
Of. 18 2do. Piso Telf: 984672795

Calle Ayacucho N°230 2do. piso  
Edificio Fátima 202-A Frente a Mandarina Café

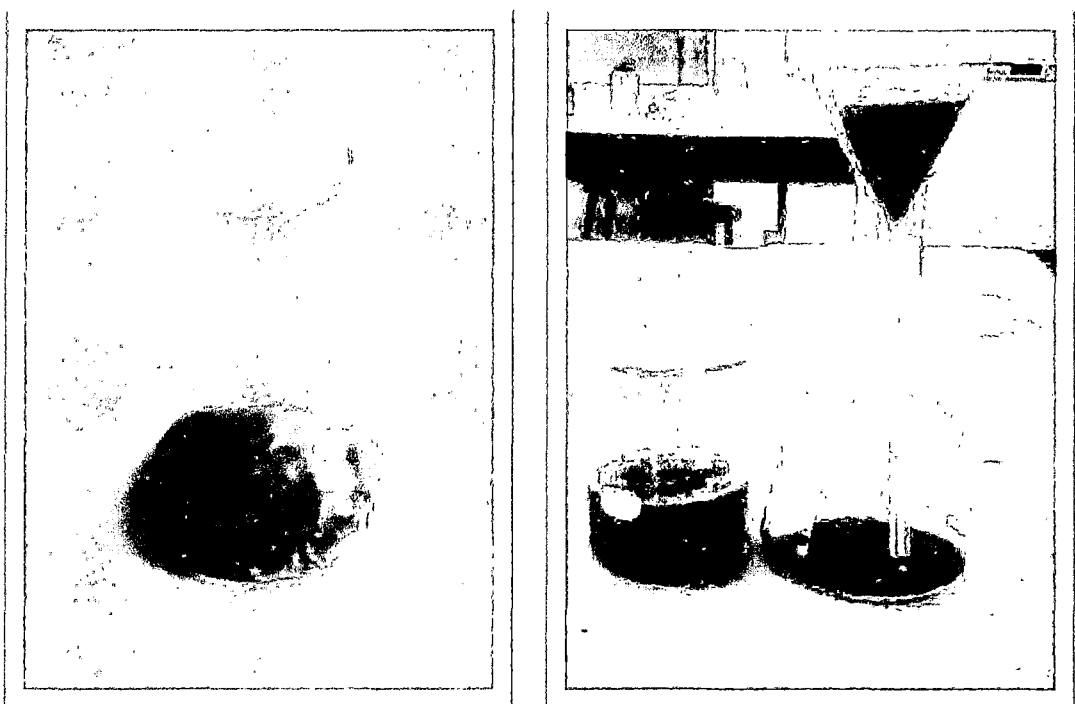
**ANEXO N° 19.**

**RESUMEN FOTOGRÁFICO**

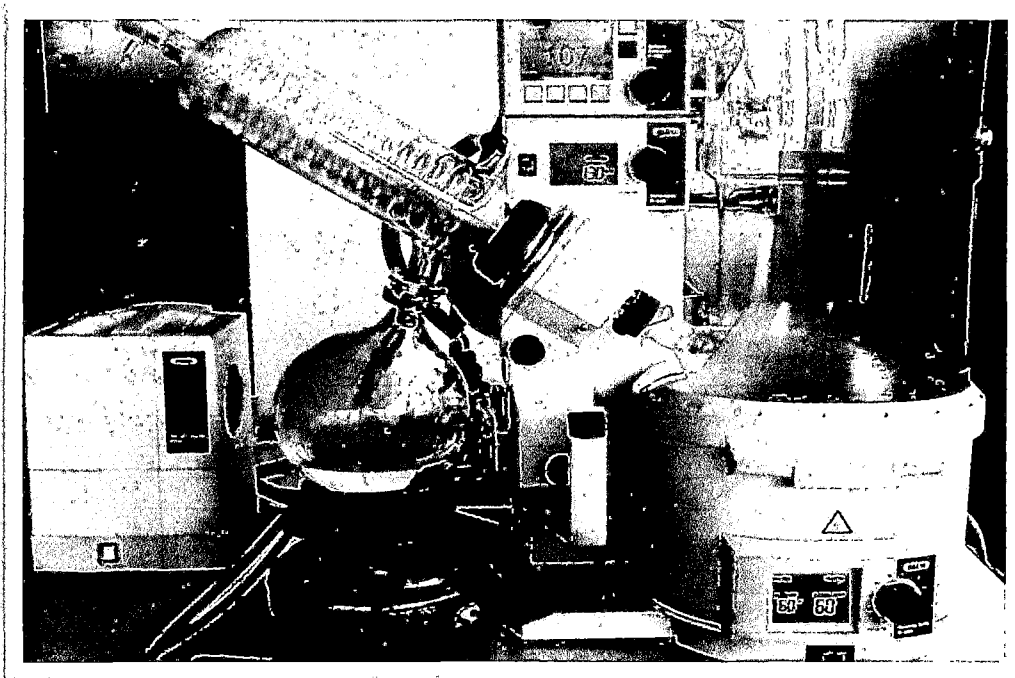
**FOTO 01: *Berberis boliviana* Lechler.**



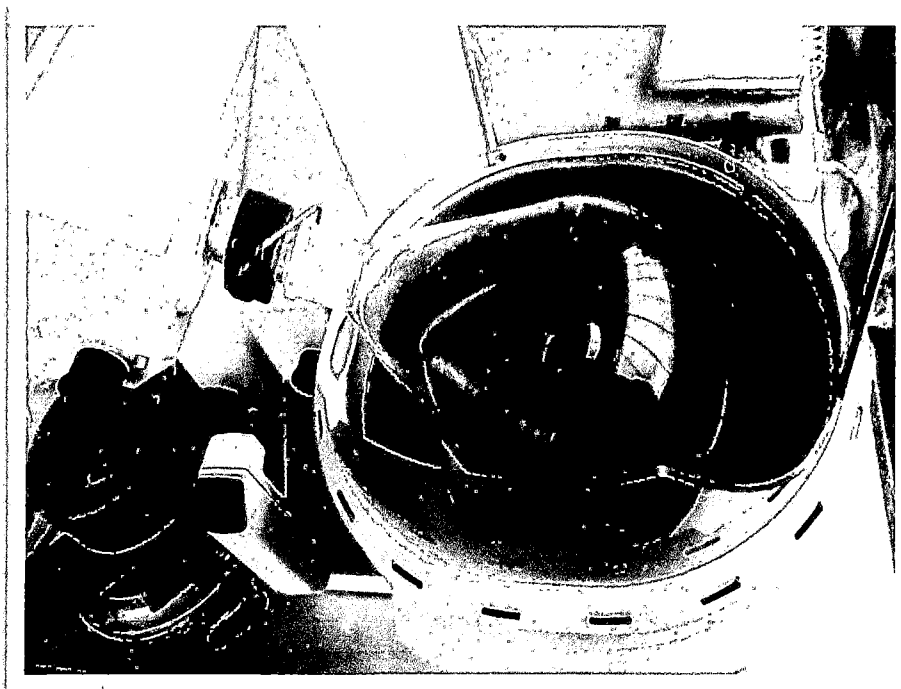
**FOTO 02: Proceso de decocción y filtración de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler.**



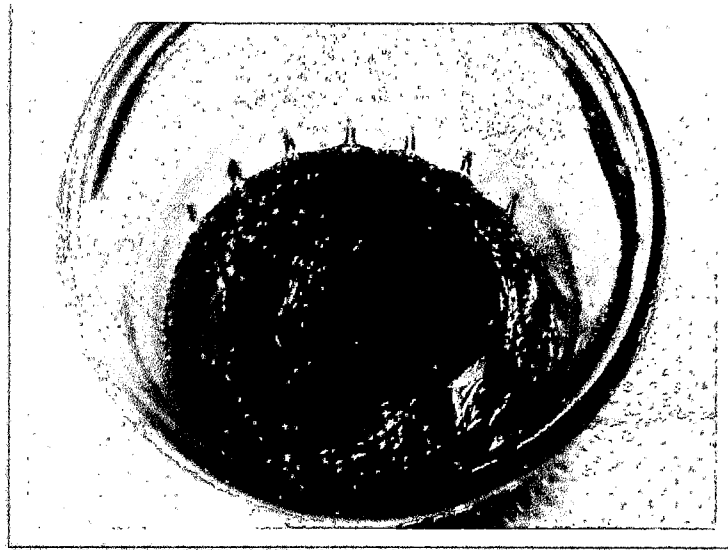
**FOTO 03: Extracto de *Berberis boliviana* Lechler en el proceso de concentración dentro del equipo rotavapor.**



**FOTO 04: Vista central del extracto de *Berberis boliviana* Lechler contenido en el balón dentro del baño maría del equipo rotavapor.**



**FOTO 05: Extracto acuoso seco de *Berberis boliviana* Lechler concentrado en el equipo rotavapor y posteriormente secado en una estufa.**



**FOTO 06: Determinación de la solubilidad del extracto acuoso de *Berberis boliviana* Lechler con solventes de polaridad variada.**





**FOTO 09: Distribución de grupos al azahar para la evaluación del efecto anticonvulsivante: Grupo control, Patrón diazepam, extracto a las dosis de 400, 800, 1200 mg/kg.**



**FOTO 10: Evaluación de la toxicidad aguda, 24 horas después de haber administrado el extracto acuoso de *Berberis boliviana* Lechler.**



**FOTO 11: Administración por vía intraperitoneal del extracto acuoso de *Berberis boliviana* Lechler para la evaluación del efecto anticonvulsivante.**



**FOTO 12: Administración por vía oral del extracto acuoso de *Berberis boliviana* Lechler para la evaluación de la toxicidad aguda por vía oral por el método de Lorke.**



**FOTO 13: Vista en la jaula de vidrio, primera fase, momento en que el ratón manifiesta convulsiones clónicas (sacudida de alguna de sus extremidades).**



**FOTO 14: Vista en la jaula de vidrio, momento en que el ratón manifiesta cola de Straub.**





**FOTO 15: Vista en la jaula de vidrio, momento en que el ratón manifiesta estupor o postura inusual.**



**FOTO 16: Vista en la jaula de vidrio, momento en que el ratón manifiesta convulsiones tónico-clónico frecuentemente, seguida de un componente letal, la extensión tónica de los miembros inferiores.**



**FOTO 17: Vista en la jaula de vidrio, momento en que el ratón manifiesta la extensión tónica de los miembros inferiores.**

