

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSTGRADO

Efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. "huanarpo macho" en ratas con inducción de disfunción eréctil

TESIS

para optar al grado académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica

AUTOR

Johnny Aldo Tinco Jayo

ASESORES

Jorge Luis Arroyo Acevedo

Pablo Enrique Bonilla Rivera

Lima – Perú

2010

*A MI AMADA Y QUERIDA MADRE
Livia
Razón de mi Ser y Saber*

*A mis hermanos Rocio, Ivan y Yuri, Erika
mi sobrina, Pedro mi tío, Leuvigilda mi abuela y
a toda mi familia que me apoyó en todo momento.*

*A mi abuelo Francisco (+) que
desde el cielo mi ilumina.*

*A Nurian mi amor por su apoyo y aliento
de cada día para el logro de mis objetivos y a sus
padres por la confianza, ejemplo y perseverancia.*

AGRADECIMIENTOS

Dr. Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Por su constante asesoría y dedicación en la ejecución y culminación del presente trabajo de investigación.

Dr. Pablo Enrique BONILLA RIVERA

Instituto Química Orgánica Aplicada a la Farmacia, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, por su asesoría acertada en la ejecución y culminación de la investigación.

Dr. Emilio GUIJA POMA

Profesor del Doctorado en Farmacia y Bioquímica, por darme las pautas iniciales y relevantes del presente trabajo.

Dra. Eloisa Maximina FERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

Directora de la Unidad de posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

A todos los Docentes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en especial al Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES y al Dr José Alejandro YARLEQUE MUJICA.

INDICE

	Resumen	
	Abstract	
	Resumo.	
I	Introducción	8
II	Generalidades	10
III	Material y Métodos	22
IV	Resultados	34
V	Discusión	44
VI	Conclusiones	55
VII	Referencias Bibliográficas	56
	Anexos	63

RESUMEN

El objetivo fue determinar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg. “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil. Se colectó hojas y tallos en el distrito de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho para obtener el extracto metanólico, la marcha fitoquímica identificó fenoles, taninos, lactonas, cumarinas, triterpenos, flavonoides, alcaloides, catequinas; confirmándose presencia de flavonoides mediante técnicas cromatográficas UV. Se realizó la separación de compuestos por cromatografía en capa fina, obteniéndose fracciones purificadas mediante cromatografía a escala preparativa utilizando diversos sistemas de solventes, se elucidó estructuralmente mediante técnicas espectrofotométricas los diferentes tipos de flavonoides.

Se halló la dosis letal (DL₅₀) de 1357mg/Kg en ratones; evaluándose el comportamiento sexual a 100, 200 y 300 mg/kg, suero fisiológico como control y sildenafil citrato 5 mg/kg. Lográndose un mejor efecto de frecuencia de monta dosis dependiente comparativamente al grupo control y al sildenafil (p<0,05); que permitió determinar la dosis efectiva media (DEM) de 157.1 mg/Kg, porcentaje de variación de 71.11; 95 % y 75 ; 100% de efecto para 200 y 300 mg/Kg de huanarpo, constituyendo el parámetro más importante.

El nivel plasmático de óxido nítrico en plasma tuvo valores de 4.75; 5.32, y sildenafil 6.25 umol/mL, porcentaje de variación; efecto (32.4, 39.2; 82.66, 100) a 200 y 300 mg/Kg siendo un efecto dosis dependiente (p<0,05), igual en órganos aislados a 50,100 y 300 ug/ml y los de L-arginina 300 uM, acetilcolina 30uM, epinefrina u/ml y sildenafil (Viagra)(3.2 × 10⁻⁵ mg/ml). Experimentalmente se ha demostrado un marcado efecto modulador de la erección del pene por influencia del extracto metanólico en ratas con inducción de disfunción eréctil.

Palabras clave: *Jatropha macrantha* Müll. Arg. “huanarpo macho”; comportamiento sexual, plasma, órgano aislado, disfunción eréctil.

ABSTRACT

The objective was to determine the effect modulator of the erection for the extract metanólico of *Jatropha macrantha* Müll Arg. "huanarpo macho" in rats with induction of erectile dysfunction. Collect you leaves and shafts of the district of Vilcashuamán, department of Ayacucho to obtain the extract metanólico, the march fitoquímica I identify fenoles, tannins, lactonas, cumarinas, triterpernos, flavonoides, alkaloids, and catequinas; confirming is witnessed of flavonoides by means of technical cromatográficas UV, to go, being carried out the separation of having composed by cromatografía in fine layer, obtaining you fractions purified by means of cromatografía to scale preparativa using diverse systems of solvents, being elucidated structurally by means of technical espectrofotométricas the different flavonoides types.

Lethal dose (DL50) was of 1357mg/Kg in mice; being evaluated the sexual behavior to 100, 200 and 300 mg/kg, control and sildenafil citrato 5 mg/kg. being Achieved a better effect of frequency of it mounts dependent dose comparatively to the group control and the sildenafil (p <0,05); what allowed to determine a dose effective stocking (DEM) of 157.1 mg/Kg, percentage of variation of 71.11; 95% and 75; 100 effect% for 200,300 mg/Kg, constituting the most important parameter.

The plasmatic level of I oxidize nitric in plasm he had values of 4.75 and 5.32, and sildenafil 6.25 umol/ml, variation percentage and effect (32.4,39.2; 82.66, 100) to 200 and 300 mg/Kg being an effect dependent dose (p<0,05), the same as in isolated organs to 50,100 and 300 ug/ml and those of L-arginina 300 uM, acetilcolina 30uM, epinephrine u/ml and sildenafil (Viagra)(3.2×10^{-5} mg/ml). Experimentally a marked effect modulator of the erection of the penis has been demonstrated by influence of the extract metanólico in rats with induction of erectile dysfunction.

key Words: *Jatropha macrantha* Müll. Arg. "huanarpo macho"; sexual behavior, captures, isolated organ, erectile dysfunction.

RESUMO

O objetivo foi determinar o modulador de efeito da ereção para o extrato metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg. "huanarpo macho" em ratos com indução de disfunción erétil. O colecionador coletou folhas e caules do distrito de Vilcashuamán, departamento Ayacucho para obter o extrato metanólico, a partir da marcha fitoquímica, seu identificação de fenóis, taninos, lactonas, cumarinas, triterpenos, flavonoides, alcalóides, e catequinas; confirmando flavonoides por meio de técnicas cromatográficas UV, sendo levado para a separação de ter composto através de cromatografía em camada, obtendo frações purificadas por meio de cromatografía escalonada preparativa que usa diversos solventes, sendo elucidado estruturalmente por meio de técnicas espectrofotométricas os tipos de flavonoides diferentes.

A dose letal (DL50) de 1357mg/Kg em ratos; sendo avaliado o comportamento sexual a 100, 200 e 300 mg/kg, soro fisiológico como controle e citrato de sildenafil 5 mg/kg. Sendo alcançado um efeito melhor de frequência disto monta dose dependente comparativamente ao controle de grupo e o sildenafil ($p < 0,05$); o que permitiu determinar uma dose meia efetiva (DEM) de 157.1 mg/Kg, porcentagem de variação de 71.11,95%; 75,100 de efeito para 200,300 mg/Kg, constituindo o parâmetro mais importante.

O nível plasmático de óxido nítrico em plasma ele teve valores de 4.75 e 5.32, e sildenafil 6.25 $\mu\text{mol/ml}$, porcentagem de variação e efeito (32.4, 39.2; 82.66, 100) para 200 e 300 mg/Kg que são um efeito dose dependente ($p < 0,05$), igual a em órgãos isolados 50,100 e 300 $\mu\text{g/ml}$ e esses de L-arginina 300 μM , acetilcolina 30 μM , $\mu\text{g/ml}$ de epinephrine e sildenafil (Viagra) (3.2×10^{-5} mg/ml). Experimentalmente um modulador de efeito marcado da ereção do pênis foi demonstrado por influência do metanólico de extrato em ratos com indução de disfunción erétil.

Palavras chave: *Jatropha Macrantha* Müll. Arg. "huanarpo macho"; comportamento sexual, capturas, órgão isolado, disfunción erétil

I.-INTRODUCCIÓN

La especie humana posee cualidades específicas que le distinguen del

resto de los animales: la conciencia, el lenguaje y la convivencia social, que permiten tener sensaciones y satisfacciones que derivan de la relación sexual, así como de sus consecuencias reproductivas, una vez que el desarrollo endocrino y el sistema nervioso central han madurado lo suficiente y ha recibido la información del medio social sobre el modo de satisfacerla, en dependencia de la cultura social donde se desarrolle el hombre (García, 2005)¹.

Sin embargo, existen una serie de trastornos sexuales que afectan a muchos hombres a nivel mundial. Así, tenemos la disfunción eréctil, que es la incapacidad repetida de lograr o mantener una erección lo suficientemente firme como para tener una relación sexual adecuada.

En estudios realizados en Estados Unidos se estima que entre los hombres de 40 a 70 años este problema ocurre hasta en un 52%. El grado de disfunción varía desde leve a severo (Oshima, 2003)². La disfunción eréctil, es causada por una alteración de la relajación del músculo liso corporal. Esta alteración puede ser causada, en parte, por el óxido nítrico insuficiente (NO) la síntesis en el “nervio del pene” como consecuencia de una pérdida de terminaciones nerviosas del cuerpo cavernoso nitrérgicas o por un descenso de regulación de la expresión o actividad de la NOS neuronal (nNOS), el óxido nítrico es un potente vasodilatador y puede inhibir la agregación plaquetaria (McCCall TB,1989)³. Dentro de la microvasculatura, regulación de la neurotransmisión, en la defensa del sistema inmune natural y la erección peneana (Moncada, 1991; Knwoles,1992)^{4,5}.

La medicina tradicional de nuestro país, tiene numerosas plantas medicinales beneficiosas para la salud humana y animal; conocimiento que deriva de las experiencias empíricas efectuadas por pobladores de la basta riqueza que tiene nuestro país y hoy más que nunca se requiere aportes científicos y experimentales de máximo rigor, descartando usos tradicionales que no tienen sentido, permitiendo a su vez transferir el conocimiento popular al ámbito científico para su análisis, evaluación y aplicación. Es a partir de la conquista española a mediados del siglo XVI que se ha podido tener información documentada sobre los usos de los nativos andinos y amazónicos a las plantas medicinales, gracias a la importante labor de los cronistas de la

conquista española. Uno de ellos, el Jesuita Bernabé Cobo escribió en el siglo XVII su libro “ Historia del Nuevo Mundo” ha mostrado al mundo diversas plantas y los diferentes usos, muchos de ellos medicinales (Gonzales, 2006)⁶.

El aislamiento y conocimiento estructural de compuestos de plantas, podría dar lugar a diseñar reacciones para producir derivados semisintéticos, o pautas para la síntesis. Es entonces de gran importancia localizar y aislar los principios activos de las diferentes partes de las plantas o extractos y probarlos con ensayos biológicos de profundidad. Es así que alcaloides como el jatrofano y la maitasina aislados de la *Jatropha macrohiza*, presentan acción antitumoral, diterpenos como la taxodina aislada de *taxodium distichum*, jatrofona de *Jatropha gossypifolia*, la gnidicina de *gnidia lamprahatha* también acción antitumoral, y flavonoides con actividades sobre la fragilidad capilar (biflavonoides del género citrus; rutina y derivados), dilatadoras de coronarias (proantocianidinas de cataeguas, árnica y ginkgo), espasmolíticas (glicósidos de apigenina), antihepatotóxicos (silimarina de silibum), fungitoxinas (isoflavonas como lupinus) (Lock de Ugaz, 1994)⁷.

En este sentido, se toma como modelo de estudio a la *Jatropha macrantha* “huanarpo macho” nativa originario del Perú utilizado por nuestros antepasados para mejorar la disfunción sexual eréctil. Por ello se plantearon los siguientes objetivos: 1) Determinar la naturaleza química de los extractos utilizando técnicas cromatográficas y espectrales; 2) Elucidar la estructura química de algunos metabolitos secundarios del extracto metanólico del huanarpo macho; 3) Conocer el efecto sobre el comportamiento sexual del extracto metanólico de *Jatropha macrantha* “huanarpo macho” en ratas inducidas a disfunción eréctil; 4) Evaluar y comparar los niveles plasmáticos de óxido nítrico en ratas con disfunción eréctil que reciben el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* “huanarpo macho”; 5) Evaluar la actividad vasodilatadora in Vitro del extracto metanólico del huanarpo macho en órganos aislados del cuerpo cavernoso del pene de rata; 6) Determinar la dosis letal 50 (DL₅₀) por el método de dosis límite.

II.- GENERALIDADES

2.1. Antecedentes generales:

Desde la época de los incas se atribuye al “huanarpo” propiedades afrodisíacas; así Juan de Santa Cruz Pachacuti Yampi “Relación de Antigüedades deste Reyno del Pirú”, en “Tres Relaciones de Antigüedades Peruanas”. (Publicada por el Ministerio de Fomento-Madrid-1879) manifiesta de Sinchi Roca: “este desventurado Sinchiruca dicen que siempre entendió en regalarse, el cual dicen los mandó buscar chutarpu uanarpu para acostumbrar en la fornicaciones, y así es sabido “vacan guest” que los indios iban con aquellos presentes” (Lastre, 1951; Valdizan y Maldonado, 1922)^{8,9}.

El “huanarpo macho” es una planta conocida desde nuestros ancestros, con hojas bellas y la particular forma del fruto que semeja la morfología sexual interna masculino y femenina, lo que ha despertado nuestro interés por su estudio y aplicación con una adecuada dosificación (Ochoa, 1995)¹⁰.

Actualmente esta creencia subsiste, debido al mal uso que de esta planta hacen los seudos curanderos, los que incluso aparece en muchos tratados, llegando a ser considerados como sinónimo de promiscuidad, etc. (Ochoa, 1995)¹⁰.

2.2. Clasificación taxonómica:

División	:	Angiospermae
Clase	:	Dicotyledonea
Sub clase	:	Choripetalae
Orden	:	Geraniales
Familia	:	Euphorbiaceae
Género	:	Jatropha
Especie	:	<i>Jatropha macrantha</i>
Nombre vulgar	:	“Huanarpo macho” “urco huanarpo” “Guanarpo”

Fuente: (Valdizan y Maldonado,1922; Soukop, 1982)^{9,11}, (Constancia del *Herbarium Huamanguensis*).



Figura N° 01 : Vista de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* “huanarpo macho”

2.2.1. Descripción botánica de la especie *Jatropha macrantha*.

Arbusto mediano (1,5 a 2 m de altura) con flores rojas. Es autóctona del Perú y puede ser encontrado en abundancia dentro del valle fluvial del Marañón en la Amazonía y en el departamento de Puno. Las partes que se utilizan del huanarpo son los tallos jóvenes; que se parece a la anatomía de un hombre y ha sido usado desde muchos siglos atrás en la medicina tradicional para realzar la función sexual masculina (Oshima, 2003)². Raíz: Conoidea o pivotante, se caracteriza por tener pocas raíces secundarias y corteza de regular espesor. Tallo: Arbusto ramificado con ramas extendidas, algunos pueden ser de un metro de altura, presenta ramas carnosas visiblemente marcados por los callos de las cicatrices del pecíolo caído. Los tallos llegan a ser más gruesos hacia la base. Hojas: De 10-12 cm. de ancho y de 9-10 cm. de largo, profundamente cordado en la base, pentalobado, los lóbulos ampliamente ovados mas o menos imbricado, agudo, aserrado, estipulas glanduliformes, cimmas cortamente pedunculados. Las hojas son caducas, en el periodo seco las hojas son tempranamente parduscas y pegajosas como la savia de la rama carnosa. Flores: pequeñas de color rojo escarlata y capitulados. Las brácteas son pequeñas foliáceas ovalada-lanceoladas de aproximadamente 10 mm de largo. Los sépalos de las flores masculinas son oblongo-ovalados, agudos, dentadas-glandulares, libres, de 4-5 mm de largo: Los pétalos son de 2 cm. de largo, oblongo, obtusos, parecidos a las uñas y libres. En el androceo presenta 10 estambres, con el exterior más corto y el interior monodelfo alargado. El ovario no tiene pelos en la superficie. Las

inflorescencias son capituladas, de color escarlata, que aparecen tardíamente durante el periodo seco (Belmonte, 2000;Mc Bride, 1951; Juarez, 1968)^{12,13,14}.

2.2.2. Distribución geográfica

Crece entre los 1500 y 2600 m.s.n.m. no necesitan de suelo agrícola, se desarrollan en suelos áridos y semiáridos. En época de lluvia, el tallo y las hojas se verdean intensamente y carecen de flores; en cambio en épocas de sequía, el tallo se amarilla e inicia la floración (Juárez, 1968)¹⁴. Lo encontramos en las lomas de Lachay (Lima). “Abarcaba con sus brazos gruesos y lisos de color gris las rocas y la arena en una forma tal que recordaba a un reptil” (Malca, 1956)¹⁵. Este vegetal, constituye un recurso natural y es abundante en las laderas de los valles de la Cordillera Occidental y Central; de igual manera, en el lado Occidental de la Cordillera Oriental (Juárez, 1968)¹⁴.

2.2.3. Usos en la Medicina Tradicional.

El huanarpo macho usado en nuestra serranía como afrodisíaco y por tener otras propiedades, se prepara en maceración en aguardiente, como mordiente, en infusión o quemando el tallo para absorber el humo. (Malca, 1956)¹⁵. Estas plantas son casi desconocidas en la costa, pero muy conocidas y empleadas en nuestra serranía y selva.

Usualmente para personas estériles, se recomienda la utilización de hierbas en infusión, con la finalidad de recuperar la potencia sexual. (Ochoa, 1995; Delgado, 1988)^{10,16}.

Jatropha macrantha “huanarpo macho”, cuya raíz tiene acción afrodisíaca, presenta alcaloides similares a la yohimbina. (Aldave, 1988; Mostacero,1993)^{17,18}. Barrón y Montalvo también atribuyen a *Jatropha macrantha* propiedades afrodisíacas. Valdizán y Aldave manifiestan que las raíces del “huanarpo macho” tienen acción afrodisíaca. Ávila manifiesta: “El chutarpo es el macho para adoptarse a la fornicación y la hembra es para lo contrario”, al considerar la aplicación terapéutica del “huanarpo macho” manifiesta: “la tintura del tallo goza de reputación como afrodisíaco” (Lastre, 1951; Valdizan y Maldonado, 1922)^{8,9}.

2.3. Investigaciones fitoquímicas de *Jatropha macrantha* Mull Arg “huanarpo macho”

Se realizaron estudios químicos de los alcaloides del “huanarpo macho” llegando a los resultados siguientes:

- Presencia de 7 sustancias alcaloídicas.
- Las sales de alcaloides obtenidos, fueron en cantidad reducida, lo que no permitió un estudio más amplio.
- El contenido de alcaloides en esta especie es muy bajo.
- Presenta alcaloides similares a la yohimbina
- En el intento de aislamiento de los alcaloides se obtuvo una sustancia cristalina, al realizar las pruebas respectivas con luz ultravioleta no respondían a las reacciones para alcaloides; respondiendo más bien en forma positiva para la prueba de esteroides. (Juárez, 1968; Aldave, 1998; Mostacero, 1993)^{14,17,18}.

2.3.1. Flavonoides:

Son en su mayoría pigmentos responsables de la coloración de numerosas flores y algunos frutos; son compuestos caracterizados por el esqueleto de un sistema C₆-C₃-C₆. Su esqueleto básico consta de 3 anillos cíclicos (A y B fenólicos y C heterocíclico).

Dentro de este grupo de compuestos se encuentra: flavonoles, flavonas, flavononas, isoflavona y sus respectivos derivados. (Limaylla, 1984)¹⁹

Cada una de las clases de flavonoides, suelen encontrarse bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes en su estructura, la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa (Lock, 1994)⁷.

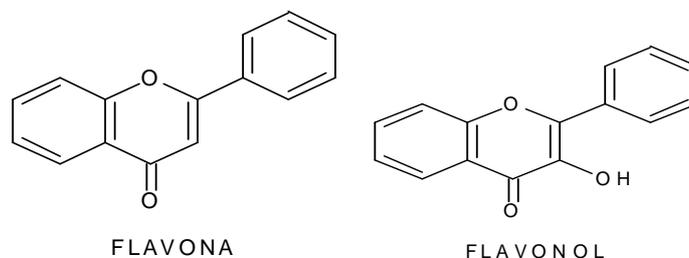


Figura N°02: Estructuras básicas de los flavonoides

2.4.-Aspectos Biológicos de *Jatropha macrantha* Mull Arg “huanarpo macho”

2.4.1.-Disfunción eréctil

La disfunción eréctil, a veces llamada "impotencia," es la incapacidad repetida de lograr o mantener una erección lo suficientemente firme como para tener una relación sexual. La palabra "impotencia" puede usarse para describir otros problemas que interfieren con la relación sexual y la reproducción, tales como la falta de deseo sexual y los problemas con la eyaculación o el orgasmo. El uso de las palabras disfunción eréctil deja en claro que esos otros problemas no están implicados.

La disfunción eréctil, o DE, puede ser una incapacidad total para lograr una erección, una capacidad inconsistente para hacerlo, o una tendencia a tener solamente erecciones breves (K.E Anderson – 2001)²⁰.

En los hombres mayores, la DE generalmente tiene una causa física, como una enfermedad, lesión, o efectos secundarios de medicamentos. Cualquier trastorno que cause una lesión en los nervios o que deteriore el flujo de sangre al pene puede causar DE. La incidencia aumenta con la edad: alrededor del 5 por ciento de los hombres de 40 años de edad y entre el 15 y el 25 por ciento de los hombres de 65 años de edad experimentan DE. Pero no es una parte inevitable del envejecimiento.

La DE es tratable a cualquier edad, y el conocimiento de este hecho ha ido creciendo. Más hombres han buscado ayuda y regresado a la actividad sexual normal debido a tratamientos mejorados y exitosos de la DE.

2.4.2.- Mecanismo de la erección

El pene contiene dos cámaras llamadas cuerpos cavernosos, los cuales ocupan el largo del órgano. Un tejido esponjoso llena las cámaras. Los cuerpos cavernosos están rodeados por una membrana, llamada túnica albugínea. El tejido esponjoso contiene músculos lisos, tejidos fibrosos, espacios, venas y arterias. La uretra, que es el canal para orinar y eyacular, ocupa el largo por debajo de los cuerpos cavernosos.

La erección comienza con la estimulación mental y de los sentidos, o ambas. Los impulsos del cerebro y los nervios locales hacen que los músculos de los cuerpos cavernosos se relajen, permitiendo que fluya la sangre y llene los espacios. La sangre crea presión en los cuerpos cavernosos, haciendo que el pene se expanda. La túnica albugínea ayuda a atrapar la sangre en los cuerpos cavernosos, con ello sosteniendo la erección. Cuando los músculos del pene

se contraen para parar el flujo de entrada de la sangre y abrir el flujo de salida de los canales, la erección se revierte.

Las arterias (arriba) y venas (abajo) penetran en las cavidades largas y llenas que se ubican a lo largo del pene, los cuerpos cavernosos y el cuerpo esponjoso. La erección ocurre cuando los músculos relajados permiten que los cuerpos cavernosos se llenen con sangre en exceso alimentada por las arterias, mientras que se bloquea el drenaje de sangre a través de las venas.

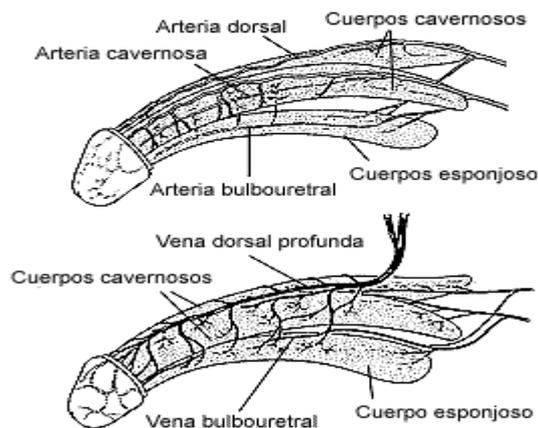


Figura N°03: Representación esquemática de ubicación de vasos y venas del pene.
(Merck, 1998)²¹.

2.4.2.1.-Fisiología de la erección

El pene contiene dos cámaras llamadas cuerpos cavernosos, que ocupan el largo del órgano (figura 1). Un tejido esponjoso llena las cámaras. Los cuerpos cavernosos están rodeados por una membrana, llamada túnica albugínea. El tejido esponjoso contiene músculos lisos, tejidos fibrosos, espacios, venas y arterias. La uretra, que es el canal para orinar y eyacular, ocupa el largo por debajo de los cuerpos cavernosos.

2.4.2.2. Clasificación.

La impotencia puede clasificarse según diversos criterios: absoluta o relativa, permanente o temporal, primaria o secundaria y funcional u orgánica.

- **Impotencia funcional o psicogénica.** Producida por un proceso en el que, de manera única o predominante, no se detecta lesión orgánica y obedece en principio a factores psicológicos o psiquiátricos.

- **Impotencia orgánica.** Su etiología responde a alteraciones somáticas que determinan el fallo en el mecanismo normal de la erección. Pueden agruparse en cinco apartados etiológicos:
 - a) Lesiones del tejido eréctil.
 - b) Alteraciones endocrinas. Problemas hormonales (aumento de prolactina, hipotiroidismo e hipertiroidismo, síndrome de Cushing) pueden determinar una disfunción eréctil.
 - c) Alteraciones neurológicas centrales y/o periféricas. Los trastornos neurológicos (ictus, convulsiones del lóbulo temporal, esclerosis múltiple, disfunción sensitiva y autónoma, lesiones medulares) suelen ser causa de disfunción eréctil.
 - d) Alteraciones tóxicas o yatrógenas de la respuesta neuromuscular (fármacos). Los fármacos producen un 25% de los casos.
 - e) Alteraciones vasculares (arterial y venosa). Los principales problemas vasculares pueden determinar disfunciones eréctiles son la aterosclerosis de las arterias penianas, la impedancia inadecuada del flujo venoso (laguna venosa) o una combinación de ambos (K.E Anderson, 2001; Herrera, 1996)^{20,22}.

2.4.4. Etiología

La causa principal de la disfunción eréctil es vascular, pero otras grandes categorías patogénicas incluyen los trastornos hormonales, el uso de drogas y las enfermedades neurológicas. Una disfunción eréctil transitoria de cualquier naturaleza puede determinar dificultades psicológicas secundarias que complican el problema. La disfunción eréctil puede depender de las situaciones, afectar sólo en determinados momentos, lugares o parejas, asociarse a un sentimiento de derrota o a una autoestima dañada. Los factores psicológicos que pueden asociarse con las enfermedades orgánicas deben tenerse en cuenta en cada caso, ya que pueden ser causa y consecuencia de la disfunción eréctil.

2.4.5. Tratamiento.

1. Las opciones terapéuticas en caso de disfunción eréctil, están fundamentalmente condicionadas por el estudio etiológico.

2. Tratamiento farmacológico.

El sildenafil es un fármaco, que facilita la erección al potenciar el efecto del óxido nítrico sobre el músculo liso vascular, aumentando de esta forma el flujo sanguíneo peneano. La respuesta obtenida es más normal, ya que sólo actúa cuando existe un deseo sexual asociado. Se debe tomar el fármaco de 30 a 60 min. antes del coito, estando contraindicado en personas que ingieren nitratos. Un 16% de los usuarios sufren cefaleas.

2.5. ÓXIDO NÍTRICO (NO)

2.5.1. Propiedades físico-químicas del NO

El NO es un gas simple formado por dos átomos, uno de nitrógeno y otro de oxígeno, que determina un número total de 15 electrones (NC Rakuambo,1999)²³. Este número impar de electrones implica la existencia de un electrón desapareado ubicado en el orbital molecular más externo, le da su carácter de radical libre y una especie biológica relativamente estable con vida media en medios biológicos de 6 segundos.

El NO es una molécula apolar que se particiona bien en medios hidrofóbicos, que le permite concentrar y difundir rápidamente a través de membranas biológicas de un tipo celular a otro, por mecanismos pasivos que no requieren transportadores de membrana (Rakuambo, 2004)²⁴.

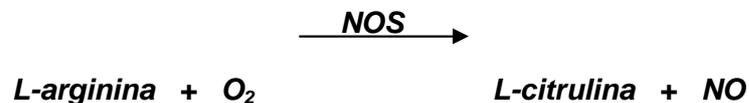
Desde el punto de vista redox es un débil agente oxidante y algo mejor reductor. Peso molecular de 30,006 g. una densidad relativa de 1,036 a 21C, un volumen específico de 0,81mg/kg. una temperatura de ebullición de -151,8C posee una pureza mínima de 98,5% (Anderson, 2001)²⁵.

2.5.2. Síntesis del NO

El precursor del NO es la L-Arginina, en la síntesis interviene una familia de enzimas denominadas colectivamente óxido nítrico sintasa (NOS), ampliamente distribuidos en los tejidos. Para su síntesis, además de la L-arginina como sustrato, se requiere la presencia de calmodulina (CaM) y de 4 cofactores: flavin mononucleótido (FMN), flavin adenina dinucleótido (FAD), tetrahydrobiopterina (TBH) y de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH). La síntesis de NO se produce mediante la participación de dos isoformas de sintasas del NO, una constitutiva (cNOS) de baja producción y

otra inducible (iNOS) de alta producción. Con la denominación cNOS se identifica a la vez dos isoformas; una denominada endotelial (eNOS o tipo III), por estar mayoritariamente presente en las células endoteliales de la pared de los vasos sanguíneos; la otra denominada neuronal (nNOS o tipo I) por encontrarse preferentemente en el cerebro, médula espinal y sistema nervioso periférico; la isoforma inducible (iNOS o Tipo II), es llamada también macrofágica o citoquina inducible. En la actualidad la presencia de las diferentes isoformas de la enzima NOS puede observarse en mamíferos, aves, peces e invertebrados.

Las NOS catalizan la oxidación del grupo guanidino de la arginina a NO mediante la siguiente reacción:



Recientemente, se ha descubierto que el NO también puede derivar de fuentes que no son las NOS.

Se sabe desde hace algún tiempo que bacterias de la cavidad bucal reducen el nitrato de la dieta a nitritos, de una forma similar a las bacteria en la orina infectada, utilizando la enzima nitratorreductasa.

El NO y otros óxidos de nitrógeno se producen a partir del nitrito en el medio ácido-reductor del estómago. En condiciones ácidas, el nitrito se convierte en ácido nitroso y, por lo tanto, en óxidos de nitrógeno, entre ellos el NO. La presencia de un agente reductor, como el ácido ascórbico, facilita la producción del NO por la reducción rápida del ácido nitroso (Li, 2001; Robert, 2005)^{26,27}.

2.5.3. Mecanismos de acción:

Las cNOS se hallan presentes en forma inactiva, hasta que, en las células endoteliales los agonistas como la acetilcolina, adenosindifosfato (ADP), bradicinina y el estrés por cizallamiento o flujo pulsátil de la sangre actúan como estímulos aumentando el calcio intracelular y su unión a la calmodulina (proteína fijadora de calcio), el compuesto así formado: Ca⁺²-calmodulina activa a la NOS, estimulando la producción de NO.

El NO una vez sintetizado por las células del endotelio, se liberó para luego difundir hacia las células de músculo liso vascular adyacente; dentro de

ellas se une al hierro de la enzima guanilato ciclasa soluble activándola (GCs) para catalizar la producción de guanosina monofosfato cíclica (GMPc) a partir de guanosina trifosfato (GTP). La GMPc al poseer actividad de segundo mensajero activa diferentes procesos biológicos, en este caso dilatar arterias, ejerciendo su función a través de una cascada de proteincinasas, modulando los canales de calcio de la membrana celular y del retículo sarcoplásmico (resultando en un secuestro sarcoplásmico de calcio), disminuyendo los niveles de calcio intracelular, con lo que el músculo liso se “relaja” (Figura N° 4).

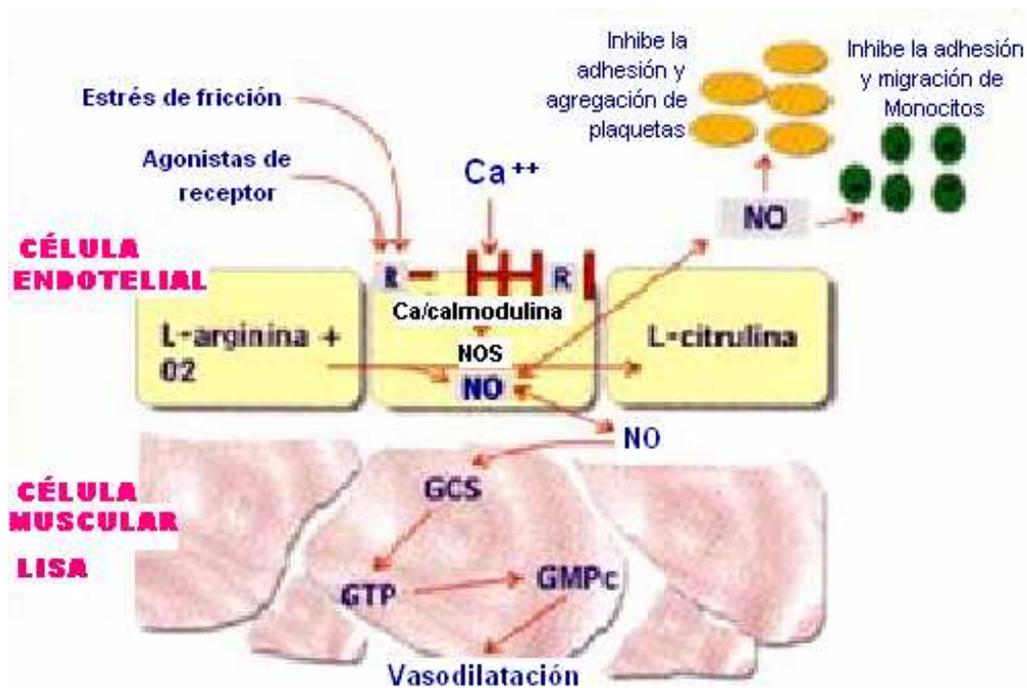


Figura N° 04: Liberación constitutiva del óxido nítrico.

La forma inducible (iNOS), puede funcionar independientemente del complejo Ca^{+2} - calmodulina. La calmodulina está presente como una subunidad fuertemente ligada a la enzima y a diferencia de las isoformas constitutivas no requiere de niveles altos de calcio para su unión con la NOS macrofágica, lo que posiblemente se debe a una unión irreversible entre ambas.

2.5.4. Funciones del NO e implicancias fisiopatológicas

En los últimos años se han podido descubrir algunos de los variados papeles fisiológicos del NO, siendo los más importantes los que se ejercen sobre tres grandes sistemas: cardiovascular, inmunitario y neurológico.

2.5.4.1. Sistema Cardiovascular

Cuando se sintetiza en las capas internas del endotelio de las arterias, el NO se extiende a través de las membranas celulares y alcanza a las células musculares lisas subyacentes, con lo que se paraliza su contracción, produciendo una dilatación arterial. El NO regula automáticamente el flujo sanguíneo en distintos tejidos como: cerebro, corazón, pulmón, riñón y tracto gastrointestinal. También se ha demostrado que ejerce un efecto inhibitorio sobre la agregación plaquetaria, es evitando la formación de trombos (Figura N° 4 y 5) (Li, 2001; Roca, 2003)^{26,28}.

2.5.4.2. Sistema Inmunitario

El NO se produce como respuesta a las infecciones, en grandes cantidades, en las células blancas sanguíneas, tales como los macrófagos y neutrófilos. Esa alta concentración es responsable de la muerte o de la inhibición del crecimiento de muchos agentes patógenos: bacterias, hongos, virus y parásitos, así como de las células que los albergan (efecto citotóxico) y también de las células tumorales (efectos citostático); esta exagerada producción de NO tiende a ser dañina para el organismo (Figura N° 5) (Roca, 2003)²⁸.

2.5.4.3. Sistema Neurológico

En cuanto a su acción en el sistema neurológico, el NO se expande en todas direcciones y activa a las células vecinas. Por si mismo es un importante neurotransmisor, es decir, que actúa de mensajero químico entre las células neuronales, tanto del sistema nervioso central (neuronas cerebrales), como en el sistema nervioso periférico.

Dejando el sistema nervioso central y pasando al periférico, las actuaciones del NO son muy diversas, pudiendo ir desde el tracto digestivo, hasta los nervios pélvicos, que contienen fibras no adrenérgicas no colinérgicas pero NOS positivas, mediando en la relajación gástrica y siendo su concurso necesario para la erección del pene (Asilan, 2008)²⁹.

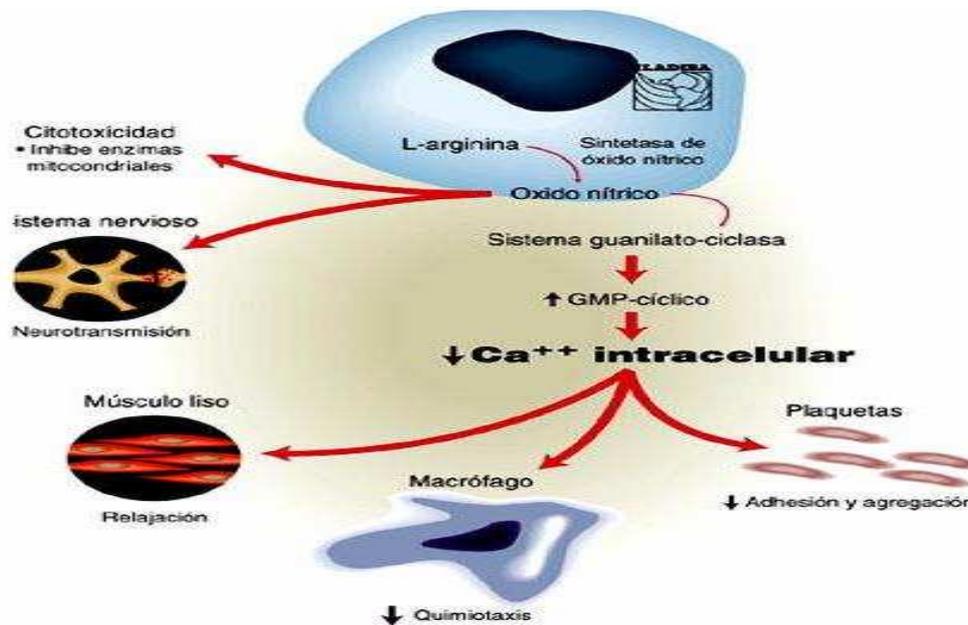
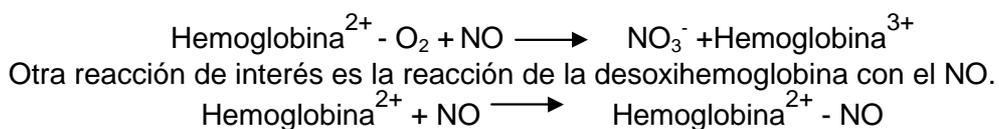


Figura N° 05.- Algunas funciones del óxido nítrico

2.5.5. Degradación del NO

El NO tiene alta afinidad por el hierro y los compuestos que lo contienen. En el torrente circulatorio reacciona con la oxihemoglobina eritrocitaria que representa la ruta principal de eliminación del NO, y que asegura que el NO actúe como una señal local al nivel de los tejidos que la producen. Esta reacción es una transferencia de O₂ más un electrón al NO, es muy rápida y resulta en la oxidación del NO a nitrato y la conversión de oxihemoglobina a metahemoglobina.



DONADORES E INHIBIDORES DE NO (Ilan A, 1994)³².

Nombre	abreviación	acción
L- arginina	L-arg	NO precursor
N monometil – L arginina	L-NMMA	NOS inhibidor
N nitro L – arginina	L-NNA	NOS inhibidor
N nitro L-arginina metil ester	L-NAME	NOS inhibidor
Sodium nitroprusside		NO donador
3-Morpholinosydnonimine	SIN 1	NO donador
S-Nitroso-n-acetyl-D,L		
Penicillamine	SNAP	NO donador
Hemoglobina		NO scavenger

III MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacología de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en el laboratorio de Farmacología de la facultad de Medicina y Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. durante los meses de junio a diciembre del 2009.

3.1.-POBLACIÓN Y MUESTRA:

5 Kg. De hojas y tallos tiernos de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. “huanarpo macho” recolectadas en el Consejo Menor de San Francisco de Pujas, ubicado en el valle del Río Pampas distrito y provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho, ubicado a 2100 – 2400 m.s.n.m. y transportadas en bolsas de papel las cuales fueron secados a la sombra y de 2 a 3 ejemplares con flores fueron llevados para realizar la identificación botánica en el Herbarium Huamangensis de la UNSCH.

3.1.1.-Material Biológico

5 Kg. de cada una de las partes (hojas y tallos) de especie nativa de “huanarpo macho” procedente del departamento de Ayacucho.

300 ratas albinas machos de 300 +/- 50 g. de peso procedente del Bioterio del Instituto Nacional de Salud.

80 Ratones albinos macho de 25 +/- 5 g. de peso. Procedente del Bioterio del Instituto Nacional de Salud.

3.1.2.-Materiales, equipos y reactivos

a.- Materiales y equipos

Fiolas Pirex de 10, 25, 100 y 200 ml

Vasos de Precipitado Pirex de 250 ml

Probetas, Micropipetas de 50, 100, 250 y 500 ul

Peras de separación

Equipos

Rotavapor UA- SB N – 1001 S-W.

Estufa DrYMEGA – AISI 316

Quimógrafo - MANUAL ALEMAN.

Balanza analítica OHAUS- METTLER AB 204-S.

Espectrofotómetro UV – VIS MACH LANGE UV 3600.

Centrífuga CLAY-ADAMS.

b.- Reactivos

Alcohol Metílico Q.P

Alcohol etílico Q.P

Cloroformo Q.P

Acetato de Etilo Q.P

n-Hexano Q.P

Cloruro de sodio (NaCl)

Cloruro de potasio (KCl)

Fosfato acido de potasio (KH_2PO_4)

Bicarbonato de sodio (NaHCO_3)

Cloruro de calcio (CaCl_2)

Sulfato de magnesio (MgSO_4)

glucosa Q.P

Sildenafil viagra (PFIZER)

3.2.-Diseño Metodológico.

3.2.1.-Diseño experimental fitoquímico:

a) Secado y preparación de la muestra

Las muestras recolectadas se secaron en una superficie plana bajo sombra y buena ventilación por un mes a temperatura ambiente, bien extendida para evitar su descomposición. Al mismo tiempo se cambió el papel de soporte cada 24 horas.

b) Molienda y Tamizaje

Las muestras se trituraron empleando un molino y mortero, con la finalidad de reducirla hasta un polvo fino, luego con un tamiz de 0.125 u de diámetro se separó todos los restos celulares (Miranda 1996)³³.

c) Preparación del extracto Metanólico.

Previo secado de las hojas y tallos del huanarpo macho en un lugar con adecuada ventilación y bajo sombra, se procedió a la selección de las hojas y tallos a sequedad total, verificándose el peso constante, para ser molidas y luego maceradas por un periodo de 14 días, para lo cual se tomó 500 g el cual

fue vertida en una botella con 2L y medio de metanol, luego este macerado se procedió a la filtración con un sistema de vacío utilizando papel whatman, luego se concentró usando un rotavapor con sistema de vacío a 30 °C y finalmente se secó en una estufa a una temperatura promedio de 40 °C.

Se hizo una extracción continua preliminar para identificar los metabolitos secundarios para lo cual se pesaron de 200 a 500 gramos de muestra, extrajo con metanol, hexano y cloroformo, se filtró, secó y pesó. Seguidamente se hizo la extracción con alcohol, se obtuvo también por maceración con MeOH:CH₂Cl₂ (1:1)

d) Identificación de fracciones.- La identificación de metabolitos se hizo en cromatografía de capa fina (silicagel G254) por comparación de la fracción de flavonoides.

3.2.1.1.- ENSAYOS FITOQUÍMICOS

Screening Fitoquímico (Miranda 1996)³³

Se tomaron muestras de 5 mg de extracto metanólico y se les aplicó reactivos de identificación como se observa en la tabla N°02.

Para la identificación de los diferentes metabolitos secundarios de *Jatropha macranta* Mull Arg "Huanarpo macho" se empleó la marcha fitoquímica (Anexo 01); basándose en la extracción e identificación de metabolitos secundarios con metanol apropiados de diversa polaridad y pruebas de reacción de color y precipitación en las diferentes fracciones obtenidas.

Investigación de Flavonoides:

Se tomaron 50 g de hojas y tallos secos y molidos, se realizó una maceración en MeOH por 14 días luego se procedió a filtrar. La solución metanólica se llevó a concentración obteniéndose un extracto metanólico, el mismo que se extrajo en una pera de separación con una mezcla de AcOEt:H₂O (v/v), formándose dos fases: en la fase acuosa luego de horas se observó la aparición de un color amarillo claro con formación de precipitado oscuro para el caso de las hojas. Aquí se realizó la reacción de Shinoda para flavonoides, así como las reacciones con NaOH 40%, H₂SO₄ concentrado y FeCl₃ 1% en etanol.

Con la solución acuosa se procedió a la cromatografía en capa fina, usando como soporte silicagel G 60 y como solvente los siguientes:

- Cloroformo : metanol: agua (65 : 45 : 12)
- Cloroformo : ácido acético (100 : 4)
- Benceno : ácido acético (100 : 4)
- Cloroformo : ácido acético : metanol (90 : 5 : 5)
- Diclorometano: metanol: (3:1)

Los diferentes solventes se ensayaron tanto para los extractos metanólicos. Finalmente se hizo una cromatografía preparativa usando como solvente de elección - Diclorometano: metanol (3 :1)

3.2.2. ENSAYOS CROMATOGRÁFICOS

3.2.2.1. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO METANOLICO

El extracto metanólico se sometió a ensayos cromatográficos en capa fina unidimensional ascendente, utilizando como fase fija silicagel G tipo 60 (Merck) y como fase móvil diclorometano, metanol en la proporción de 3:1; para la investigación y el sistema BAW (n-butanol, ácido acético y agua, fase superior) en la proporción 4:1:5 para la investigación de flavonoides.

En la investigación de flavonoides el tiempo de recorrido fue de 4 horas y media; siendo luego observados a luz monocromática UV de 366 nm, comprobándose fluorescencias de colores celeste, verdosa, rojizas, marrones y amarillas, al revelar con S.R. de cloruro férrico y ácido sulfúrico manchas definidas de color naranja ladrillo lo que confirmó la presencia de flavonoides; al revelar con vapores de amoníaco y con UV de 366 nm, se observó la intensificación de las fluorescencias, (Figura N° 06, 07).

3.2.2.2. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DE LOS SUB EXTRACTOS

Se realizaron ensayos cromatográficos en capa fina, con la finalidad de controlar las separación de componentes, para detectar, identificar y ver el número de los metabolitos secundarios presentes en cada fracción.

Se investigó comparativamente el extracto de las fracciones metanólicas.

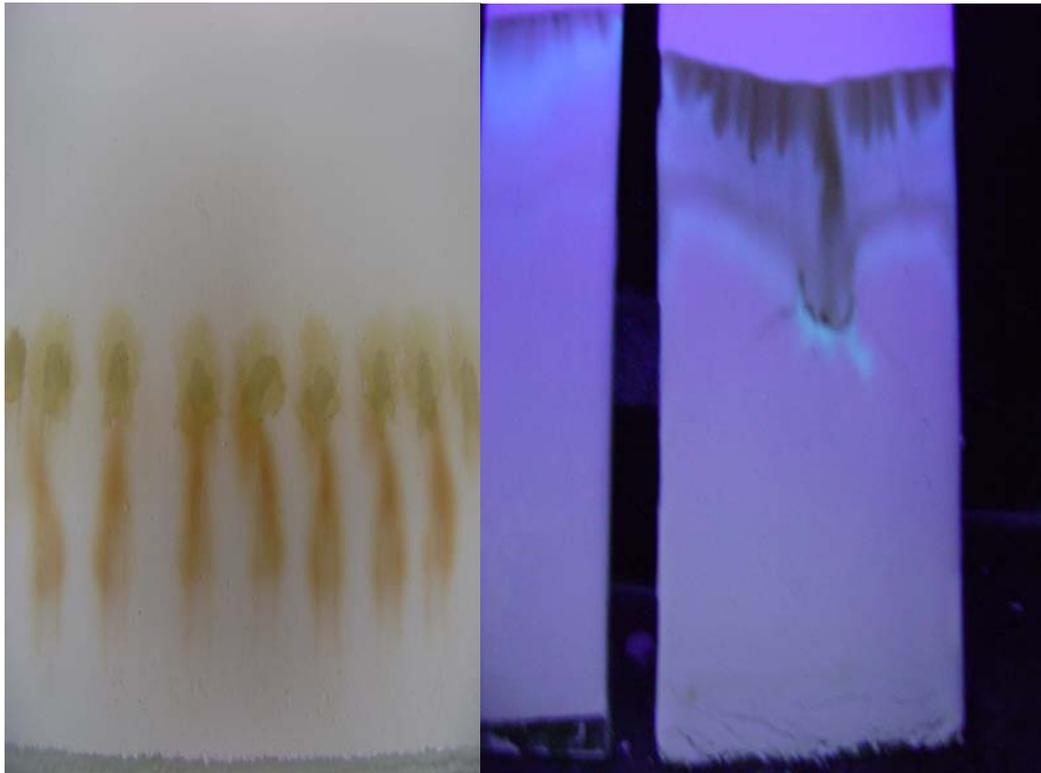


Figura N° 06: Componentes de *Jatropha macrantha* Mull Arg “huanarpo macho”; flavonoides. C.C.F: Silicagel G-60; BAW 4:1:5; Reveladores:
a) Visible.

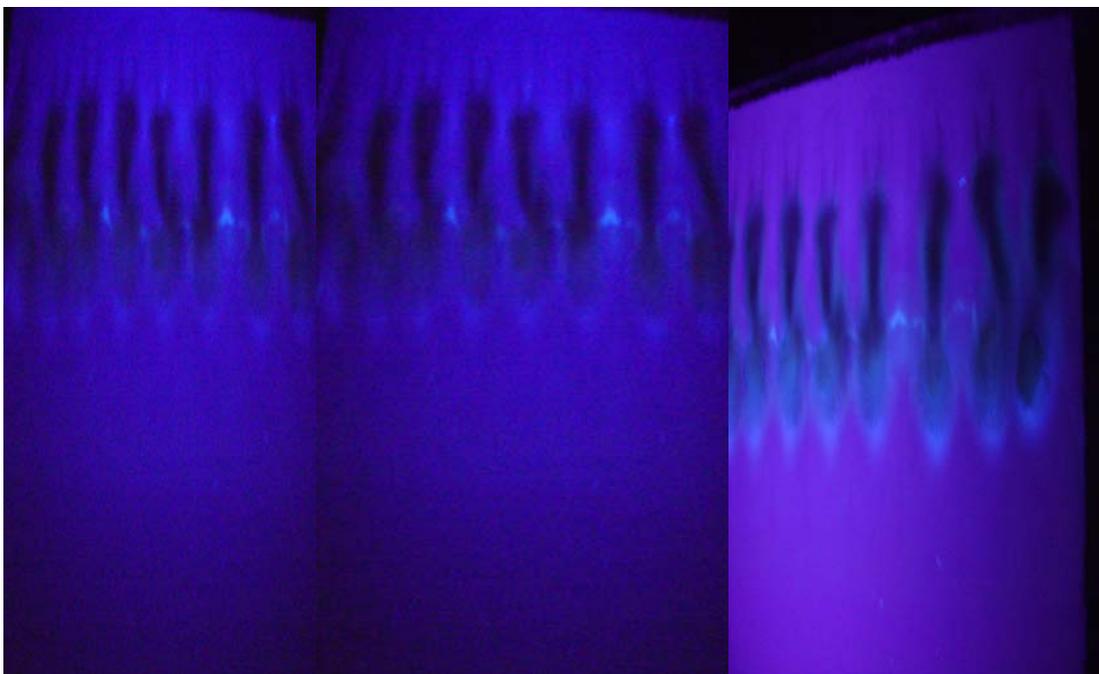


Figura N° 07: Componentes de *Jatropha macrantha* Mull Arg “huanarpo macho”; flavonoides. C.C.F: Silicagel G-60; BAW 4:1:5; Reveladores:
b) Luz UV 366nm.

3.2.2.3. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA A ESCALA PREPARATIVA

Con la finalidad de aislar y purificar los componentes químicos o metabolitos secundarios presentes en el extracto, se realizaron cromatografías en capa fina a escala preparativa, utilizando como soporte placas de vidrio de 20 x 20 cm, como adsorbente silicagel G tipo 60, como sistemas de solventes BAW, y observándose con luz UV a 254 y 366 nm, fueron separados con mezclas de metanol y cloroformo, en forma repetitiva hasta lograr la pureza adecuada para su posterior elucidación estructural mediante espectroscopía UV y IR.

3.2.2.4. ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL DE COMPONENTES AISLADOS (Mabry, 1970)⁷⁰

Los componentes químicos aislados mediante cromatografía en capa fina a escala preparativa, fueron estudiados espectroscópicamente mediante lecturas al UV, IR y correlacionados químicamente con reactivos de desplazamiento como metóxido de sodio, y tricloruro férrico más ácido clorhídrico, los que unidos a los resultados cromatográficos y a las reacciones químicas específicas, permitieron sugerir las estructuras químicas.

3.2.2.5. ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV. (Mabry, 1970)⁷⁰

Luego de separar las manchas de las placas cromatográficas a escala preparativa, se procedió a extraer utilizando cloroformo y metanol para separarlos de la silicagel. Se obtuvieron 11 fracciones, que poseían fluorescencias, desde los colores verde turquesa, anaranjado y celeste respectivamente.

Todas las fracciones aisladas y purificadas al análisis espectrofotométrico UV, IR observándose que las fracciones 01, 06, 07 al 11 se encontraban impuras o presentaban mezclas de varios componentes, razón por la cual no fueron sometidas a análisis posteriores, sin embargo se debe indicar que las fracciones 02 al 05 estaban constituidas de flavonoides.

Al analizar los espectros UV de las fracciones numeradas como 02 al 05, comparando las longitudes de onda de los picos de cada fracción, con una

tabla de referencia y correlacionando los datos obtenidos mediante reacciones de desplazamiento, nos permitió elucidar las estructuras propuestas.

3.2.3.-Diseño Experimental farmacológico:

TRATAMIENTO EXPERIMENTAL (Yakubu et al, 2007)³⁴.

3.2.3.1.-Determinación del efecto sobre el comportamiento sexual de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. “huanarpo macho”.

Se seleccionaron para el estudio, ratas macho albinas, con verificación normal de actividad sexual, saludables y que mostraron dinamismo en la actividad sexual.

Después de extraer la administración en diversas concentraciones a diversos grupos de los animales en función del diseño experimental y el objetivo del estudio, los machos fueron llevados al laboratorio y expuestos a la luz tenue (a 1w tubo fluorescente en un laboratorio de 14' x 14') en un plazo estipulado de pruebas al día durante algunos días (3 a 6 días) antes del experimento las hembras fueron artificialmente inducidas en celo debido a que las ratas hembra permiten el apareamiento, sólo en la etapa del celo con la administración secuencial del benzoato de estradiol (10ug/100g de peso corporal) y progesterona (0.5mg/100g de peso corporal) a través de inyecciones subcutáneas, 48 horas y 4 horas, respectivamente antes del apareamiento. La receptividad de las hembras fueron confirmadas antes de la prueba exponiéndolas a los machos, aparte animales de control y de prueba. Las hembras más receptivas fueron seleccionadas para el estudio. El experimento se realizó a las 20:00 horas en el mismo laboratorio y bajo luz de la misma intensidad.

Los parámetros de comportamiento sexual masculino son:

Frecuencia de monta.-Es el número de montas sin penetración desde el momento de la introducción de la hembra a la jaula del macho hasta la eyaculación.

Frecuencia de intromisiones.-Es el número de penetraciones desde el momento de la introducción de la hembra a la jaula del macho hasta la eyaculación.

Frecuencia de eyaculaciones.-Es el intervalo de tiempo entre la introducción de la hembra y la primera monta del macho.

Latencia de intromisiones.-Es el intervalo de tiempo desde el momento de la introducción de la hembra a la primera penetración del macho. Por lo general es caracterizado por el empuje pélvico, y salto para desmontar.

Latencia eyaculatoria.-Es el intervalo de tiempo entre la primera penetración y la eyaculación. Por lo general es caracterizado por un prolongado, profundo empuje pélvico y lento desmontaje seguido de un periodo de inactividad o actividad reducida.

Latencia post eyaculatoria.-Es el intervalo de tiempo entre la eyaculación y la primera penetración de las siguientes series.

Diseño Experimental:

Se tomaron 5 grupos, cada grupo con 10 animales distribuidos aleatoriamente:

Al primer grupo se le administró solamente agua a una concentración de 10 ml/kg, de peso la cantidad de 2.8 ml; al segundo grupo se le administró sildenafil a la concentración de 5mg/kg, de peso la cantidad de 1.4 ml; tanto al tercer, cuarto y quinto grupo se les administró el extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. "huanarpo macho" a las concentraciones de 100, 200 y 300 mg/Kg respectivamente.

3.2.3.2.-DETERMINACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO (MÉTODO DE GRIESS)

(Cross, 1994)³⁵

Los niveles de NO, se determinaron indirectamente por la conversión en nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-), que son los principales productos de degradación del NO y que son estables (NO_2^- y $\text{NO}_3^- = \text{NO}_x$).

El fundamento de esta reacción se basa en la absorbancia del azocromóforo magenta, formado por la diazotación del nitrito con el ácido sulfanílico y el subsiguiente acoplamiento del N-(1-naftil)etilendiamina, bajo condiciones ácidas (ácido fosfórico).

Este sistema detecta al NO_2^- en una gran variedad de Líquidos biológicos y experimentales tales como el plasma, suero y orina y medios de cultivo celular. Las lecturas de la absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro a

550 nm y son referidas a la absorbancia de soluciones de nitrito de sodio estándar con la cual se elaboró la curva de calibración.

Estándar de nitritos

A partir de una solución madre de nitrito de sodio de 25 μ M, se preparó diferentes concentraciones como se indica en la tabla N° 01. Luego se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente, se agitó y se midió en espectrofotómetro a 550 nm.

Tabla N° 01: Determinación del estándar de nitritos.

	Blanco	0.5 μ M	1.25 μ M	2.5 μ M	5 μ M	12.5 μ M	Problema
NaNO₂ (25μM)	----	0.010ml	0.025	0.050	0.100	0.250ml	----
H₂O Dest.	0.250ml	0.240ml	0.225	0.200	0.150	----	----
Muestra	----	----	----	----	----	----	0.250 ml
Griess	0.250ml	0.250ml	0.250	0.250	0.250	0.250ml	0.250 ml

Obtención de muestra: Se recogió la sangre en tubos heparinizados. se tomaron las muestras de sangre por punción cardiaca o decapitación de la vena yugular de la rata macho utilizando jeringas, las cuales fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos para separar los elementos formes del plasma.

Desproteínización del plasma: a 1.6 ml de plasma se le agregó, 1.2 ml de agua destilada, 0.2 ml de NaOH 1M y 0.2 ml de ZnSO₄ al 30%. Se agitó durante 1 minuto por tres veces, obteniéndose una solución lechosa y después se centrifugó a 3500 rpm durante 10 minutos.

Reducción de los nitratos: A 1ml de plasma desproteínizado, se agregó una alícuota de zinc metálico en polvo y se dejó reposar durante 1 hora y 45 minutos agitando el tubo cada 30 minutos; pasado este tiempo se centrifugó a 3500 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se trasvasó para la reacción de Griess y su lectura en el espectro.

Reacción de Griess: A 1ml de plasma desproteínizado se le agregó 0.5 ml de reactivo Griess A (Ácido sulfanílico 1% en ácido fosfórico al 5%) y 0.5 ml de reactivo Griess B (N -1- Naftiletildiamina al 0.1 % en agua destilada), se dejó reposar 10 minutos (color magenta) se centrifugó a 3500 rpm durante 10

minutos y se leyó en el espectrofotómetro a 550 nm, utilizando un estándar de nitritos (Anexo N° 3).

Los resultados obtenidos mediante la aplicación de la ecuación de la curva de calibración se multiplicaron por cuatro, teniendo en cuenta las diluciones (Cross, 1994)³⁵.

3.2.3.3.- SISTEMA DE ÓRGANOS AISLADOS PARA EL CUERPO CAVERNOSO DEL ORGANO REPRODUCTOR. (Angulo, 2003)³⁶.

Sirven para mantener en condiciones vitales un órgano o un segmento de éste, donde es necesario proporcionar todos los elementos indispensables para su mantenimiento y estabilidad. Se utilizó ratas de 350 g aislando el órgano se virió en el líquido nutritivo Krebs - en buffer phosphate salina con oxigenación 95.0% O₂ y 5.0% CO₂ por un tiempo de 30 minutos se aisló de uno a dos tiras del músculo liso del cuerpo cavernoso (09 mm de longitud y 1–2 mm de grosor) diseccionando una parte del pene. Se trabajó con una parte de la tira o el órgano sin contaminantes con la solución que contuvo la solución de Krebs (pH 7.3) con la siguiente composición: NaCl = 7.01 g/l, KCl = 0.34 g/l, KH₂PO₄ = 0.1 g/l, NaHCO₃ = 1.99 g/l, CaCl₂ = 0.2 g/l, MgSO₄ = 0.3 g/l y glucosa = 1.8 g/l. se repitió las operaciones utilizando las fracciones del huanarpo macho y como control positivo el sildenafilo (Viagra-Pfizer, 3.2 × 10⁻⁵ mg/ml).

Se adicionó al líquido nutritivo al momento de usar; de otro modo constituiría un excelente medio de cultivo de microorganismos, pH, que esta determinado por el fosfato y el bicarbonato, Temperatura adecuada, es uno de los factores a tener en cuenta para estos trabajos. Se consideró según el tejido; así por ejemplo en el caso de los anfibios se puede usar una temperatura baja o ambiental, ya que estos pueden sobrevivir por largos periodos a esta temperatura. En cambio los tejidos de mamíferos necesitan una temperatura de 37°C ± 1°C, sin embargo pueden durar más tiempo a menor temperatura (30°C) pero la sensibilidad a las drogas es alterada por cambios mínimos. Fue necesario tener ciertas precauciones cuando se añadió la solución a la droga, tales como: (Angulo, 2003)³⁶:

a) No se añadió fría ni directamente sobre el órgano o tejido.

- b) El volumen añadido estuvo de acuerdo con la capacidad de la cámara que contuvo el órgano.
- c) Se usó como solvente el suero nutricio con que se trabaja.

3.2.3.4.-EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA:

DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA (Cyted, 1995)³⁷.

1) ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN: Los animales sometidos a este ensayo, fueron ratones albinos adultos machos de 25 +/- 5 g de peso aproximadamente, los cuales fueron mantenidos a condiciones ambientales y a temperaturas adecuadas; dejándolos en ayunas por 24 horas con agua *ad libitum*. Los animales no fueron utilizados previamente en otras pruebas.

Los animales de experimentación utilizados fueron de la especie *Mus musculus* variedad albina, adquiridos del Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Producción de Biológicos, Lima.

2) PREPARACIÓN DE LA MUESTRA: El extracto metanólico seco de la planta se suspendió en goma arábica al 5%, preparada en solución salina fisiológica y agitada en un vortex para lograr una suspensión homogénea (Cyted, 1995)³⁷.

3) PROCEDIMIENTO DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL: La administración del extracto se realizó en los ratones previamente pesados en ayunas. Esta operación se hizo de la manera siguiente: se cogió al animal con la mano derecha y con los dedos de la izquierda la piel de la parte dorsal del cuello, volteándolo; quedo así con el vientre hacia arriba. Un auxiliar, mediante una pinza de disección separó los dientes del animal y el operador, que está sujetando al ratón con la mano izquierda, introdució el catéter, previamente lubricado con vaselina líquida, con la mano derecha, cuidando de no dañar las vías respiratorias, inyectando la solución en el estómago, en un volumen constante de 0.5 ml para cada muestra.

4) DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA: El método consistió en el tratamiento de un grupo de animales con una serie, matemáticamente relacionada de dosis, con el que se determinó la dosis que mataría al 50% del grupo y la función dosis-respuesta. El estudio toxicológico de la muestra se realizó mediante el ensayo de la DL₅₀ para lo cual se emplearon 80 ratones albinos machos.

g.- Análisis de los Resultados.

Los resultados fueron presentados en tablas y gráficos y fueron sometidos a un análisis de varianza y a la prueba de Tukey para comprobar las diferencias entre las medias a un 95% de confianza. Determinándose la eficacia del extracto metanólico en ratas con inducción de disfunción eréctil, asimismo se determinó el nivel de bioactividad y toxicidad, se observó la variable dependiente decesos. El cálculo de la DL_{50} se realizó por medio del método estadístico de los Probits teniendo en cuenta las concentraciones administradas, para luego realizar la bioactividad y la clasificación toxicológica del extracto metanólico de huanarpo macho.

IV.-RESULTADOS

Al evaluar el extracto metanólico se ha encontrado los siguientes resultados:

- 1 El rendimiento del extracto metanólico fue del 10%, cuyas características fueron masa pegajosa de color marrón rojizo con sabor amargo.
- 2 En la tabla 2, se muestra que se encontraron en mayor cantidad lactonas y cumarinas, terpenos, flavonoides, catequinas, azúcares reductores y aminoácidos libres.
- 3 La elucidación de estructura química del extracto metanolico del huanarpo macho ha encontrado como componentes químicos: 6-hidroxi -4',5,7-trimetoxi flavona; 4',7-dihidroxi- 5,6-dimetoxiflavona; 7-hidroxi-3',4',5',5,8-pentametoxiflavona; 4',7-dihidroxi-3',5,6-trimetoxiflavona (figuras 8,9,10 y11).
- 4 En el comportamiento sexual se evaluaron los parámetros propuestos para este como la Frecuencia de Monta, Frecuencia de intromision, de eyaculación, Latencia de Monta, Latencia de intromisión, Latencia Eyaculatoria y Latencia Post Eyaculatoria observándose que en la mayoría hay una marcada eficacia del extracto metanólico.
- 5 Indujo un incremento dosis dependiente de los niveles de óxido nítrico en plasma de ratas.
- 6 Produjo una relajación del músculo liso del cuerpo cavernoso de rata.
- 7 En la evaluación de la Dosis letal a las 72 horas de administración por vía oral tuvo una DEM de 1357 mg/Kg en ratones

1.-Determinación de la naturaleza química del extracto utilizando técnicas Cromatográficas y espectrales:

A.- Obtención del extracto Metanólico y Rendimiento:

maceradas por un periodo de 14 días, para lo cual se tomo 500g el cual fue vertida en una botella con 2L a 3L (Dilución 1/4 a 1/6) de metanol, luego este macerado se procedió a la filtración con un sistema de vacio utilizando papel whatman, luego se concentró usando un rotavapor con sistema de vacio a 30

°C y finalmente se secó en una estufa a 40 °C. obteniéndose una masa pegajosa de color marrón rojizo con sabor amargo.

B.-Estudio fitoquímico:

En la tabla N° 02, se muestra que se encontraron en mayor cantidad lactonas y cumarinas, terpenos, flavonoides, catequinas, azúcares reductores y aminoácidos libres.

Tabla N° 02: Screening Fitoquímico del extracto metanólico de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. "huanarpo macho".

METABOLITOS SECUNDARIOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
FENOLES Y TANINOS - Ensayo de Cloruro Férrico	(+)	Ligera coloración verde azulado.
LACTONAS Y CUMARINAS - Ensayo de Baljet	(+ + +)	Coloración rojo vino
GLICÓSIDOS CARDENÓLIDOS - Ensayo de Kedde	(+)	Coloración violeta
TERPENOS -Ensayo de Lieberman	(+ + +)	Coloración rosado
FLAVONOIDES - Ensayo de Shinoda	(+ + +)	Coloración amarillo rojizo
QUINONAS - Ensayo de Borntrager	(-)	Coloración rojo y olor amoniacal
ALCALOIDES - Ensayo de Mayer	(+)	Formación de ligero precipitado de color anaranjado
SAPONINAS - Ensayo de Espuma	(+ +)	Si hay formación de espuma y perdura en el tiempo
AZÚCARES REDUCTORES - Ensayo de Benedict	(+ + +)	Coloración rojo ladrillo
AMINOÁCIDOS LIBRES - Ensayo de Ninhidrina	(+ + +)	Coloración violeta
ENSAYO DE RESINAS	(-)	No hay cambio de color
CATEQUINAS -Ensayo de Catequinas	(+ + +)	Coloración verde turquesa al espectro ultravioleta

Legenda: Ausente (-); Poca cantidad (+); Regular Cantidad (++); Abundante cantidad (+++)

2.-Elucidación de la estructura química de algunos metabolitos secundarios del extracto metanolico del huanarpo macho.

A.- Análisis Espectrofotométrico de la fracción metanólica de *Jatropha macrantha* Mull Arg "huanarpo macho"

Se han encontrado sustancias cuyas estructuras químicas se proponen:

Fracción 2. Lecturas en el espectro UV-visible:

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH} : 275, 315 \text{ nm}$$

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na} : 275, 315 \text{ nm}$$

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3} : 275, 315 \text{ nm}$$

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3 + HCl} : 275, 315 \text{ nm}$$

Comparando con las tablas de Mabry y col. notamos que se trataba de:

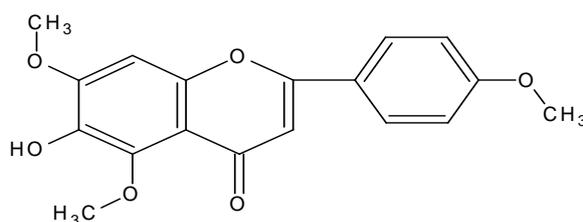


Figura N°08: 6-hidroxi -4',5,7-trimetoxi flavona

Fracción 3. la lectura en el espectro UV-visible: máx. fue:

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH} : 274, 316 \text{ nm}$$

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na} : 344, 362 \text{ nm}$$

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3} : 275, 315 \text{ nm}$$

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH + AlCl_3 + HCl} : 275, 315 \text{ nm}$$

Se procedió a realizar la interpolación respectiva entre los valores de onda hallados y comparando con los datos, se sugiere la siguiente estructura: 4',7-dihidroxi- 5,6-dimetoxiflavona

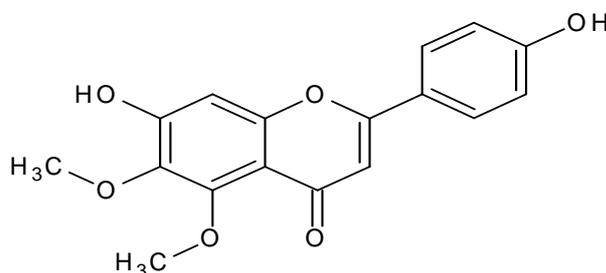


Figura N°09: 4',7-dihidroxi- 5,6-dimetoxiflavona

Fracción 4. la lectura en el espectro UV-visibles: máx. fue:

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 278, 331 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na}$: 295, 331 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3}$: 275, 331 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl}$: 275, 331 nm

Comparando con las tablas de Mabry y col. Notamos que se trataba del 7-hidroxi-3',4',5',5,8-pentametoxiflavona

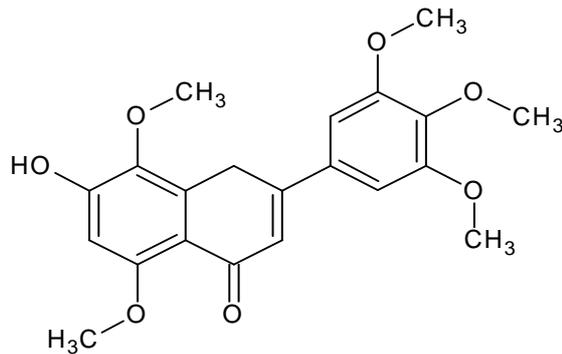


Figura N°10: 7-hidroxi-3',4',5',5,8-pentametoxiflavona

Fracción 5. la lectura en el espectro UV-visibles: máx. fue:

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 278, 330 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na}$: 300, 350 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3}$: 278, 330 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl}$: 278, 330 nm

Comparando con las tablas de Mabry y col. Notamos que se trataba del 4,7-dihidroxi-3',5,6-trimetoxiflavona

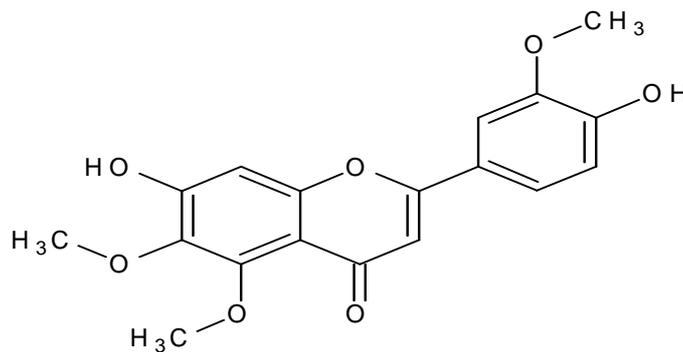


Figura N°11: 4,7-dihidroxi-3',5,6-trimetoxiflavona

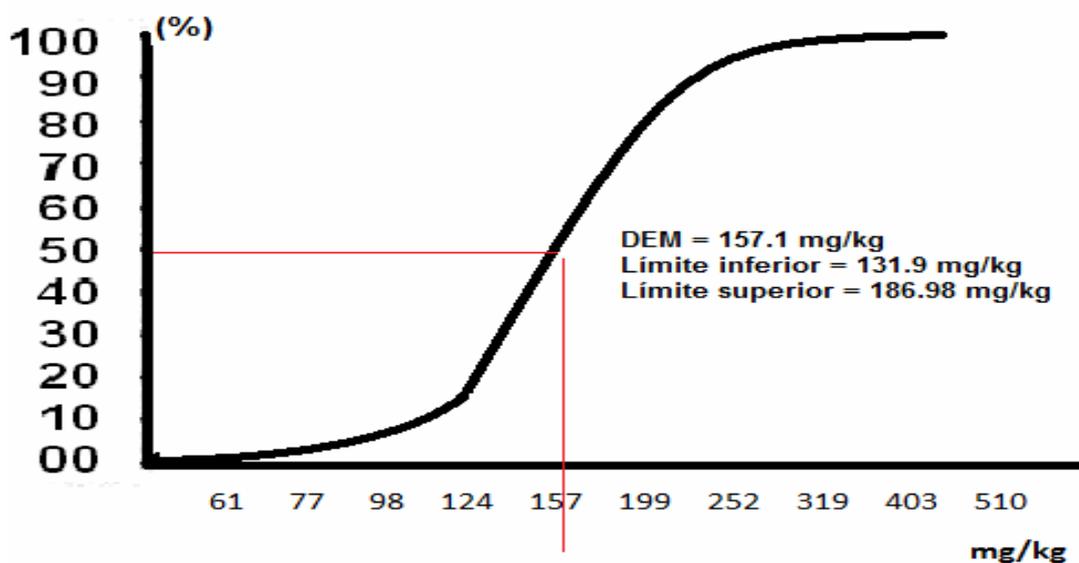
3 **Determinación del efecto sobre el comportamiento sexual del extracto metanólico de *Jatropha macranta* "huanarpo macho" en ratas inducidas a disfunción eréctil**

En la frecuencia de monta el efecto dosis dependiente presento un incremento siendo estos $(10,10 \pm 0.1; 18,80 \pm 0.2$ y $23,10 \pm 0.1$ a 100, 200 y 300 mg/kg respectivamente, con un valor, en tanto que sildenafilo lo fue hasta $24,0 \pm 0.5$ montas. (Tabla 3, Figura 12).

Tabla N°3. Frecuencia de monta al administrar por vía oral el extracto metanólico de *Jatropha macranta* “huanarpo macho” en ratas inducidas a disfunción eréctil

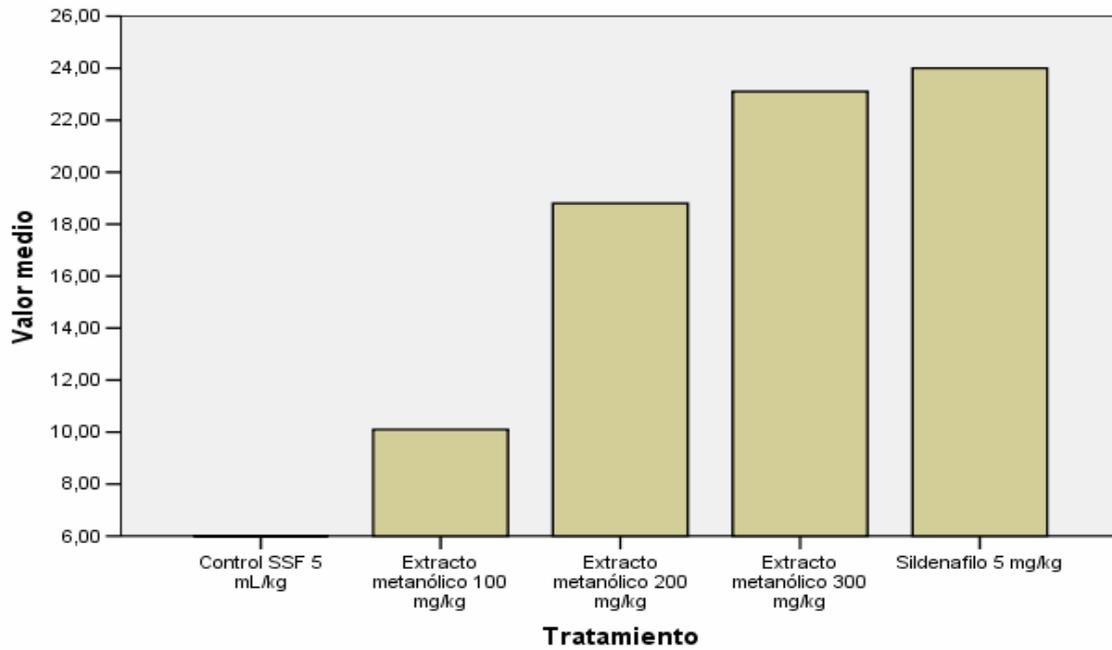
Nro	Tratamiento	Valor medio \pm Error estándar	Variación	Porcentaje de variación (%)	Efecto de huanarpo (%)
1	Solvente 5 mL/kg	$6,00 \pm 0.3$	0	0	0
2	Extracto 100 mg/kg	$10,10 \pm 0.1$	4.10	22.78	23.97
3	Extracto 200 mg/kg	$18,80 \pm 0.2$	12,80	71.11	74.85
4	Extracto 300 mg/kg	$23,10 \pm 0.1$	17.10	95.00	100.00
5	Sildenafil 5 mg/kg	$24,00 \pm 0.5$	18.00	100.00	0

n = 10; p<0,05 Efecto dosis dependiente. Variación = Tratamiento – solvente.



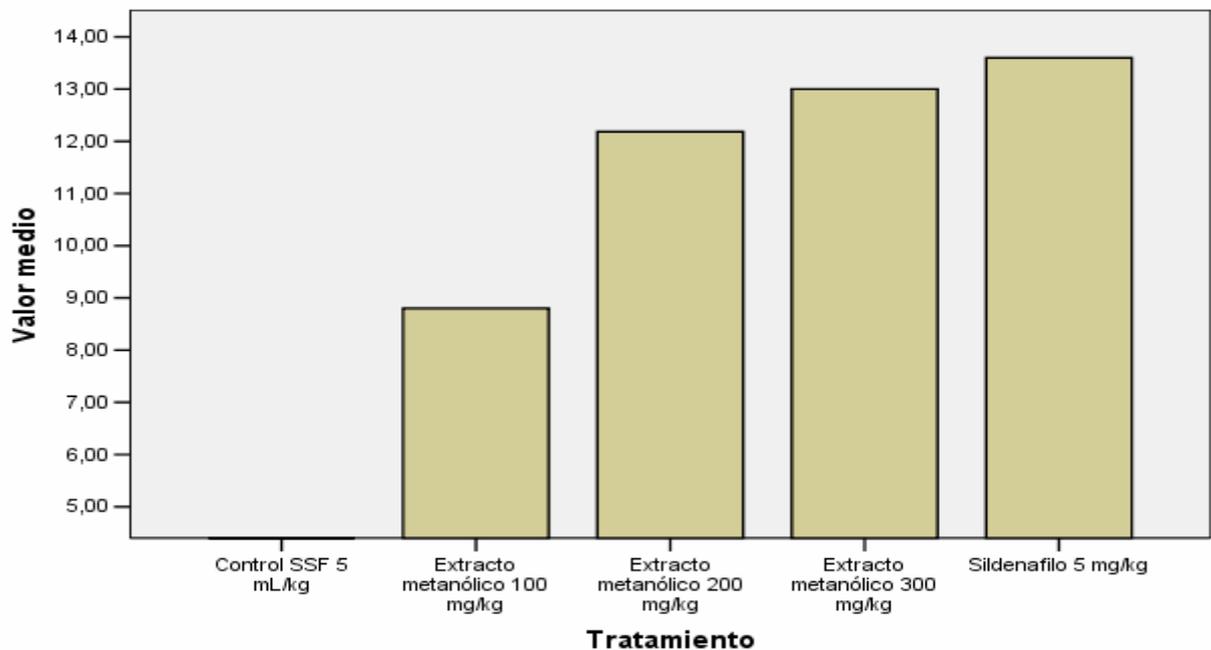
Dosis efectiva media (DEM) del efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg.

Figura N° 12: Dosis efectiva media (DEM) del efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arga “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil.



Frecuencia de monta al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil.
Figura N° 13: Frecuencia de monta al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil.

En la frecuencia de intromisiones el efecto dosis dependiente presentó un incremento siendo estos $(8.8 \pm 0.2; 12.2 \pm 0.2$ y 13.0 ± 0.4 a 100, 200 y 300 mg/kg respectivamente, con un valor, en tanto que sildenafil lo fue hasta 13.6 ± 0.2 intromisiones. (Figura 14).



Frecuencia de intromisiones al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arga “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil.
Figura N° 14: Frecuencia de intromisiones al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arga “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil.

En la frecuencia de eyaculaciones el efecto dosis dependiente presento un incremento y disminución siendo estos $(33.8 \pm 0.0, 30.1 \pm 0.0$ y 28.4 ± 0.1 a 100, 200 y 300 mg/kg respectivamente, con un valor, en tanto que sildenafil lo fue hasta 29.8 ± 0.2 eyaculaciones. (Figura 15).

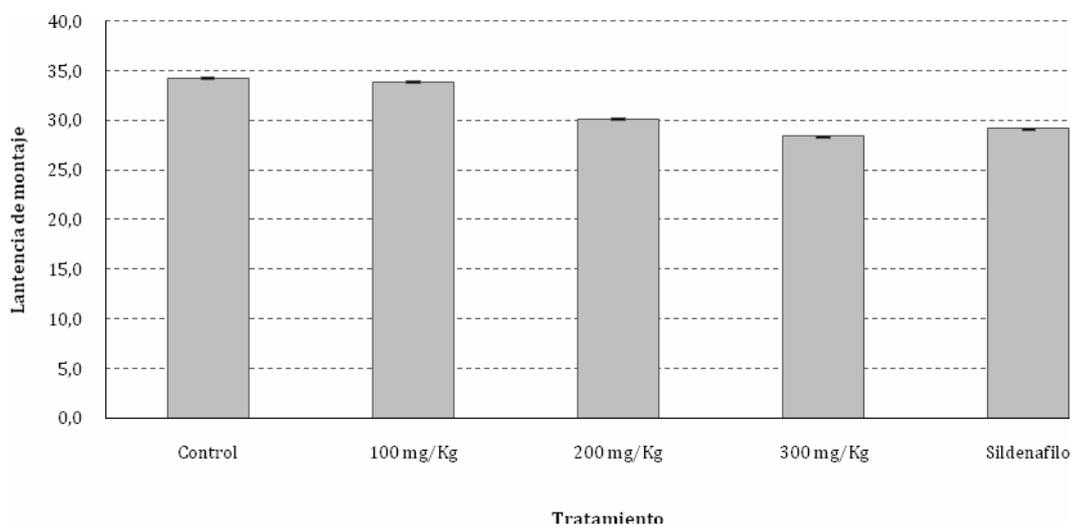


Figura N°15.- Frecuencia de eyaculaciones al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg. “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil

En la Latencia de intromisiones el efecto dosis dependiente presento un incremento y disminución siendo estos $(33.8 \pm 0.0, 35.6 \pm 0.0$ y 21.8 ± 0.0 a 100, 200 y 300 mg/kg respectivamente, con un valor, en tanto que sildenafil disminuyo hasta 26.8 ± 0.0 intromisiones. (Figura 16).

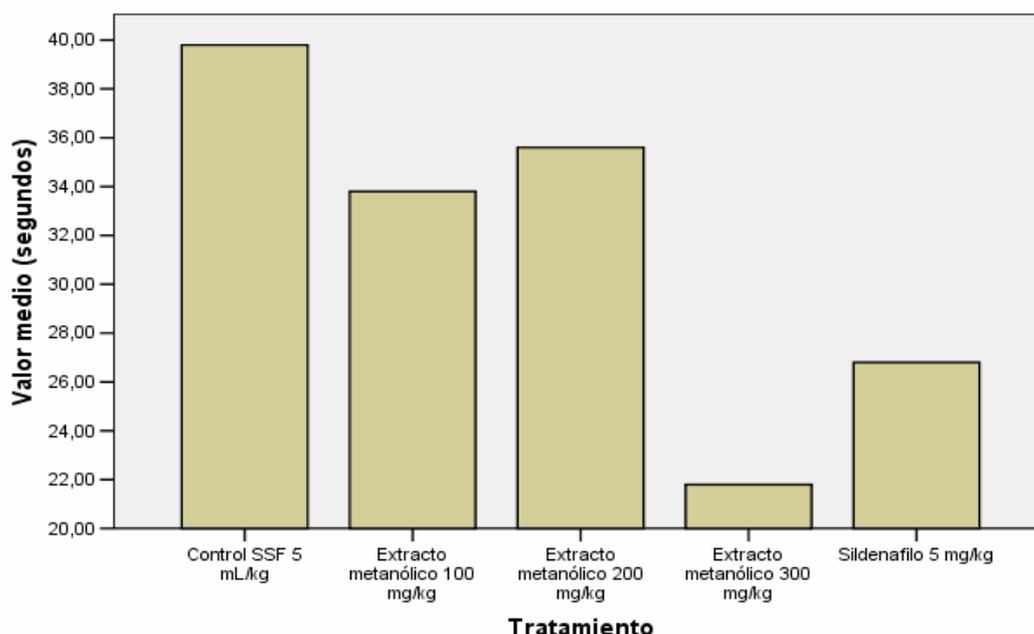
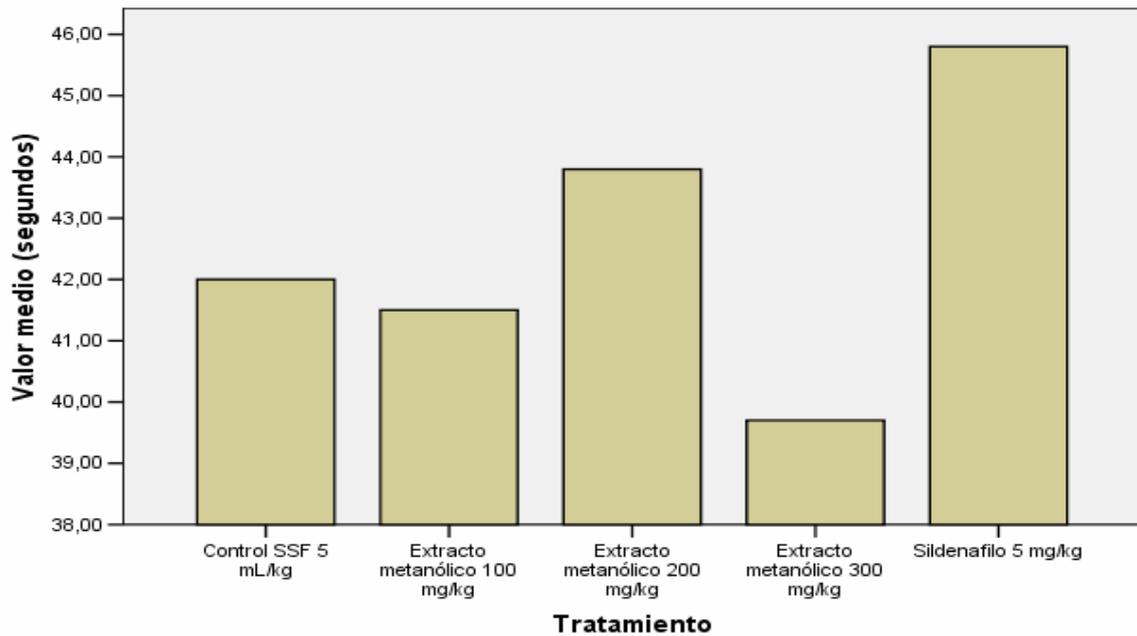


Figura N° 16: Latencia de intromisiones al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil.

En la Latencia de eyaculaciones el efecto dosis dependiente presento un incremento y disminución siendo estos $(41.5 \pm 0.0, 43.8 \pm 0.0$ y 39.7 ± 0.0 a 100, 200 y 300 mg/kg

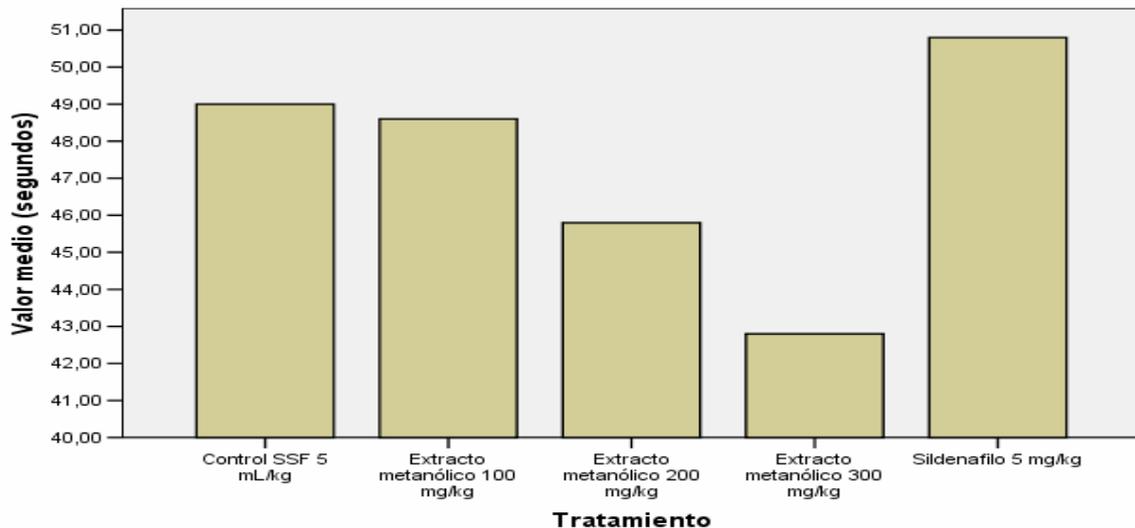
respectivamente, con un valor, en tanto que sildenafilo lo fue hasta 45.8 ± 0.0 eyaculaciones. (Figura 17).



Latencia de eyaculaciones al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. “huanarpo macho”

Figura N° 17: Latencia de eyaculaciones al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arga “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil.

Er incremento y disminución siendo estos $(40.0 \pm 0.0, 40.0 \pm 0.0$ y 42.0 ± 0.0 a 100, 200 y 300 mg/kg respectivamente, con un valor, en tanto que sildenafilo lo fue hasta 50.8 ± 0.0 post eyaculaciones. (Figura 18).



Latencia de post-eyaculaciones al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. “huanarpo macho”

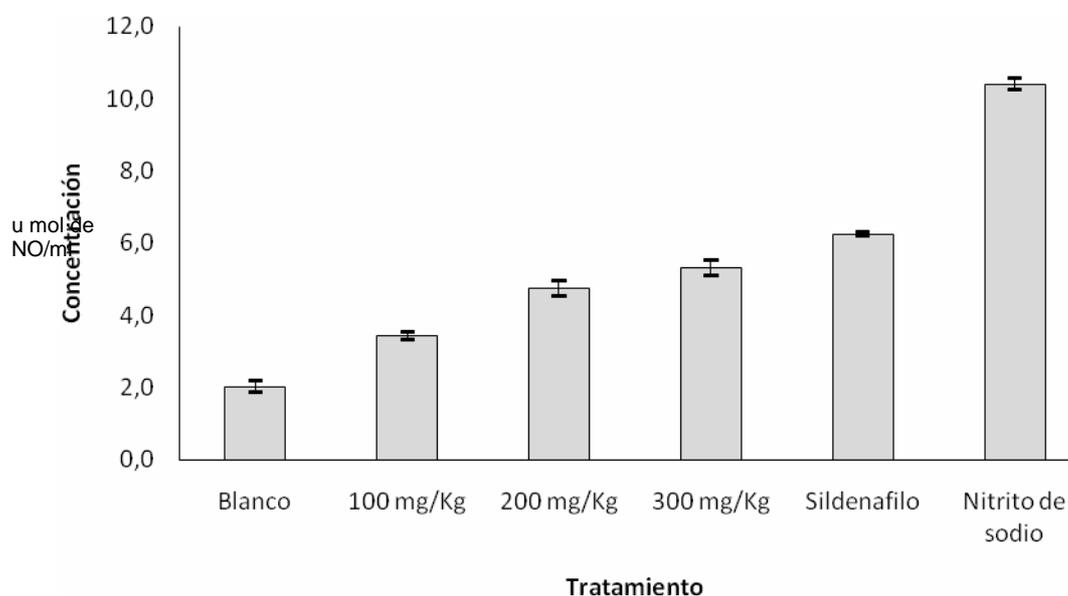
Figura N° 18: Latencia de post eyaculaciones al evaluar el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arga “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil.

4.-correlación directa entre la disfunción eréctil y los niveles plasmáticos de óxido nítrico en ratas con disfunción eréctil que reciben el extracto metanólico de *Jatropha macranta* “huanarpo macho”

Tabla N° 04. Frecuencia de monta al administrar por vía oral el extracto metanólico de *Jatropha macranta* “huanarpo macho” en ratas inducidas a disfunción eréctil

Nro	Tratamiento	Valor medio \pm Error estándar	Variación	Porcentaje de variación (%)	Efecto de huanarpo (%)
1	Solvente 5 mL/kg	2.028 \pm 0.3	0	0	0
2	Extracto 100 mg/kg	2.432 \pm 0.1	0.404	4.81	12.29
3	Extracto 200 mg/kg	4.746 \pm 0.2	2.718	32.4	82.66
4	Extracto 300 mg/kg	5.316 \pm 0.1	3.288	39.2	100.00
5	Sildenafil 5 mg/kg	6.264 \pm 0.5	4.236	50.5	0.00
6	Nitrito de sodio	10.416 \pm 0.5	8.388	100	0.00

n = 10; p<0,05 Efecto dosis dependiente. Variación = Tratamiento – solvente.

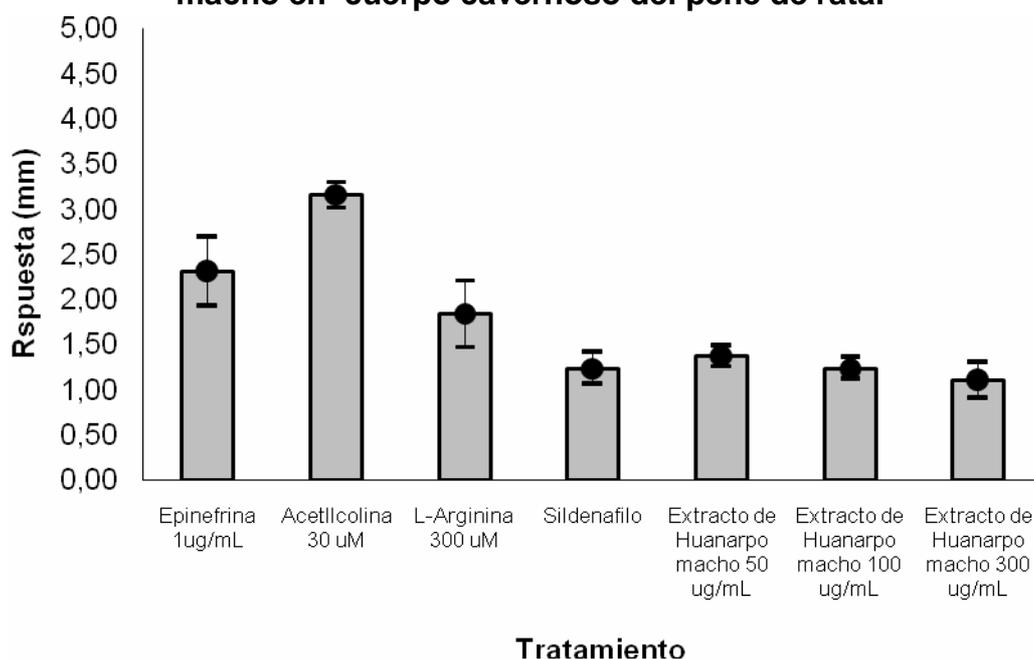


ANVA: p < 0,05: SIGNIFICATIVO

Figura N° 19 : Efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* “huanarpo macho” sobre los niveles plasmáticos de oxido nítrico en ratas con inducción de disfunción eréctil.

El extracto metanólico de hojas huanarpo indujo un incremento dosis dependiente de los niveles de óxido nítrico en plasma de ratas (p<0,05)

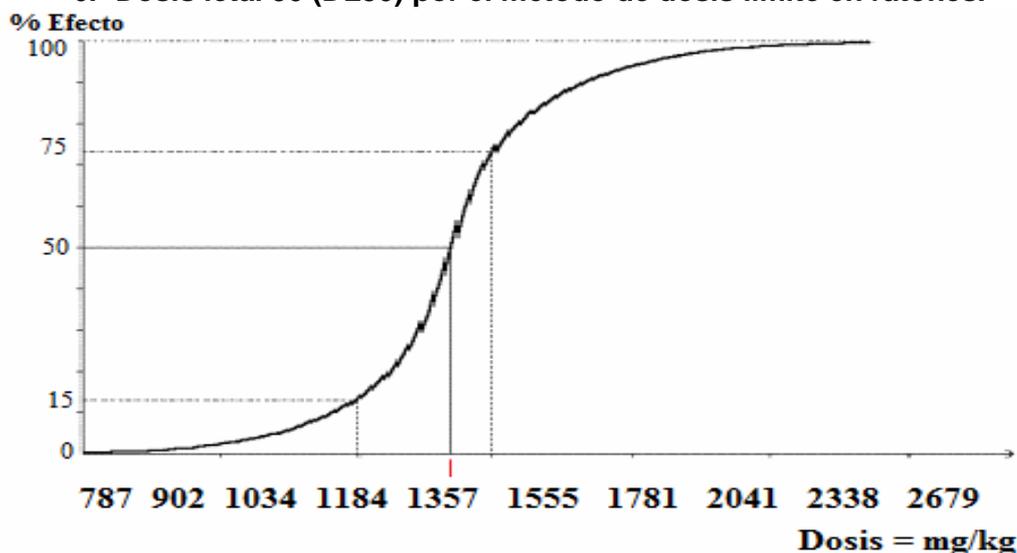
5.- Efecto vasodilatador in Vitro del extracto metanolico del huanarpo macho en cuerpo cavernoso del pene de rata.



ANVA; $p < 0,05$

Figura N° 20 : Efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* “huanarpo macho” sobre el órgano aislado de cuerpo cavernoso de rata. El extracto metanólico de hojas huanarpo relajo el músculo liso del cuerpo cavernoso de rata y lo hizo dependiente de la concentración de extracto ($p < 0,05$)

6.- Dosis letal 50 (DL50) por el método de dosis límite en ratones.



DEM 1357 mg/kg. Intervalo de confianza 95%

Límite inferior = 1193.1 mg/kg - Límite superior 1543.2 mg/kg

Figura N°21: Dosis letal del extracto metanólico *jatropha macrantha* Mull Arg “huanarpo macho” en ratones a las 72 horas de administración por vía oral.

V.- DISCUSION

La presente investigación ha evaluado una planta nativa proveniente de la localidad de Vilcas Huaman, departamento de Ayacucho, habiéndose demostrado el efecto modulador de la erección, al utilizar por vía oral el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Mull Arg “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil, a continuación se busca dar explicaciones de tales hallazgos, comparando con otros de acertada base científica.

El estudio fitoquímico mediante espectrofotometría UV visible de la fracciones aisladas del extracto metanólico ha revelado los respectivos espectros de posibles estructuras químicas que al ser comparadas con lo publicado por **Mabry TJ. et al 1970 y por análisis de los reactivos de desplazamiento.** Según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde esta fracción es de una flavona, al tratarlo con metóxido de sodio no hubo efecto bacterocromico tanto en el anillo A como el anillo C, lo que nos indicaría que el compuesto no tiene hidroxilos libres en la posición 4' y en 7, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio no se observo efecto bacterocromico que luego al tratarlo con HCl los picos se mantienen, esto nos indica ausencia de hidroxilos libres en la posición 5, así como ausencia de hidroxilos adyacentes o en posición orto, por ello se estaría justificando la presencia de la estructura: 6-hidroxi -4',5,7-trimetoxi flavona (Figura N°08).

Se dispondría de la presencia de otra estructura química: 4',7-dihidroxi- 5,6-dimetoxiflavona (figura N° 09), basados en que el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde esta fracción es de una flavona, al tratarlo con metóxido de sodio hay un marcado efecto bacterocromico lo que nos indica que el compuesto tiene hidroxilos libres en la posición 4' y en 7, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio no se observa cambio alguno y luego al tratarlo con HCl se mantienen los picos, lo que nos indica que en posición 5 no hay hidroxilo libre.

Por otro lado, según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde a esta fracción es de una flavona, al tratarlo con metóxido de sodio hay efecto bacterocromico lo que indicaría que el compuesto tiene hidroxilo libre en la posición 7, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio no se observa efecto

bactocrómico, por el patrón de la flavona las posiciones 5,8 estarían metoxiladas y no hay hidroxilo libre en la posición 5, pues no se observan cambios al tratarlo con $AlCl_3$ ni con HCl ; luego se propone la estructura 7-hidroxi-3',4',5',5,8-pentametoxiflavona (figura N° 10).

También se ha encontrado otra estructura química: 4',7-dihidroxi-3',5,6-trimetoxiflavona, esto se explicaría según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde a esta fracción es de una flavona, al tratarlo con metóxido de sodio hay efecto bactocromico, lo que nos indica que existen hidroxilos libres en la posición 4' y 7, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio no se observan cambios que se mantienen al acidificar con HCl , esto nos indica que no hay presencia de hidroxilos libres en las posiciones 3', 5 y 6, pero si en la posición 7, (figura N° 11). Las estructuras químicas propuestas estarían en concordancia con lo reportado por Mabry TJ. Todo ello fue elucidado en base al screening preliminar cuyo resultado evidenció la presencia de fenoles y/o taninos, lactonas y/o cumarinas, terpenos, flavonoides, alcaloides, saponinas, azúcares reductores, aminoácidos libres y catequinas (Tabla N° 02). Juárez, 1968¹⁴ separó alcaloides, sin ninguna descripción de la naturaleza química. Alcaloides como el jatrofano y maitasina fueron elucidados a partir de *Jatropha macrohiza*, y algunos diterpenos como la jatrofona de la *Jatropha gossypifolia* (Lock, 1994)⁷

Can-aké, 2004³⁹, menciona que *Jatropha* es fuente de alcaloides, diterpenos, lignanos, triterpenos y péptidos cíclicos. *Jatropha gaumeri* posee diterpenos con actividad antimicrobiana caracterizados como 2-*epi*-jatrogrossidiona y el 15-*epi*-4E-jatrogrossidentadiona. Ocof, 2009⁴⁰, reporta saponinas, esteroides, taninos, glicosidos, alcaloides y flavonoides en *Jatropha curcas*. Can-aké, 2004³⁹, identificó alcaloides de *Jatropha curcas* como la jatropina, jatrofano y la curcaina. Las hojas de *Jatropha gossypifolia* poseen flavonoides apigenina, vitexina, isovitexina, jatrolona A y B. (Benavides, 2007)⁴¹, investigación fitoquímica del extracto metanólico de tallos de *Jatropha macrantha*, aislaron catequinas, catequin-7-O-beta-glucopiranoside y Proantocianidina B-3 por RMN, los cuales tienen actividad farmacológica.

En las Figuras del N° 13 al N° 18, se observan los valores de frecuencia de monta (FM), frecuencia de intromisión (FI), Frecuencia de eyaculación (FE), latencia de intromisión (LI), latencia eyaculatoria (LE) y latencia post eyaculatoria (LPE) para el control, Sildenafil (5 mg/Kg.) a las concentraciones de 100 mg/Kg, 200 mg/Kg y 300 mg/Kg respectivamente. Los valores de la media son homogéneos en todos los tratamientos, debido a un valor pequeño de su desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación que se encuentra dentro de los límites permitidos.

Figura N° 13, se observa que la frecuencia de monta se incrementa por la estimulación del deseo sexual con el aumento de la dosis; esto se explica posiblemente por la presencia de metabolitos secundarios encontrados (Tabla N° 02); porque los flavonoides incrementan significativamente los niveles de óxido nítrico, produciendo vasorrelajación debido al incremento de calcio. También llegaron a establecer que ciertos flavonoides son hábiles para incrementar la producción de NO a través de la inhibición de las fosfodiesterasas, por ejemplo la delfinidina, una flavanona tiene el potencial de inhibir a la 2-fosfodiesterasa y a la 4-fosfodiesterasa, haciendo que las células endoteliales incrementen su producción y liberación de NO. Este mecanismo, es similar a la acción del sildenafil, que es inhibidor de la 5-fosfodiesterasa (Chen, 2008)⁵⁰

En la Figura N° 14, los valores de FI en el control fueron de $4,40 \pm 0.3$ penetraciones en una hora en el blanco, mientras que con la droga estándar se incrementó hasta $13,60 \pm 0.2$ penetraciones. Cuando se administró los tratamientos, estos lograron un efecto superior que el control, pero menor que la droga estándar, alcanzando 8.80 ± 0.2 ; 12.20 ± 0.2 ; $13,00 \pm 0.4$ penetraciones respectivamente, habiendo incremento en la actividad respecto del control; pero no alcanzando en actividad frente al estándar sildenafil a la máxima dosis de 300 mg/kg.

En la Figura N° 15, se observa en la frecuencia de intromisiones que en el control en promedio se demora $34,20 \pm 0.0$ segundos desde la penetración hasta la eyaculación, con el sildenafil este tiempo disminuye ligeramente a 29.8 ± 0.1 segundos; y con los tratamientos alcanzó una relación inversa con la

concentración, siendo $33,80 \pm 0.0$; $30,10 \pm 0.0$ y $28,40 \pm 0.1$ respectivamente, es decir a mayor dosis disminuye la latencia de monta.

En la Figura N° 16, se observa que el control en promedio se demoró $39,80 \pm 0.0$ segundos desde la introducción de la hembra a la jaula hasta la eyaculación, con el estándar este tiempo disminuye; y con los tratamientos alcanzó una relación inversa con la concentración del blanco, siendo $33,80 \pm 0.0$; $35,60 \pm 0.0$; $21,80 \pm 0.0$ respectivamente, es decir a mayor dosis disminuye la LI y por tanto, existe una disminución de la libido y aumento de la potencia sexual.

En la Figura N° 17, se observa la LE es el intervalo de tiempo entre la primera penetración y la eyaculación. En el control la LE fue de $42,00 \pm 0.3$ segundos, mientras que con la droga estándar se incremento hasta $45,80 \pm 0.0$ segundos. Cuando se administraron los tratamientos, estos lograron disminuir el tiempo alcanzando $41,50 \pm 0.0$; $43,80 \pm 0.0$; $39,70 \pm 0.0$ segundos respectivamente. Se observa que disminuye la LE cuando se administró los tratamientos, de una manera dosis dependiente, por lo que, podemos asumir que los extractos inducen un aumento de la potencia y el número de penetraciones (FP), alcanzando la eyaculación mucho más rápidamente.

La LPE es el intervalo de tiempo entre el término de la eyaculación y el reinicio de una nueva sesión de penetración. En la Figura N° 18, se observa que con el control en promedio se demoró $49,00 \pm 0.3$ segundos para reiniciar una nueva penetración, con el estándar este tiempo se incrementó ligeramente a $50,80 \pm 0.0$ segundos; y con los tratamientos se alcanzo una relación inversa con la concentración, siendo $48,60 \pm 0.0$; $45,80 \pm 0.0$; $42,80 \pm 0.0$ respectivamente, es decir, a mayor dosis disminuye la LPE.

El estudio muestra que el extracto metanólico del “huanarpo macho” mejoró significativamente la actividad sexual como observamos en la descripción de cada uno de los parámetros evaluados sobre comportamiento sexual. Esta prueba revela, que la frecuencia de monta y frecuencia de penetración tienen una variación directamente proporcional a la concentración, asimismo estos valores son estadísticamente significativos ($p < 0,05$). Es decir, a medida que aumentamos las concentraciones, aumenta la frecuencia de monta e intromisión.

Tajuddin, et al. (2004), refieren que la frecuencia de monta es un parámetro que mide el deseo sexual, comúnmente conocido como la libido sexual y la frecuencia de intromisión mide la potencia sexual. Es decir, a mayor valor de la frecuencia de monta respecto al blanco, indica que se ha logrado estimular el deseo sexual en mayor porcentaje; mientras que un mayor valor de la frecuencia de intromisión, indica que se ha logrado mantener la erección por mayor tiempo. Efectivamente, según los gráficos, se ha logrado el incremento de ambos parámetros con el extracto metanólico de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha*, por lo tanto, podemos asumir que ha tenido un efecto positivo sobre el comportamiento sexual en las ratas con disfunción eréctil.

Suresh Kumar, et al. (2000), sostienen que un posible mecanismo del aumento del deseo sexual es por un incremento de los niveles sanguíneos de progesterona, sin embargo (Oshima, 2003)², demostró que *Jatropha macrantha* no incrementaba los niveles sanguíneos de progesterona, mas bien, cuando se asociaba al *Lepidium meyenii*, recién se producía dicho incremento. A 15 y 75 mg/Kg administrados durante 15 días por vía oral aguda y crónica de Maca mejoró los parámetros de la actuación sexual a un nivel de significancia 0.05 en ratas tratadas (Cicero, et al. 2001)⁴².

Tajuddin, et al. (2004), sostienen que el parámetro que mide la disfunción sexual es la Latencia eyaculatoria, entendiéndose como un aumento en el tiempo desde la penetración hasta la eyaculación. Según la Figura N° 17, se produjo una disminución de la Latencia Eyaculatoria, como consecuencia de un aumento de la Frecuencia de intromisión a las dosis ensayadas, contrariamente al estándar quien si incrementó la Latencia Eyaculatoria. Asimismo, los autores refieren que la Latencia Post-Eyaculatoria, es un parámetro que mide el tiempo de recuperación entre una sesión a otra de apareamiento, se observa a mayor dosis, existe una disminución del tiempo de recuperación y el inicio de una nueva sesión de apareamiento, incluso más significativo que el sildenafil, debido a que esta droga solamente ayuda a mantener la erección por mayor tiempo, pero no garantiza una recuperación para una nueva sesión sexual (Oshima, 2003)².

Ageel, et al. (1994)⁴³, el extracto de *O. macuiata* (500 mg/kg, p.o.) produjo un aumento significativo en el índice de erección peneana, monta, intromisión y

frecuencias de eyaculación. Del mismo modo el extracto de *Litsea chinensis* produjo un aumento significativo en la latencia de eyaculación con una disminución significativa en la frecuencia de eyaculación. Los resultados indican que *O. macuiata* reforzó la excitación sexual en las ratas.

Podemos deducir que el extracto de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* contienen metabolitos secundarios que producen un incremento significativo de la potencia sexual, en una forma dosis dependiente inversa y en menor grado de la libido sexual comparados con los trabajos analizados.

En la Figura N° 19, nos muestra el dosaje en micro moles de óxido nítrico (NO), por mL de plasma realizadas con el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* huanarpo macho, en ratas previamente inducidas con N^G – nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME), que produce disfunción eréctil, usamos en este caso sustancias probadas como el nitrito de sodio como un donador de NO (Oaki, et al. 1990), sildenafil como un inhibidor de la PDE, y los extractos metanólicos a 100, 200 y 300 mg/Kg de peso, observándose que de una toma transversal de muestra de las ratas sacrificadas por decapitación previo tratamiento por el método de Greiss, hay un aumento en los niveles de NO, con Nitrito de sodio al 0.125% a 10.42 Umoles de NO/ml demostrando efectivamente que el nitrito de sodio está actuando como donador, e inclusive, los niveles de NO alcanzados con el nitrito de sodio (Yauri, S)⁴⁵, son significativamente superiores al compararlos con los obtenidos con sildenafil 6.26 y huanarpo macho a 300 mg/Kg de peso en 5.32 umoles de NO/ml, mayores al control que fue de 2.03, siendo la diferencia entre los tratamientos muy significativa $p < 0,05$. (Witzel, et al. 1990)⁴⁶, han indicado que la demanda por oxígeno puede exceder la capacidad cardiopulmonar para suplir suficiente oxígeno, esto conduce a un déficit de oxígeno (hipoxemia); en respuesta a ello el flujo pulsátil de la sangre aumenta y a su vez estimula la síntesis y uso de NO almacenado, que según (Gladwin, et al. 2005)⁴⁷ puede estar en forma de nitrito de sodio; el NO produce dilatación tanto en las arterias pulmonares como a nivel de las vías respiratorias, mejorando la relación ventilación/perfusión y por lo tanto también el suministro de oxígeno a los tejidos y el equilibrio homeostático del animal (Moncada, 2005)⁴. Todo esto va relacionado a los efectos adversos a consecuencia de la vasodilatación, asimismo en algunos trabajos reportados

como el de Angulo, muestran que en estados de inflamación intestinal prolongada existe una sobre producción de NO; entonces se produce lesión de la mucosa, hiperemia y ruptura de la barrera, propiciando translocación bacteriana. Es un hecho que grandes cantidades de óxidos de nitrógeno se están formando en la inflamación vía NO, pero con mayores reactividades, aumentando la permeabilidad vascular (Kubes, 1995)³⁰.

Estudios de cómo NO cambia la entrada o salida de PG/COX se ha emprendido que NO modula la producción de prostaglandina, interacciona recíprocamente NO/COX teniendo un uso clínico potencial impactando y extendiendo el interés de estos dos sistemas (Vincenzo, 2005)⁸³, relacionado el aspecto químico medicamentoso con la PG-COX, con la PDE. PGE1 aumenta el cAMP, probablemente en el cuerpo cavernoso del pene, inhibiendo la actividad de PDE, con activación de la adenilato ciclasa. (Nef, et al. 1990) PDE5 no sólo se expresa en el musculo liso del cuerpo cavernoso, sino también en el sistema nervioso central, vascular y gastrointestinal. Por consiguiente, los efectos adversos principales de sildenafil incluyen dolor de cabeza, perturbaciones visuales, vaciamiento gástrico y dispepsia, la acumulación de cAMP inhibe PDE 5, 2 y 1 en el cuerpo cavernoso de conejos.(Asilan, 2008)²⁹. Existe también proteína inhibidora de NOs y N-Metil – D-Aspartato, (inhibidor y estimulador) y PnNOS, en el nervio cavernoso del pene, no cambia significativamente el volumen de proteína de PnNOS con la edad. (Magee, 2005)⁴⁸.

Alanís, et al. (2003), la principal respuesta protectora del sistema inmune contra *Entamoeba histolytica* es el óxido nítrico (NO) producido por macrófagos activados posiblemente por la *epicatequina*(Vargas, 2004)⁴⁹. Con todo ello está demostrado que el NO producido por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* produce el efecto modulador en casos de disfunción eréctil.

En la figura N° 20, se observa la respuesta contráctil del cuerpo cavernoso del pene de rata, de acuerdo a los tratamientos utilizados; se observa que la acetilcolina 30uM seguido de epinefrina a 1ug/ml es el que presenta mayor carga contráctil en el musculo cavernoso, seguido en proporción menor la L-arginina, respecto al control positivo que es el sildenafil teniendo una carga contráctil de 1.23 parecido a las concentraciones de 100 ug/ml y menor aun en

el caso de 300ug/ml que es 1.10mm en el que si existe una relajación marcada, lo que diferencia de la contracción de 3.16 que muestra la acetilcolina del cuerpo cavernoso del pene de rata al de la muestra de 300ug/ml y el sildenafil una diferencia significativa evaluada a $p < 0,05$, entre los tratamientos. Si bien es cierto que en el experimento anterior demostramos que hay un aumento de NO en plasma de ratas por efecto de los extractos metanolicos en este caso la relación se manifiesta en el cuerpo cavernoso del pene de rata.

Angulo, et al. (2003), cuando el óxido nítrico sintasa (NOS) produce NO de NG-el hydroxy-L-arginine (OH-arginine) en lugar de L-arginine, el requisito total de oxígeno molecular y NADPH para formar NO es reducido. El objetivo fue evaluar el efecto de OH-arginine en la contractilidad del cuerpo cavernoso de conejo (RCC) y comparar las capacidades de L-arginine y OH-arginine que refuerce las respuestas de NO mediadas bajo el normoxido y el hypoxido que condiciona el envejecimiento, como modelos de producción inefectiva. OH-arginine, más que L-arginine, pudo relajar el cuerpo cavernoso del conejo mientras que la fenilefrina contrajo el músculo liso. La relajación inducida por OH-arginine fue inhibida por el NOS-inhibidor, L-NNA (300 mM) fue inhibida por guadenilato ciclasa, la administración de OH-arginine, produjo un incremento significativo de cGMP en el tejido de RCC.

La relajación por OH-arginine (300 mM) todavía se observó a la tensión de oxígeno bajo. El aumento de niveles del cGMP inducido por ACh (30 m M) en RCC.

Los nervios nitregicos mediaron en la relajación reducida en RCC de los animales viejos cuando se comparó con los conejos adultos jóvenes. Se propusieron que el uso de OH-arginine podría ser de interés en el tratamiento de trastorno eréctil. (Angulo, 2003)³⁶.

Chen, et al. (2008), investigaron el efecto relajante sobre la musculatura del cuerpo cavernoso de conejo *in vitro* de una cumarina aislada del *Cnidium monnier* (L.) Cusson llamado ostol. El resultado obtenido fue que el ostol produjo una vaso relajación del cuerpo cavernoso, el cual se atribuye a la liberación del óxido nítrico del endotelio sinusoidal y la potenciación de la señal del GMPc y/o AMPc (Chen, 2008)⁵⁰.

Harnafi y Amrani (2007), establecen la influencia de los flavonoides en las enfermedades cardiovasculares y en la disfunción endotelial; como agentes vaso relajantes. Propusieron un posible mecanismo por el cual ejercen el efecto vaso relajante, induciendo una liberación del óxido nítrico (NO). Sostienen, que la ingesta de flavonoides incrementan significativamente los niveles de NO, produciendo vaso relajación, a través de la inhibición de las fosfodiesterasas, por ejemplo la delfinidina, una flavanona tiene el potencial de inhibir a la 2 y 4 - fosfodiesterasa, haciendo que las células endoteliales incrementen su producción y liberación de NO. (Chen, 2008)⁵⁰.

Chen, et al. (2008), investigaron el mecanismo del alcaloide neferina, una bis-bencilisoquinoleina aislado de *Nelumbo nucifera* en tejidos del cuerpo cavernoso de conejos *in vitro*, concluyeron que produjo un aumento de la vaso relajación por un aumento de la concentración AMPc, disminuyendo la actividad de la fosfodiesterasa.

Khan y Gilani (2008), realizaron una evaluación farmacodinámica de *Terminalia bellerica* y su efecto antihipertensivo, llegando a la conclusión que los flavonoides y los taninos poseen efecto Ca⁺⁺ antagonista y por ende un efecto vaso relajante (Khan, 2008)⁵¹.

Duke (2009), refiere que el bloqueo de los adrenoreceptores por efecto de las hormonas, que causan una vasoconstricción peneana y aumentan la concentración de norepinefrina, es esencial para el mantenimiento de la función eréctil. Asimismo, menciona que investigadores italianos, han aislado taninos con posibles estimulantes sexuales condensados de alto peso molecular entre 290 a 3144 kD (Khan, 2008)⁵¹.

El traslado del gen de nNOS o eNOS a ratas viejas, en los que órganos reproductores aumentaron en función eréctil evidenciándose en el cuerpo cavernoso por estímulo eléctrico. Es más el envejecimiento vascular se caracteriza por un trastorno endotelial a la producción excesiva de las especies de oxígeno reactivo (ROS) y por lo tanto daño del sistema de defensa.

Liming Jin, et al. (2006). A nivel molecular RhoA/Rho-kinase para el tratamiento de disfunción eréctil asociado con la edad. Rho-kinase inhibe la Miocina fosfatasa de cadena ligera (MLCP) a través de la fosforilación, llevando a un

aumento en la miocina de cadena ligera (MLC) y la reducción del músculo liso, confirmando que la actividad de RhoA/Rho-kinase era elevado en el pene de ratas viejas observado por señales a nivel molecular (Liming, 1999)⁵².

Existen evidencias de que los consumidores de vinos rojos y de vino tinto presentan baja mortalidad por enfermedad coronaria, inhiben la agregación plaquetaria, con acción vasodilatadora, antiarrítmica debido a los compuestos fenólicos presentes entre los cuales están los flavonoides catequinas, epicatequina y quercetina.

El trastorno eréctil puede resultar del aspecto neurológico, psicológico, hormonal, arterial o deterioro cavernoso o de una combinación de estos factores. Los desórdenes neurológicos como la enfermedad de Parkinson, Alzheimer, golpe y trauma cerebral pueden causar el trastorno eréctil disminuyendo la libido o previniendo la iniciación de una erección (Lambert,1998)⁵⁴. Las estrategias del tratamiento mayores para el trastorno eréctil incluyen inyección de intracavernosa de drogas como la prostaglandina E1, la papaverina, la phentolamina, la terapia transuretral, cirugía, terapia del vacío y oral las medicaciones (Segraves, 2003)⁵⁵.

Basoglu, et al. (1998) D(-)-Lactato y NO en la isquemia debido al efecto vasodilator modula la lesión del tejido durante la isquemia, y desde que es un radical libre forma productos tóxicos secundarios. Cuando la saturación de oxígeno del tejido es baja aumenta la fluidez de sangre por vasodilatación y cuando la saturación de oxígeno del tejido es alto la reacción con los superóxidos forma productos tóxicos como el peroxynitrito (León, 2006)⁵⁷. En el sistema gastrointestinal, la evidencia sugiere que NO regula el flujo de sangre de la mucosa, protección de la mucosa, las respuestas hemodinámicas del hígado, enfermedades hepatotóxicas, contracción y relajación muscular. En un estudio experimental había estado demostrado esa inhibición de endógeno NO con la N-nitro-L-arginine (L-NNA), un selectivo NO sintasa inhibidor, habiendo un significativo aumento macroscópico y a nivel microscópico lesión de la mucosa causada por el etanol, y el tratamiento fue con L-arginine, un precursor de NO, que competitivamente inhibe las acciones de L-NNA reduciendo la lesión de la mucosa (Basoglu, 1999)⁵⁶

Michel A. (2003). Primer modelo experimental de castración por venooclusión induciendo trastorno eréctil del ratón, describiendo las anormalidades por medición con ultrasonido de Doppler de erección, dada por la presión intracavernosa en ratones. Esto puede atribuirse a los efectos hypogonadales en la función del tejido eréctil. La morfología cambia en el tejido del cuerpo cavernoso de ratón en magnitud de extensión. Estos estudios definen el mecanismo andrógeno-dependiente veno-oclusivo en la función eréctil del ratón. El modelo del ratón castrado puede ser aplicado en los estudios del futuro de trastorno eréctil venooclusivo (Michael, 2003)⁵⁸.

Rakuambo, et al. (1999) El extracto cloroformico y etanolico de la raíz de *longepedunculata de Securidaca, Wrightia, el natalensis y tridentata de Rhoicissus* se investigaron para demostrar su actividad in vitro sobre el músculo liso del cuerpo cavernoso de conejos blancos Nueva Zelanda. Algunos de los extractos de estas plantas relajaron el músculo liso del cuerpo cavernoso a bajas concentraciones. Viagra se usó como control positivo en este estudio.

Según la figura N° 21, los resultados obtenidos en la prueba de toxicidad con el extracto metanolico de *jatropha macrantha* “huanarpo macho” demostró la relación dosis-dependiente, en donde las dosis menores a 1500mg/kg de peso corporal presenta signos de toxicidad sin causar mortalidad los primeros tres días luego del cual empiezan a morir de manera progresiva. los signos de toxicidad son más notorias causando mortalidad, después de las 72 horas a concentraciones 1193.1 a 1543.2 mg/Kg p.c. se produce la muerte de todos los animales expuestos.

Los resultados dan como valor de la DL₅₀ de 1357mg/kg p.c., esta determinación se realizó utilizando el extracto metanólico de *jatropha macrantha* Müll Arg “Huanarpo macho”, los efectos tóxicos observados en la determinación toxicológica fueron salivación, incontinencia urinaria, falta de movilidad en todo el cuerpo, temblor, ataxia y muerte.

De acuerdo a la evaluación de su toxicidad del extracto metanolico de *jatropha macrantha* “huanarpo macho” se determinó que es prácticamente no tóxico (Cytel, 1995)³⁷.

VI.-CONCLUSIONES

1. El estudio fitoquímico cualitativo indica la presencia de metabolitos secundarios mayormente lactonas, cumarinas, terpenos, flavonoides, catequinas, azúcares reductores y aminoácidos libres, que serían los responsables de la bioactividad encontrada para el extracto metanólico de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. “huanarpo macho”.
2. La elucidación estructural de las fracciones del extracto metanólico de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. “huanarpo macho” ha revelado la presencia de componentes químicos como 6-hidroxi-4',5,7-trimetoxi flavona; 4',7-dihidroxi-5,6-dimetoxiflavona; 7-hidroxi-3',4',5',5,8-pentametoxiflavona; 4',7-dihidroxi-3',5,6-trimetoxiflavona.
3. Se ha comprobado el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* müll. Arg. “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil, siendo la dosis efectiva media (DEM) de 157.1 mg/Kg.
4. En las condiciones experimentales se ha demostrado que el mecanismo de acción para mejorar la disfunción eréctil del extracto metanólico de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. “huanarpo macho” se debe a su efecto vasodilatador y la elevación de los niveles de óxido nítrico.
5. El estudio de seguridad del extracto metanólico de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. “huanarpo macho” al ser administrado por vía oral en ratones a un intervalo de confianza del 95% ($p < 0,05$), ha demostrado una dosis letal 50 (DL₅₀) de 1357.00 mg/kg.

VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 García G. Disfunción sexual masculina y estrés. Revista Cubana de

- Medicina Militar. 2005 34(1): 24.
- 2 Oshima M. Effects of *Lepidium meyenii* Walp and *Jatropha macrantha* on Blood Levels of Estradiol-17 β , Progesterone, Testosterone and the Rate of Embryo Implantation in Mice. University of Medical Science, Japón. 2003: 1145-1146.
 - 3 McCall T, Boughton S, Palmer R, Whitle B, Moncada S. Synthesis of nitric oxide from L- arginine by neutrophils. Release and interaction with superoxide anion. 1989 261(1): 293-296.
 - 4 Moncada S. Nitric Oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol. Rev.1991:133 -143.
 - 5 Kn onles G, Moncada S. Nitric Oxide Synthesis in animals. Biochen J. 1994 (298):249-258.
 - 6 Gonzales F. Maca de lo tradicional a la Ciencia Universidad Peruana Cayetano Heredia. Concytec. 2006 (1):91 – 121
 - 7 Lock de Ugaz. Investigación fitoquímica, Editorial Fondo Universidad Peruana Cayetano Heredia - Lima Perú. 1994:54-154.
 - 8 Lastre J. Historia de la Universidad de San Marcos. Tomo V: Historia de la Medicina Peruana. Imprenta Santa María. UNMSM. Lima-Perú. 1951(1):55
 - 9 Valdizan H, Maldonado A. La medicina popular peruana Tomo II MCMXXII. Imprenta Torres Aguirre. Lima - Perú. 1922(2):65-85.
 - 10 Ochoa H. Plantas Mágicas-Medicinales de la Selva. VI Congreso Nacional de Botánica. UNSAAC. 1995:24.
 - 11 Soukup R. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana .- Colegio Salesiano Lima - Perú. 1982.
 - 12 Belmonte J. Familia Euphorbiaceae (Euforbiáceas): Descripción y distribución. Rev Méd Risaralda.Madrid. España 2001 7(1):13.
 - 13 Bride F. Flora of Perú. Tomo N°7. Vol. XIII. Lima 1951(1).
 - 14 Juárez J. Contribución al Estudio Químico de los Alcaloides de la Especie. *Jatropha macrantha* (Huanarpo macho). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Tesis-UNMSM.Lima 1968 (1):1-42.
 - 15 Malca C. Contribución al Conocimiento de los Principios Activos de *Cnisco/us basiacantha* (Huanarpo hembra). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Tesis-UNMSM. 1956 (1):1-35.
 - 16 Delgado H. Medicina casera en Ayacucho- Facultad de Ciencias Sociales-

- Segunda parte-UNSCH- Ayacucho. 1989 (1):34-42
- 17 Aldave A, Mostacero J. Botánica Farmacéutica. Editorial Libertad EIRL. Trujillo-Perú. 1988 (1).
- 18 Mostacero J, Mejía F. Taxonomía de Fanerógamas Peruanas. Editorial Libertad. Primera edición CONCYTEC. Trujillo-Perú. 1993.
- 19 Limaylla F. Aislamiento e identificación, Química de productos naturales Tomo I – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.1990(1):1-55
- 20 Karl A. Farmacología de la Erección Peneana. Pharmacological Reviews, the american pharmacologyl experimetal Terapeuts – USA. 2001(5):417-435
- 21 Merck “Manual Merck” Décima edición. Edit. Océano. Valencia – España.. 1998(12)
- 22 Herrera E. Bioquímica. Tomo I . Segunda Edición. Editorial Interamericana – McGraw – Hill. 2001.
- 23 Rakuambo N, Meyer A, Hussein C, Huyser S, Mdlalose T, Raidani G. “In vitro effect of medicinal plants used to treat erectile dysfunction on smooth muscle relaxation and human sperm” University of Pretoria. Venda (South Africa) 1999 (1):1-87.
- 24 Rakuambo N, Rakuambo J, Meyer M, Hussein A. Xanthone isolated from *Securidaca longepunculata* with activity against erectile Dysfunction, Fitoterapia 2004 (75):497–499.
- 25 Andersson K. “Pharmacology of Penile Erection” Department of Clinical Pharmacology, This paper is available online at <http://pharmrev.aspetjournals.org>. Experimental Therapeutics. Pharmacol Rev 2001(53):417–450.
- 26 Li E. “El futuro de los productos andinos en la región alta y los valles centrales de los andes/plantas medicinales” Plantas Medicinales en Perú (ONUDI) en cooperación con el gobierno Español.2004(2):98.
- 27 Robert C, Dean M, Tom F, Lue M. “Physiology of Penile Erection and Pathophysiology of Erectile Dysfunction” University of California, San Francisco 2005; 32(4):379.
- 28 Roca W, Espinoza C, Panta A, Trujillo G, Andrade D. “Estudio de las capacidades biotecnológicas e institucionales para el aprovechamiento de la biodiversidad de los países de la comunidad andina” Centro Internacional de la Papa (CIP) Lima-Perú. Octubre, 2003 (8):21 - 46.

- 29 Asilan J, Ling W, Bo-Hua S. "Effects of plant alkaloids extract on cyclic adenosine monophosphate and cyclic guanosine monophosphate levels in rabbit corpus cavernosum in vitro" Postdoctoral Science Foundation-Huazhong University 2008.
- 30 Kubes P, Wallace J. " Nitric oxide as a mediator of gastrointestinal injury? SAY IT AINT SO. Mediators inflammation 1995(4): 8137 -8141.
- 31 <http://www.alimentacionsana.com.ar/Portal%20nuevo/boletin/.plantas> (www.fonendo.com)URL.www/ medicinales " Plantas medicinales y sus aplicaciones clínicas. 2005 (5).
- 32 Lan A. Role of Nitric Oxide in the Regulation of Renin and Vasopressin Secretion. Department of physiology, University of California. San Francisco. USA.2007:54 – 75
- 33 Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de la Habana – Cuba. 1996.
- 34 Yakubu M, Akanji M, Oladiji A. Male Sexual Dysfunction and Methods used in Assessing Medicinal Plants with Aphrodisiac Potentials Pharmacognosy Reviews Issue 1. Ilorin. Nigeria. 2007(1):49 - 56.
- 35 Cross C. "Reactive oxygen species and the lung". Lancet, 1994 (344):930 - 932.
- 36 Angulo J, Cuevas P, Fernandez A, Gabancho S, Allona A, Morales A, Moncada I. "Activation and potentiation of the NO/cGMP pathway by NG - hydroxyl-L-arginine in rabbit corpus cavernosum under normoxic and hypoxic conditions and ageing". Hospital Ramon y Cajal, Madrid. 2003 (138):63 – 70.
- 37 Cytel. Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Sub Programa X. Química Fina Farmacéutica. 1995.
- 38 Mabry T, Markham K, Thomas M. The systematic Identification of flavonoids. Berlín: Springer – Verlag 1970.
- 39 Kan A. "Bioactividad de los terpenoides aislados de la raíz de *Jatropha gaudieri*" – Revista de la sociedad química mexicana, unidad de biotecnología. Centro de investigación científica de Yucatán Mexico. 2004 (48):11 -14.
- 40 Okoc I. "Screening fitoquímico y actividad antimicrobiana de los extractos de *Jatropha curcas* (Linn)- Universidad Eustatios de Sud África ISSN Academic

- Journals". 2009 3(2):58 - 62.
- 41 Benavides A, Montoro P, Bassarello C, Piacente S, Pizza C. "Catechin derivatives in *Jatropha macrantha* stems: characterisation and LC/ESI/MS/MS cauli-quantitative analysis" Facoltà di Farmacia, Università di Salerno, Via Ponte don melillo-Fisciano. Italy 2006(54):567-675.
 - 42 Cicero E, Bandieri R, Arletti A. "*Lepidium meyenii* Walp. improves sexual behaviour in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity" Pharmacology Section, Received. Italy 2001.
 - 43 Ageel A, Islam O, Ginawi T, Al-Yahyat M. "Evaluation of the Aphrodisiac Activity of *Litsea chinensis* (Lauraceae) and *Orchis malculata* (Orchidaceae) Extracts in Rats" Department of Pharmacology and Pharmacognosy, King Saud University, P.O. Saudi Arabia. 1994:2457 – 11451.
 - 44 Oaki N, Jonson G, Lefer A. "Beneficial effects of two forms of NO administration in feline splanchnic artery occlusion shock. Am physiol" 1990 (258):75 – 281.
 - 45 Yauri S, Aguilar E, Angulo P. "Actividad del nitrito de sodio como donador de óxido nítrico en pollos de carne criados a 3800 msnm (Oroya)."- Tesis – Escuela de Farmacia y Bioquímica – UNSCH. 2005(1):1- 65.
 - 46 Witzel D, Huff W, Kubena L. "Ascites in growing broilers: A research model. Poultry Sci".1990(69):741-745.
 - 47 Gladwin M, Duranski M, Greer J, Dejam A, Jaganmohan S, Hogg N, Langston W, Patel R, Yet S, Wang X, Kevil CH, Lefer D. "Cytoprotective effects of nitrite during in vivo ischemia-reperfusion of the heart and liver. J. Clin. Invest". 2005 (109):22 - 493.
 - 48 Magee T, Ferrini M, Dávila H, Zeller C, Vernet D, Sun J, Lalani R., "Protein Inhibitor of Nitric Oxide Synthase (NOS) and the N-Methyl-D-Aspartate Receptor Are Expressed in the Rat and Mouse Penile Nerves and Colocalize with Penile Neuronal NOS₁" Departamento de Urología, Los Angeles. USA-2002
 - 49 Vargas J, Palacios R, Molina G, Aguilar A, Meckes M, Jiménez A "Activación, con producción de óxido nítrico, de macrófagos humanos por efecto del extracto etanólico de partes aéreas de *rubus coriifolius focke*". San Luis Potosí. Rev. Soc. Quím. Méx. 2004.(1):48.
 - 50 Chen J. "Effect of plant extract neferine in adenosin monofosfate in rabbits

- copus cavernosus in vitro. Huazhong University of Science and Technology Wuhuan- China” 2008.10(2):307 – 312.
- 51 Khan G, Gilani F. “Pharmacodynamic Evaluation of terminalia bellerica for its Antihypertensive Effect. Department of pharmacology Karachi. Pakistan”. 2008 (4):231 – 256.
- 52 Liming J, Tongyun L, Gwen A, Lagoda H, Champion T, Bivalacqua J, Arthur L. “Elevated RhoA/Rho-kinase activity in the aged rat penis: mechanism for age-associated erectile dysfunction”. Journal Department of Urology, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland. USA 2006 (20): 538.
- 53 Alastair G, Stewart P, Long H, Phan B, George G, “Physiological and pathophysiological roles of nitric oxide 1994 Wiley-Liss, Inc. 1994 (15): 693-702.
- 54 Lambert D, Waters CH. Sexual dysfunction in Parkinson’s disease. Clin Neurosci 1998(5):73–77.
- 55 Segraves R. Pharmacologic management of sexual dysfunction: benefits and limitations. CNS Spectrum 2003(8):225– 229.
- 56 Basoglu M, Ahmet B, Ahmet K, Fatih A, Selçuk S. “Serum D(-)-Lactate and Nitric Oxide (NO) Levels in Acute Intestinal Ischemia” Faculty of Medicine, Atatürk University, Erzurum-Turkey Tr. J. of Medical Sciences”. 1999(29): 37–40.
- 57 Leon, B. Efecto del extracto alcohólico de *Lepidium meyenii* (maca) y *Jatropha macrantha* (huanarpo macho) en disfunción testicular de ratas macho – UPCH- Lima - 2006.
- 58 Michael A, Crone J, Arthur L, Burnett A. “Castrated Mouse Model of Erectile Dysfunction” *Department of Surgery/Division of Urology, University of Maryland Journal of Andrology. 2003 (24):121- 132.
- 59 Goodman Y Gilman. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Editorial Panamericana. Buenos Aires – Argentina. 1996 (7).
- 60 Mabry T, Markham K, Thomas M. The systematic Identification of flavonoids. Berlín: Springer – Verlag 1970.
- 61 Araujo M: Estudio vigorizante de jatropha macrantha Universidad nacional agraria facultad de industrias alimentarias. Lima. 2001(1):1 - 23.
- 62 Arroyo A, Rojas J, Chenguayen J. Manual de métodos experimentales de

- farmacología Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2004(1).
- 63 Cornejo V. Las plantas medicinales y su correcta utilización. Facultad de ciencias Biológicas de la Universidad nacional de San Cristóbal de Huamanga. 1986(2):1- 65.
- 64 Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia, Editorial Acribia, Zaragoza – España. 1981 (9).
- 65 Cabieses F. Aportes de la Medicina Tradicional Tomo I Editorial Diselpesa Lima Perú. 1993 (1) pág 12 – 43.
- 66 Cotillo P, Rojas L. Metodos farmacológicos en la investigación de productos vegetales UNMSM-Concytec- Lima. 1990.
- 67 Yarleque M. Estudio de plantas medicinales del departamento de Ayacucho y Lima. UNSCH informe de investigación- Ayacucho. 1990 (1):2 – 22.
- 68 Bo Ling. “Efecto del extracto lipídico de *Lepidium meyenii* (Maca) sobre el comportamiento sexual de ratones y ratas. Universidad de japon”. 2008 (15).
- 69 Brack A, Beltran M. Sistema de clasificación de plantas medicinales del peru. Museo de Historia natural UNMSM – Lima. 2002.
- 70 Dominguez A. Metodos de investigación fitoquímica, primera edición. Editorial Limusa 1973.
- 71 Range H. Farmacología. Ediciones Harcourt- Cuarta edición-Universidad Autonoma de Barcelona. Madrid España. 2000.
- 72 Katzung B. Farmacología Básica y Clínica. Editorial el Manual Moderno. 1996(6).
- 73 Harrison P. Principios de Medicina Interna. Harrison CD interactivo. 2000 (15).
- 74 Camacho J. Disfunción eréctil: abordaje y manejo del paciente. Revista de la Facultad de Medicina. Caracas – Venezuela. 2002 (3): 5 - 65.
- 75 <http://www.uco.es/grupos/inmunologia>. Disfunción- inflamación - maracadores moleculares. URL: Tema25:Inflamación, Universidad de Cordova, México. (molec ular/inmunologia/tema25/etexto25.htm - 2007.
- 76 Abul K, Abbas N. Inmunología Celular y Molecular. Editorial. McGraw – Hill – Interamericana. 1998.
- 77 Angulo P. Plantas medicinales y Medicamento Vegetal. Primer Symposium de Plantas Medicinales y Medicamento Vegetal en el Perú. 1995.

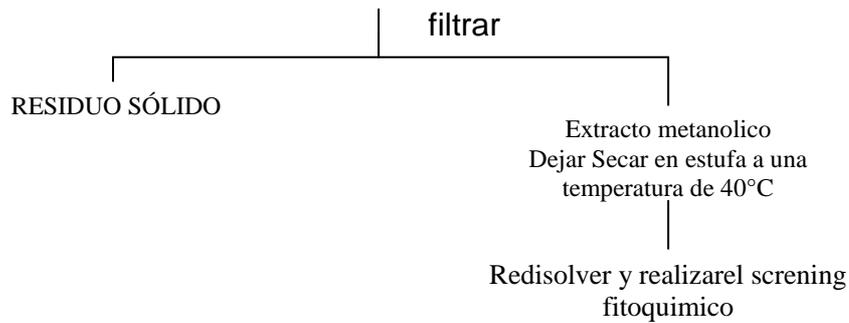
- 78 Arones M. Análisis Fitoquímico y Determinación del Efecto Antiinflamatorio de *Baccharis salicifolia* "Chilco". Tesis 1998 (1):1- 48.
- 79 Lehninger A. Bioquímica. Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular. Segunda Edición. Editorial Omega. Barcelona – España. 1995.
- 80 Vincenzo M, Carolina M, Emanuela M, Salvatore C, Salvemini D. Modulation of Prostaglandin Biosynthesis by Nitric Oxide and Nitric Oxide Donors Faculty of Pharmacy, Italy. 2005(57):217–252.
- 81 Tharakan B, Bala V. "Plummer Movement Disorders Center, Department of Neurology, Scott and White Clinic and the Botanical Therapies in Sexual Dysfunction-phytotherapy research phytother. 2005 (9):457–463.

ANEXO N°01

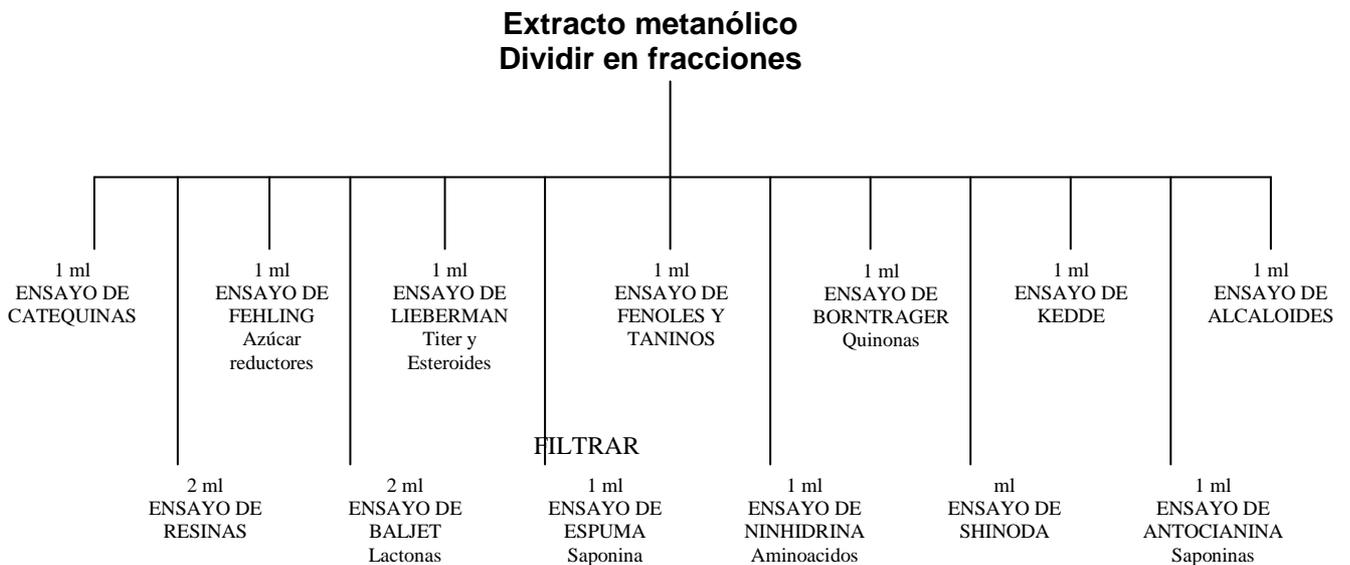
**Extracción sucesiva del material vegetal para luego realizar la
identificación de metabolitos secundarios.
20-30 gramos de hojas y tallos de jatropa macrantha Müll Arg “Huanrpo
macho”.**

(Muestra seca y molida)

Macerar con 200 ml metanol durante 14 días



Esquema de las reacciones a realizar en el extracto metanolico de jatropa macranta después de la maceración respectiva.



ANEXO Nº 02

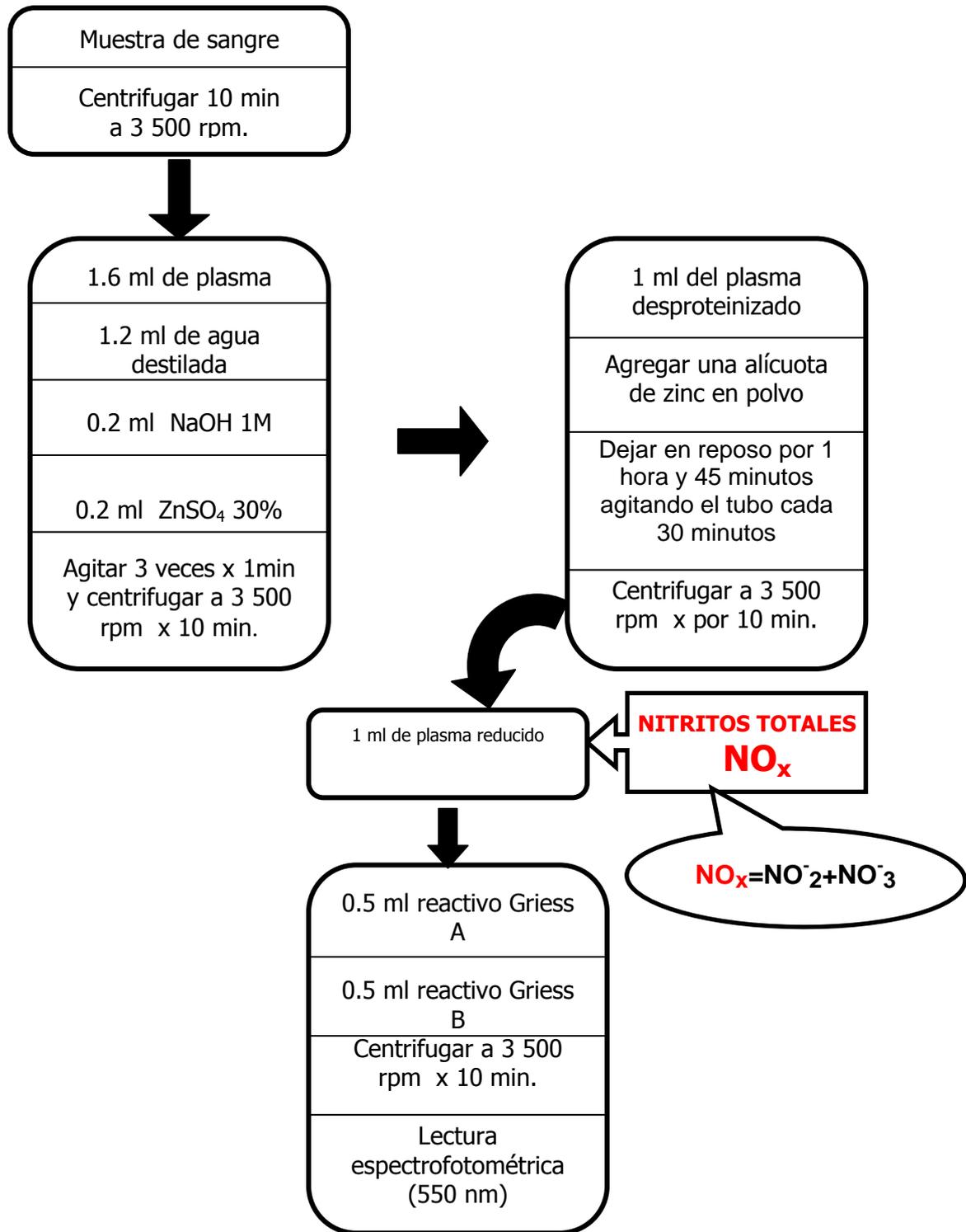


**EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

Que, el Mg Johnny Aldo TINCO JAYO

ANEXO N°03

FLUJOGRAMA DE LA DETERMINACIÓN DE NITRITOS



ANEXO No 04

Cuadros estadísticos del efecto sobre el comportamiento sexual en ratas.

Tabla N°05: Frecuencia de monta en ratas macho por efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* "huanarpo macho".

Frecuencia de montaje	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	
Inter-grupos	768,78	4,00	192,20	3556,53	8,5449E-16	
Intra-grupos	0,54	10,00	0,05			
Total	769,32	14,00				
Tratamiento	Frecuencia de montaje					
	Subset for alpha = .05					
	N	1	2	3	4	5
Control	3	6,0				
100 mg/Kg	3		10,1			
200 mg/Kg	3			18,8		
300 mg/Kg	3				23,1	
Sildenafil	3					24,0
Sig.		1	1	1	1	1

Tabla N°06: Frecuencia de intromisiones en ratas por efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* "huanarpo macho".

Frecuencia de intromisión	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	
Inter-grupos	174,61	4,00	43,65	7275,39	2,3905E-17	
Intra-grupos	0,06	10,00	0,01			
Total	174,67	14,00				
Tratamiento	Frecuencia de intromisión					
	Subset for alpha = .05					
	N	1	2	3	4	5
Control	3	4,4				
100 mg/Kg	3		8,9			
200 mg/Kg	3			12,1		
300 mg/Kg	3				13,0	
Sildenafil	3					13,6
Sig.		1	1	1	1	1

Tabla N°07: Latencia de monta en ratas macho por efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* “huanarpo macho”.

Latencia de montaje	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	87,51	4,00	21,88	295,64	2,0555E-10
Intra-grupos	0,74	10,00	0,07		
Total	88,25	14,00			
Tratamiento	Latencia de montaje				
	Subset for alpha = .05				
	N	1	2	3	4
Control	3	28,4			
100 mg/Kg	3		29,1		
200 mg/Kg	3			30,1	
300 mg/Kg	3				33,8
Sildenafil	3				34,2
Sig.		1	1	1	0,42

Tabla N°08: Latencia de intromisión en ratas por efecto del extracto metanólico hidroalcohólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* “huanarpo macho”.

Latencia de intromisión	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	622,60	4,00	155,65	22046,82	9,368E-20
Intra-grupos	0,07	10,00	0,01		
Total	622,67	14,00			
Tratamiento	Latencia de intromisión				
	Subset for alpha = .05				
	N	1	2	3	4
Control	3	21,8			
100 mg/Kg	3		26,76		
200 mg/Kg	3			33,8	
300 mg/Kg	3				35,6
Sildenafil	3				39,8
Sig.		1	1	1	1

Tabla N°09: Latencia de intromisión en ratas por efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* “huanarpo macho”.

Latencia de eyacuación	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	64,18	4,00	16,05	77,68	1,7222E-07
Intra-grupos	2,07	10,00	0,21		
Total	66,25	14,00			
Tratamiento	Latencia de eyacuación				
	Subset for alpha = .05				
	N	1	2	3	4
Control	3	39,7			
100 mg/Kg	3		41,5		
200 mg/Kg	3		42		
300 mg/Kg	3			43,8	
Sildenafil	3				45,76
Sig.		1	0,67	1	1

Tabla N°10: Latencia Post eyaculatoria en ratas por efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* "huanarpo macho".

latencia post eyaculatoria	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	107,60	4,00	26,90	43,21	2,8018E-06
Intra-grupos	6,23	10,00	0,62		
Total	113,83	14,00			
Tratamiento	Latencia de post eyaculatoria				
	Subset for alpha = .05				
	N	1	2	3	
Control	3	42,78			
100 mg/Kg	3		46,8		
200 mg/Kg	3		48,5		
300 mg/Kg	3		48,6		
Sildenafil	3			50,8	
Sig.		1	0,1	1	

ANEXO No 05

Cuadros estadísticos sobre el efecto sobre los niveles plasmáticos de NO en ratas.

Tabla N°11: Efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* "huanarpo macho" sobre los niveles plasmáticos de óxido nítrico en ratas con inducción de disfunción eréctil.

Tratamiento	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	5	2,03	0,08	0,03	1,93	2,12	1,94	2,15
100 mg/Kg	5	3,43	0,06	0,03	3,36	3,51	3,36	3,50
200 mg/Kg	5	4,75	0,15	0,07	4,56	4,93	4,57	4,90
300 mg/Kg	5	5,32	0,16	0,07	5,11	5,52	5,09	5,46
Sildenafil	5	6,26	0,04	0,02	6,21	6,32	6,20	6,31
Nitrito de sodio	5	10,42	0,19	0,08	10,19	10,65	10,24	10,64
Total	30	5,37	2,68	0,49	4,37	6,37	1,94	10,64

ANVA

Media	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	207,9	5	41,6	2638,2	4,636E-32
Intra-grupos	0,4	24	0,0		
Total	208,3	29			

TUKEY

Factor	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
Blanco	5	2,028					
100 mg/Kg	5		3,432				
200 mg/Kg	5			4,746			
300 mg/Kg	5				5,316		
Sildenafil	5					6,264	
Nitrito de sodio	5						10,416
Sig.		1	1	1	1	1	1

ANEXO No 06

Tabla N°12: Dosis letal del extracto metanólico en ratones a las 72 horas de administración por vía oral. Lima 2009.

mg/kg	n	vivos	muertos	% vivos	% muertos
500	6	6	0	100	0
1000	6	5	1	83.33	16.7
1200	6	4	2	66.67	33.33
1400	6	3	3	50	50
1600	6	2	4	33.33	66.67
1800	6	1	5	16.7	83.33
2000	6	0	6	0	100

ANEXO No 07

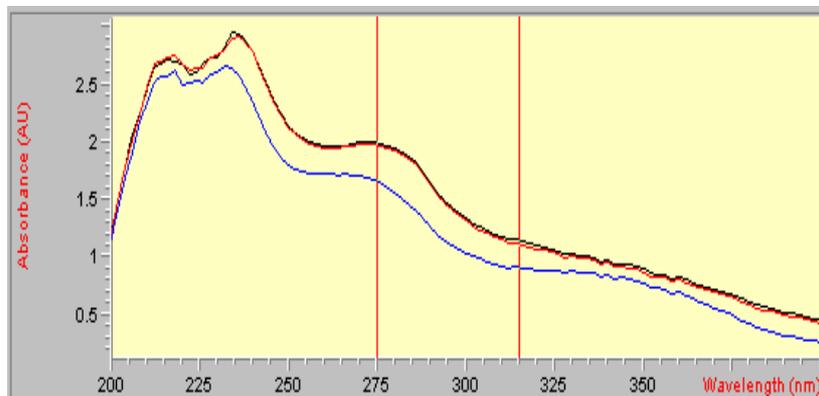
Efecto sobre el cuerpo cavernoso del órganos aislado de rata.

Tabla N°13: Efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* "huanarpo macho" sobre el órgano aislado de cuerpo cavernoso de rata.

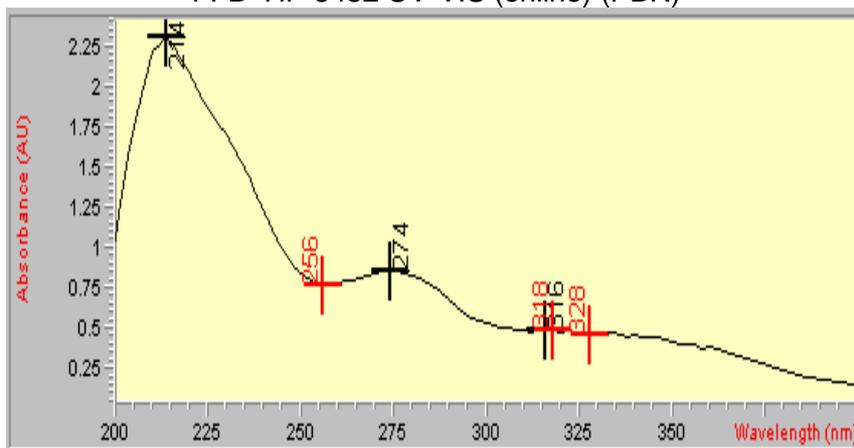
Tratamiento	N	Media	Desviación típica	Error típico	95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Epinefrina 1 ug/mL	5	2,30	0,31	0,14	1,92	2,68	2,00	2,80
Acetilcolina 30 uM	5	3,16	0,11	0,05	3,02	3,30	3,00	3,30
L-Arginina 300 uM	5	1,84	0,30	0,13	1,47	2,21	1,40	2,20
Sildenafil	5	1,23	0,14	0,06	1,06	1,41	1,00	1,38
Ext. Huanarpo macho 50 ug/mL	5	1,37	0,09	0,04	1,26	1,48	1,28	1,50
Ext. Huanarpo macho 100 ug/mL	5	1,23	0,10	0,04	1,11	1,35	1,15	1,40
Ext- Huanarpo macho 300 ug/mL	5	1,10	0,16	0,07	0,90	1,30	0,90	1,30
Total	35	1,75	0,73	0,12	1,50	2,00	0,90	3,30
Respuesta (mm)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.			
Inter-grupos	17,019	6	2,837	76,56	4,5456E-16			
Intra-grupos	1,037	28	0,037					
Total	18,057	34						
Prueba	Tratamientos	N	Sunconjuntos					
			1	2	3	4	5	
HSD de Tukey	Extracto de Huanarpo macho 300 ug/mL	5	1,10					
	Extracto de Huanarpo macho 100 ug/mL	5	1,23					
	Sildenafil	5	1,23					
	Extracto de Huanarpo macho 50 ug/mL	5	1,37					
	L-Arginina 300 uM	5		1,84				
	Epinefrina 1 ug/mL	5			2,30			
	Acetilcolina 30 uM	5				3,16		
	Sig.		0,29	1,00	1,00	1,00		
Duncan	Extracto de Huanarpo macho 300 ug/mL	5	1,10					
	Extracto de Huanarpo macho 100 ug/mL	5	1,23	1,23				
	Sildenafil	5	1,23	1,23				
	Extracto de Huanarpo macho 50 ug/mL	5		1,37				
	L-Arginina 300 uM	5			1,84			
	Epinefrina 1 ug/mL	5				2,30		
	Acetilcolina 30 uM	5					3,16	
	Sig.		0,29	0,29	1,00	1,00	1,00	

ANEXO No 08

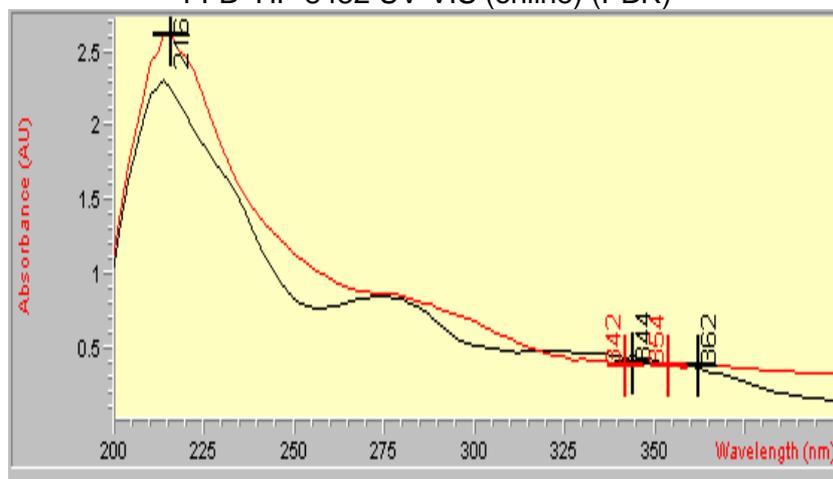
Figuras 18 al 23: Espectros UV de flavonoides que existen en el extracto metanolico de *jatropha macrantha* Mull Arg "huanrpa macho".



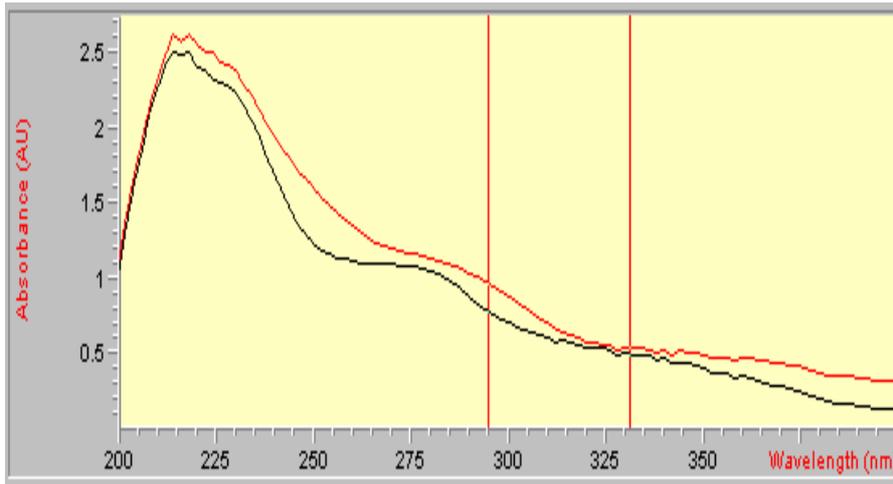
MUESTRA 2 (*jatropha macrantha* Mull Arg. "Huanarpo macho") :
ETANOL + CLORURO DE ALUMINIO + HCL.
FFB HP 8452 UV-VIS (online) (PBR)



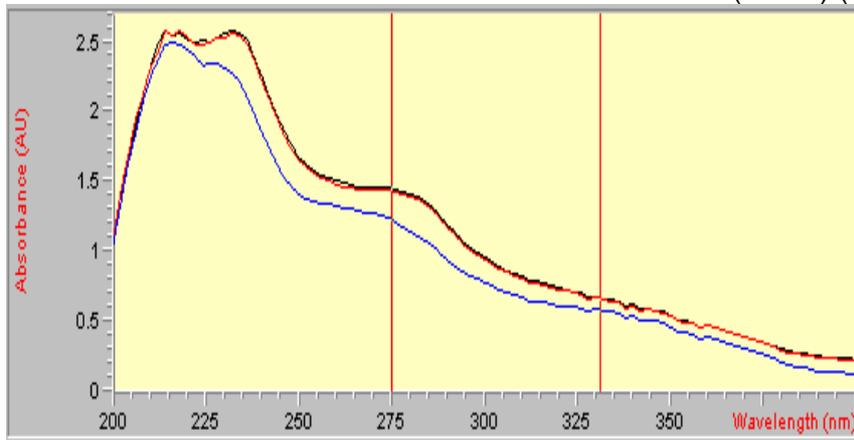
MUESTRA 3: (*jatropha macrantha* Mull Arg. "Huanarpo macho") :
FFB HP 8452 UV-VIS (online) (PBR)



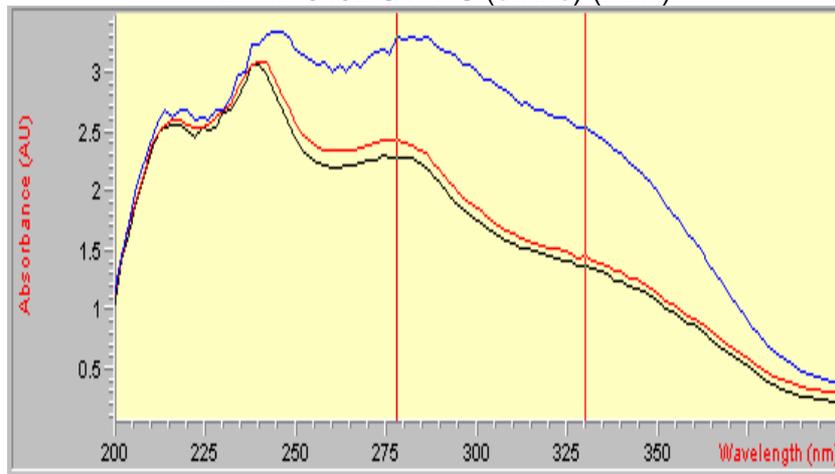
MUESTRA 3: (*jatropha macrantha* Mull Arg. "Huanarpo macho") :
ETANOL + METOXIDO DE SODIO. FFB HP 8452 UV-VIS (online) (PBR)



MUESTRA 4: (*Jatropha macrantha* Mull Arg. "Huanarpo macho") :
 ETANOL + METOXIDO DE SODIO. FFB HP 8452 UV-VIS (online) (PBR)



MUESTRA 4 (*Jatropha macrantha* Mull Arg. "Huanarpo macho") :
 ETANOL + CLORURO DE ALUMINIO + HCL.
 FFB HP 8452 UV-VIS (online) (PBR)



MUESTRA 5 (*Jatropha macrantha* Mull Arg. "Huanarpo macho") :
 ETANOL + CLORURO DE ALUMINIO + HCL.
 FFB HP 8452 UV-VIS (online) (PBR)