

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FARMACOBIOQUÍMICAS



**“Estudio químico cuantitativo y el uso como antiparasitario,
del extracto etanólico de la corteza de *Galipea longiflora*
(EVANTA)”**

Elaborado por:

IVAN LIMACHI VALDEZ

(Tesis para optar al grado académico de *Magíster Scientiarum*, en Ciencias Biológicas y Biomédicas)

La Paz – Bolivia
2012

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FARMACO BIOQUÍMICAS



**“Estudio químico cuantitativo y el uso como antiparasitario,
del extracto etanólico de la corteza de *Galipea longiflora*
(EVANTA)”**

Elaborado por: IVAN LIMACHI VALDEZ

ASESORES: Alberto Giménez Turba PhD.

(Tesis para optar al grado académico de *Magíster Scientiarum*, en Ciencias Biológicas y Biomédicas)

La Paz – Bolivia
2012

RESUMEN

Las enteroparasitosis son una problemática en toda América Latina, por tanto es importante el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de estas infecciones, el jarabe en base a alcaloides de *Galipea longiflora* ha sido utilizado como antileishmanicida y según farmacopeas tradicionales también se usaría como amebicida y disenterías parasitarias. En el estudio se logro aislar y caracterizar por técnicas cromatográficas y espectroscopia de RMN los 4 compuestos mayoritarios del concentrado de alcaloides totales de corteza (CAT) de *G. longiflora*: 2-fenil-quinolina, 2-n-pentil-quinolina, 2-fenil-4-metoxi-quinolina, 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina. Obtenidos los alcaloides en alto grado de pureza, se estandarizo un método cuali – cuantitativo por cromatografía de gases CG con un intervalo de linealidad entre 2,5 – 0,075mg/mL, y que presenta relación con los datos obtenidos por gravimetría de las fracciones obtenidas en cromatografía en columna.

Se elaboraron jarabes al 2% en base a CAT de *G. longiflora*, y se administraron en 40 niños pertenecientes a la escuela de la comunidad Charcas II, ubicada al norte del departamento de La Paz, Bolivia, se realizo el análisis coproparasitologico los meses de Marzo, Mayo y Noviembre.

Se observo una alta prevalencia de helmintos y protozoarios en muestras fecales (97,5%), el poliparasitismo alcanza un 90% de prevalencia, la relación protozoarios/helmintos es de 3,9. El mayor protozooario encontrado fue *Blastocystis hominis* (95%); *Giardia lamblia* (52,5%) también se encontraron *Endolimax nana* (55%); *Entamoeba coli* (67,5%); *Chilomastix mesnili* (22,5%); *Iodoamoeba bustchili* (30%). Dentro de los helmintos el parasito de mayor prevalencia son las *uncinarias* (42,5%), *Trichuris trichiura* (12,5%), *Hymenolepis nana* (10%) y *Strongyloides stercoralis* (10%) y *Ascaris lumbricoides* (7,5%).

Después del tratamiento se observa una mejor acción frente a los helmintos, las *uncinarias* fueron eliminadas en 7/14 casos (50%), se elimino a *Trichuris trichiura* y *Strongyloides stercoralis* en 3/4 casos (75% en ambos casos). Se observo una alta protección hasta el mes de Noviembre en el caso de las *uncinarias* en 13/16 casos (81,25%) y *Trichuris trichiura* en 3/4 casos (75%).

De los protozoarios, se elimino a *Chilomastix mesnili* en 4/8 casos (50%) y *Giardia lamblia* en 4/11 casos (36,3%). En el mes de Noviembre se elimino a *Chilomastix mesnili* en 7/10 casos (70%) y a *Giardia lamblia* en 6/15 casos (40%).

ABSTRACT

The Intestinal parasitosis are a problematic in whole Latino America, therefore it is important develop of new therapeutical alternatives in order to treat these infections, syrup on basis of alkaloids from *Galipea longiflora* has been used as antileishmanicidal and according to traditional pharmacopoeias also it was be used against parasitic dysentery and as amebicidal. In the study we have reached isolating and characterizing by chromatographic techniques and spectroscopy of magnetic nuclear resonance, four majority compounds of cortex's total alkaloids (CTA) from *G. longiflora*: 2-phenylquinoline, 2-n-pentil-quinoline, 2-(3',4'-metilendioxi-phenyletil)-quinoline. With the alkaloids obtained in high purity, we standarized a method quali – quantitative by gas chromatography (GC) with a linearity range between 2,5 – 0,075 mg/mL, and having relation to the data obtained by gravimetry of the fractions obtained by column chromatography.

Syrups were prepared at 2% based on CAT of *G. longiflora*, and administered in 40 school children from Charcas II community, located north of the department of La Paz, Bolivia, coproparasitologic analysis was conducted from March, May and November.

We observed a high prevalence of helminths and protozoa in stool samples (97.5%), polyparasitism reaches a 90% prevalence, the relationship protozoa / helminths is 3.9. the major protozoa found was *Blastocystis hominis* (95%); *Giardia lamblia* (52,5%) were also found *Endolimax nana* (55%); *Entamoeba coli* (67,5%); *Chilomastix mesnili* (22,5%); *Iodoamoeba bustchili* (30%). Among the helminths, the most prevalent parasite was hookworms (42.5%), *Trichuris trichiura* (12.5%), *Hymenolepis nana* (10%) and *Strongyloides stercoralis* (10%) and *Ascaris lumbricoides* (7.5%).

After treatment hookworms were eliminated in 7/14 cases (50%), *Trichuris trichiura* and *Strongyloides stercoralis* was eliminated in 3/4 cases (75% in both cases). High protection was observed until November in the case of hookworms in 13/16 cases (81.25%) and *Trichuris trichiura* in 3/4 cases (75%). For protozoa, was removed in *Chilomastix mesnili* 4/8 cases (50%) and *Giardia lamblia* in 4/11 patients (36.3%). *Chilomastix mesnili* was eliminated until month of November in 7/10 cases (70%) and *Giardia lamblia* in 6/15 cases (40%).

INDICE

ABREVIATURAS

RESUMEN

OBJETIVOS

INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

	1
3.1 Genero <i>Galipea</i>	4
3.2 Clasificación taxonómica	5
3.3 Estudios químicos y biológicos del genero <i>Galipea</i>	5
3.4 Identificación de alcaloides	8
3.5 Parásitos intestinales	8
3.6 Situación de las parasitosis en Bolivia	10
3.6.1 Amebiasis	11
3.6.2 <i>Giardia intestinalis</i>	12
3.6.3 <i>Blastocystis hominis</i>	13
3.6.4 Helmintiasis	13
3.6.4.1 <i>Ascaris lumbricoides</i>	14
3.6.4.2 <i>Trichuris trichiuria</i>	15
3.6.4.3 <i>Strongyloides stercoralis</i>	15
3.6.4.4 <i>Uncinarias</i>	16

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Obtención de las fracciones FQ1 y FQ2 a partir del concentrado de alcaloides totales de corteza (CAT)	17
4.2 Obtención de la 2-fenil-quinolina (Compuesto 1)	18
4.3 Fraccionamiento cromatográfico de la fracción FQ2 obtenida del CAT	20
4.4 Obtención de metabolitos de las fracciones CLV1 y CLV2 por cromatografía líquida en columna abierta	22
4.5 Obtención de 2-pentil-quinolina (Comp. 2) de CLV1 y CLV2	22
4.6 Obtención de 2-fenil-4-metoxi-quinolina (Comp. 3) de CLV1 y CLV2	26
4.7 Obtención de la 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina (Comp. 4) de CLV2	29
4.8 Cálculo de la abundancia relativa de los alcaloides del CAT en base a los pesos obtenidos tras la cromatografía en columna	32
4.9 Validación de un método por cromatografía de gases (CG) para alcaloides de <i>Evanta (Galipea longiflora)</i>	35
4.10 Comparación de la abundancia relativa obtenida por el cálculo de pesos y el obtenido por CG	36
4.11 Uso del jarabe de CAT de <i>Galipea longiflora</i> al 2% como antiparasitario	38
4.12 Análisis de la eficacia tras la administración del jarabe de <i>Evanta</i> al 2%	40
4.12.1 Helmintos	40
4.12.1.1 <i>Ascaris lumbricoides</i>	40
4.12.1.2 <i>Hymenolepis nana</i>	41
4.12.1.3 <i>Strongyloides stercoralis</i>	42
4.12.1.4 <i>Trichuris trichiuria</i>	42
4.12.1.5 <i>Uncinarias</i>	43
4.12.2 Protozoarios	45
4.12.2.1 <i>Chilomastix mesnili</i>	45
4.12.2.2 <i>Endolimax nana</i>	46
4.12.2.3 <i>Entamoeba coli</i>	47
4.12.2.4 <i>Giardia lamblia</i>	49
4.12.2.5 <i>Iodoamoeba butchilli</i>	50
4.12.2.6 <i>Blastocystis hominis</i>	52

CONCLUSIONES	54
MATERIALES Y METODOS	
6.1 Material vegetal	56
6.2 Obtención del concentrado de alcaloides totales (CAT)	56
6.3 Obtención de las fracciones FQ1 y FQ2 a partir de CAT	57
6.4 Cromatografía líquida al vacío (CLV) de la fracción FQ2	58
6.5 Cromatografía columna de las fracciones CLV1, CLV2 y CLV3	58
6.6 Cromatografía en placa fina de la fracción FQ2	60
6.7 Método de cromatografía de gases (CG) para cuantificación de alcaloides de Evanta (<i>Galipea longiflora</i>)	61
6.7.1 Curva de calibración para 2-Fenil-Quinolina por CG	61
6.8 Elaboración del jarabe de Evanta al 2%	63
6.8.1 Preparación del jarabe simple	63
6.8.2 Preparación de la emulsión de alcaloides totales de <i>G. longiflora</i>	63
6.9 Estudio piloto de desparasitación de niños en edad escolar	64
6.9.1 Diseño	64
6.9.1.1 Estudio de campo controlado	64
6.9.2 Población	65
6.9.3 Diagnóstico coproparasitológico	65
6.9.3.1 Recolección de muestras fecales	65
6.9.4 Procesamiento y análisis de las muestras fecales	65
6.9.4.1 Examen macroscópico de las muestras fecales	65
6.9.4.2 Examen directo	65
6.9.4.3 Método mixto o de centrifugación-flotación	65
Método de Ritchie	65
6.9.4.4 Parámetros de análisis	66
6.9.5 Análisis estadístico	66
BIBLIOGRAFIA	67
ANEXOS	

INDICE DE GRAFICAS

Grafica 4.1: Abundancia relativa de las fracciones obtenidas por cromatografía líquida en columna al vacío (CLV) de la fracción FQ2 obtenida del CAT	21
Grafica 4.2: Abundancia relativa de los alcaloides calculados en base a los pesos obtenidos por cromatografía en columna y CG	33
Grafica 4.3: Comparación de la abundancia relativa obtenida por el cálculo de pesos y el obtenido por CG	36

INDICE DE FIGURAS

Figura 3. 1 <i>Galipea longiflora</i> k., planta leñosa que crece en lugares con elevada humedad de llanuras y montañas de Norte y Sur América (IIFB)	4
Figura 4.1: Espectro del CAT por cromatografía de gases	17
Figura 4.2: Espectro del Compuesto 1 por cromatografía de gases y datos físicos	18
Figura 4.3: Cromatografía de gases de la fracción FQ2, obtenida de CAT	20
Figura 4.4: Espectro del Compuesto 2 por cromatografía de gases y datos físicos	24
Figura 4.5: Espectro del Compuesto 3 por cromatografía de gases y datos físicos	27
Figura 4.6: Espectro del Compuesto 4 por cromatografía de gases y datos físicos	30
Figura 4.7: Cromatografía de gases de la fracción FQ2 obtenida del CAT de Evanta	32
Figura 4.8: Espectro por CG-SM de la fracción aceitosa (FQ2) obtenida del CAT	34
Figura 4.9: Relación lineal entre el área y la concentración de la 2-fenil-quinolina	35

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 4.1 Fraccionamiento del CAT y obtención del Compuesto 1	17
Esquema 4.2: Fraccionamiento por cromatografía líquida al vacío (CLV) de la fracción FQ2	21
Esquema 4.3: Aislamiento de metabolitos a partir de las fracciones CLV1 y CLV2 por cromatografía líquida	22
Esquema 4.4: Obtención del compuesto 2 (Comp.2) de las fracciones CLV1 y CLV2	24
Esquema 4.5: Obtención del compuesto 3 (Comp. 3) de las fracciones CLV1 y CLV2	26
Esquema 4.6: Obtención del compuesto 4 (Comp. 4) de la fracción CLV2	29
Esquema 5.1: Obtención de las fracciones FQ1 y FQ2 a partir de CAT	57
Esquema 5.2: Aislamiento de metabolitos bioactivos de la corteza de <i>Galipea longiflora</i> de la fracción FQ2	58
Esquema 5.3: Aislamiento de los compuestos mayoritarios de la corteza de <i>Galipea longiflora</i> (Evanta) de las fracciones CLV1 y CLV2	60

INDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Composición de alcaloides de diferentes órganos de <i>Galipea longiflora</i> .	7
Tabla 3.2 Prevalencia de los helmintos transmitidos por contacto con el suelo en países altamente afectados de las Américas	14
Tabla 4.1: Porcentajes en la separación de FQ1 y FQ2 a partir de CAT	18
Tabla 4.2: Datos espectrométricos de H ¹ RMN para el Compuesto 1	19
Tabla 4.3: Datos espectrométricos de C ¹³ RMN para el Compuesto 1, reconocido como 2-fenil-quinolina	20
Tabla 4.4: Datos espectrométricos de H ¹ RMN para el Compuesto 2, reconocido como 2-n-pentil-quinolina	25
Tabla 4.5: Datos espectrométricos de C ¹³ RMN para el Compuesto 2, reconocido como 2-n-pentil-quinolina	25
Tabla 4.6: Datos espectrométricos de H ¹ RMN para el Compuesto 3, reconocido como 2-fenil-4-metoxi-quinolina	28
Tabla 4.7: Datos espectrométricos de C ¹³ RMN para el Compuesto 3, reconocido como 2-fenil-4-metoxi-quinolina	28
Tabla 4.8: Datos espectrométricos de H ¹ RMN para el Compuesto 4, reconocido como 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina	31
Tabla 4.9: Datos espectrométricos de C ¹³ RMN para el Compuesto 4, reconocido como 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina	31
Tabla 4.10: Regresión lineal del método por cromatografía de gases para la determinación de 2-fenil-quinolina	35
Tabla 4.11: Exactitud del método por cromatografía de gases para la determinación de 2-fenil-quinolina	36
Tabla 4.12: Abundancia relativa de los alcaloides presentes en el CAT de <i>Galipea longiflora</i>	37
Tabla 4.13: Datos generales de prevalencia de parásitos en niños de la escuela Charcas II	38
Tabla 4.14: Prevalencia de parásitos intestinales en niños de la escuela Charcas II	39
Tabla 4.15: Niños parasitados con <i>Ascaris lumbricoides</i> en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol	41
Tabla 4.16: Niños parasitados con <i>Hymenolepis nana</i> en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol	41
Tabla 4.17: Niños parasitados con <i>Strongyloides stercoralis</i> en los controles copro- parasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol	42
Tabla 4.18: Niños parasitados con <i>Trichiuris trichiura</i> en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol	42
Tabla 4.19: Niños parasitados con <i>Uncinarias</i> en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol	43
Tabla 4.20: Eficacia al mes de Mayo y efecto protector al mes de Noviembre, del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol	44
Tabla 4.21: Niños parasitados con <i>Chilomastix mesnili</i> en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol	45

Tabla 4.22 A. Niños parasitados con <i>Endolimax nana</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración del jarabe de Evanta al 2%	46
Tabla 4.22 B. Niños parasitados con <i>Endolimax nana</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración de Mebendazol	47
Tabla 4.23 A. Niños parasitados con <i>Entamoeba coli</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración del jarabe de Evanta al 2%	48
Tabla 4.23 B. Niños parasitados con <i>Entamoeba coli</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración de Mebendazol	48
Tabla 4.24 A. Niños parasitados con <i>Giardia lamblia</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración de jarabe de Evanta al 2%	49
Tabla 4.24 B. Niños parasitados con <i>Giardia lamblia</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración de Mebendazol	50
Tabla 4.25 A. Niños parasitados con <i>Iodoamoeba butchilli</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración del jarabe de Evanta al 2%	50
Tabla 4.25 B. Niños parasitados con <i>Iodoamoeba butchilli</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración de Mebendazol	51
Tabla 4.26 A. Niños parasitados con <i>Blastocystis hominis</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración del jarabe de Evanta al 2%	52
Tabla 4.26 B. Niños parasitados con <i>Blastocystis hominis</i> en los controles coproparasitológicos después de la administración de Mebendazol	53
Tabla 4.27 Eficacia al mes de Mayo y efecto protector al mes de Noviembre, del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol frente a protozoarios	53
Tabla 5.1: Diluciones de 2-fenil-quinolina en CH ₂ Cl ₂ a partir de la solución madre	61
Tabla 5.2: Componentes para la elaboración de la emulsion de <i>G. longiflora</i>	64
Tabla 5.3: Parámetros de diagnostico coproparasitologico	66

ABREVIATURA

b, pendiente

CAT, Concentrado de alcaloides totales de corteza de *Galipea longiflora*

CG, cromatografía de gases

cm, centímetros

C.V., coeficiente de variación

CLV, cromatografía líquida al vacío

r^2 , coeficiente de determinación

r, coeficiente de correlación

D.S., desviación estándar

CH₂Cl₂, di-cloro-metano

ER, error relativo

g, gramos

HCl, ácido clorhídrico

NaOH, hidróxido de sodio

Kg, kilogramos

LD, límite de detección

LC, límite de cuantificación

ug, microgramos

min, minutos

mg, miligramos

mL, mililitros

m.s.n.m, metros sobre el nivel del mar

N, normal

pH, potencial de hidrogeniones

RMN, resonancia magnética nuclear

Rt, tiempo de retención

TLC, cromatografía en capa fina

RESUMEN

Las enteroparasitosis son una problemática en toda América Latina, por tanto es importante el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de estas infecciones, el jarabe en base a alcaloides de *Galipea longiflora* ha sido utilizado como antileishmanicida y según farmacopeas tradicionales también se usaría como amebicida y disenterías parasitarias. En el estudio se logro aislar y caracterizar por técnicas cromatográficas y espectroscopia de RMN los 4 compuestos mayoritarios del concentrado de alcaloides totales de corteza (CAT) de *G. longiflora*: 2-fenil-quinolina, 2-n-pentil-quinolina, 2-fenil-4-metoxi-quinolina, 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina. Obtenidos los alcaloides en alto grado de pureza, se estandarizo un método cuali – cuantitativo por cromatografía de gases CG con un intervalo de linealidad entre 2,5 – 0,075mg/mL, y que presenta relación con los datos obtenidos por gravimetría de las fracciones obtenidas en cromatografía en columna.

Se elaboraron jarabes al 2% en base a CAT de *G. longiflora*, y se administraron en 40 niños pertenecientes a la escuela de la comunidad Charcas II, ubicada al norte del departamento de La Paz, Bolivia, se realizo el análisis coproparasitologico los meses de Marzo, Mayo y Noviembre.

Se observo una alta prevalencia de helmintos y protozoarios en muestras fecales (97,5%), el poliparasitismo alcanza un 90% de prevalencia, la relación protozoarios/helmintos es de 3,9. El mayor protozooario encontrado fue *Blastocystis hominis* (95%); *Giardia lamblia* (52,5%) también se encontraron *Endolimax nana* (55%); *Entamoeba coli* (67,5%); *Chilomastix mesnili* (22,5%); *Iodoamoeba bustchili* (30%). Dentro de los helmintos el parasito de mayor prevalencia son las *uncinarias* (42,5%), *Trichuris trichiura* (12,5%), *Hymenolepis nana* (10%) y *Strongyloides stercoralis* (10%) y *Ascaris lumbricoides* (7,5%).

Después del tratamiento las *uncinarias* fueron eliminadas en 7/14 casos (50%), se elimino a *Trichuris trichiura* y *Strongyloides stercoralis* en 3/4 casos (75% en ambos casos). Se observo una alta protección hasta el mes de Noviembre en el caso de las *uncinarias* en 13/16 casos (81,25%) y *Trichuris trichiura* en 3/4 casos (75%). De los protozoarios, se elimino a *Chilomastix mesnili* en 4/8 casos (50%) y *Giardia lamblia* en 4/11 casos (36,3%). En el mes de Noviembre se elimino a *Chilomastix mesnili* en 7/10 casos (70%) y a *Giardia lamblia* en 6/15 casos (40%).

1. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar el estudio químico cuantitativo y analizar el uso como antiparasitario, del extracto etanólico de la corteza de *Galipea longiflora* (Evanta).

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Realizar el aislamiento y caracterización de los principales alcaloides de *Galipea longiflora* por técnicas cromatográficas y de resonancia magnética nuclear (RMN) para utilizarlos como patrones de análisis.
- Desarrollar un método por cromatografía de gases (CG) para la cuantificación de alcaloides de corteza de *Galipea longiflora*.
- Elaborar el jarabe de Evanta al 2% y administrar en niños de la escuela Charcas II, ubicada en la región amazónica del norte de la provincia Sud Yungas del departamento de La Paz, Bolivia. Para determinar la eficacia del jarabe frente al mebendazol.

En América Latina y el Caribe, millones de personas están padeciendo los efectos de los parásitos intestinales, conocidos como helmintos transmitidos por el contacto con el suelo y protozoarios. Se estima que hay muchos más casos de infecciones por parásitos intestinales que casos de VIH/ SIDA, tuberculosis y malaria juntos¹. Aunque los estudios de prevalencia de los parásitos intestinales en América Latina y el Caribe a nivel local o provincial son frecuentemente satisfactorios, un reto para la expansión de los programas de desparasitación, es tener datos a nivel nacional consistentes y actualizados. La Organización Panamericana de la Salud mantiene una base de datos de más de 526 estudios sobre la prevalencia de estos parásitos que demuestra que sólo 8 de 35 países de la región han emprendido recientemente encuestas nacionales sobre la presencia de estos parásitos.²

En Bolivia, las parasitosis intestinales tienen un impacto significativo en el desarrollo del país, afectan a miles de personas, la prevalencia tanto de helmintos como de protozoarios varía de acuerdo a los pisos ecológicos existentes; la zona andina, los valles, y la zona tropical o amazónica. Estos parásitos ejercen un impacto perjudicial durante las primeras etapas del desarrollo de los niños, causando problemas de salud entre las mujeres embarazadas y sus bebés, debido a que consumen nutrientes de las mujeres en el periodo de gestación, inhiben el crecimiento de los fetos en el útero y causan un bajo peso al nacer.³

Más de una cuarta parte de los niños menores de 5 años en Bolivia (27%) padecen desnutrición crónica (baja talla para la edad), la cual afecta con mayor intensidad a los niños del área rural (37%); si se analiza esta situación de acuerdo a niveles de pobreza, cerca del 8% de todos los niños menores de 5 años tendrían un peso deficiente para su edad.

¹ Pan American Health Organization. *Final Report: Consultation Meeting on a Trust Fund for the Prevention, Control and Elimination of Neglected and Other Infectious Diseases in Latin America and the Caribbean* (Washington, D.C., 15- 16 December 2008). PAHO/HSD/CD/542-09. 2009

² Pan American Health Organization. *Epidemiological Profiles of Neglected Diseases and Other Infections Related to Poverty in Latin America and the Caribbean*, Washington, D.C. 2009; 1: 22

³ Christian P, Khatry SK, West KP., Jr *Antenatal anthelmintic treatment, birth weight, and infant survival in rural Nepal*. Lancet. 2000; 364:981–983

La desnutrición global en menores de 2 años es de 15%; la aguda de 6%; la desnutrición crónica de 38%, siempre se relaciona a las parasitosis con la desnutrición y anemia.⁴

En el año 2000, la Conferencia Internacional de Investigación en Salud para el Desarrollo definió que un componente importante de cualquier sistema de investigación en salud, es tener una agenda para la investigación en salud definido por las necesidades y prioridades del país, en donde el ministerio de salud y deportes priorizo 10 sub-agendas que incluye en primer lugar la salud infantil.⁵

Por otra parte, según la OMS se calcula que alrededor del 80% de la población de países en desarrollo dependen principalmente de los remedios caseros o herbarios y de otros tipos de tratamientos tradicionales.⁶ Múltiples estudios han confirmado la importancia de muchas especies vegetales como fuente importante de nuevos metabolitos con actividad antiparasitaria principalmente por ser efectivos a dosis moderadas y no causar efectos adversos, aun teniendo en cuenta que no todas las plantas cuentan con estos requisitos, una gran mayoría son considerados para el desarrollo de nuevas generaciones de fármacos.⁷ Hasta el 2007 se conocía que alrededor del 50% de las moléculas encontradas como posibles drogas candidato provienen de plantas o han sido sintetizadas tomando como base núcleos conocidos obtenidos de fuentes naturales.⁸

La flora existente a nivel mundial es variada, donde el 70% de las especies del mundo están distribuidas en 11 países, siendo 4 de ellos sudamericanos: Brasil, Perú, Ecuador, Colombia. Principalmente por ser parte de la selva tropical del amazonas que es la zona más rica en biodiversidad del mundo.⁹ Bolivia cuenta con extensas tierras amazónicas que son ricas en biodiversidad y conocimiento en medicina tradicional. Los

⁴ Estado plurinacional de Bolivia. Ministerio de salud y deportes. Ibid: Línea de base de desnutrición cero. Bolivia, 2007

⁵ Estado plurinacional de Bolivia. Ministerio de salud y deportes. Agenda nacional de prioridades de investigación en salud. La Paz, 2009

⁶ WHO/PAHO. English WHO. Recomendaciones de la OMS para gobiernos y consumidores acerca del uso de los tratamientos tradicionales. *Rev Panam Salud Pública*. 2004; 16(3): 218-21

⁷ Osorio E., Montoya G., Revista de la facultad de química farmacéutica. 2006; 13 (1): 61-84

⁸ Queiroz E., Araujo Faro R., La Biodiversidad brasileña como fuente de nuevas drogas: Pasado, presente y futuro. *Rev de fitoterapia*. 2009; 9 (1): 31-35

⁹ Calderon L., Silva I. Amazonian biodiversity: a view of drug development for leishmaniasis and malaria. *J Braz Chem. Soc.* 2009; 20 (6): 1011-1023

Tacanas, Chimanes y Mozetenes son de los grupos étnicos con mayor conocimiento en medicina etnobotánica en la amazonia boliviana.¹⁰

El Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas (IIFB) de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA), desde 1993 está trabajando en la evaluación biológica de plantas medicinales listadas en Farmacopeas Tradicionales a través de proyectos multidisciplinarios, de las cuales la *Galipea longiflora* (Evanta), ha sido seleccionada de entre más de 800 extractos, por sus propiedades antiparasitarias.¹¹ La mayor parte de los estudios realizados demuestran su actividad antiparasitaria frente a leishmania, estudios que han pasado por pruebas pre-clínicas y están en pruebas clínicas en la actualidad. Sin embargo, según las farmacopeas tradicionales la Evanta también es utilizada como amebicida, vermífuga, antiemética y en el tratamiento de diarreas causadas por parásitos.

El presente trabajo consta de 2 partes, la primera está dirigida al aislamiento y caracterización de los compuestos mayoritarios que están presentes en un concentrado de alcaloides totales de corteza (CAT) obtenido de la *Galipea longiflora*, por medio de técnicas cromatográficas, análisis por resonancia magnética nuclear (RMN) y cromatografía de gases (CG), para su utilización como patrones de análisis. Una vez obtenidos los patrones, se los utiliza para la estandarización de un método analítico por cromatografía de gases (CG) que nos permita la cuantificación de alcaloides totales de corteza y de esta manera saber con certeza cuanto de principio activo se utiliza en la formulación de los jarabes de Evanta al 2%.

Reconociendo que el jarabe de Evanta es un medicamento seguro por todos los estudios ya realizados y siguiendo con las farmacopeas tradicionales, en la segunda parte, se realiza el primer estudio piloto de desparasitación de niños, que pretende comparar la efectividad del jarabe de Evanta al 2% frente a un fármaco de actividad reconocida (Mebendazol), mediante el análisis coproparasitológico en niños de la escuela Charcas II, ubicada en la región amazónica del norte del departamento de La Paz, en la provincia Sud Yungas, perteneciente a la sectorial educativa de Inicua.

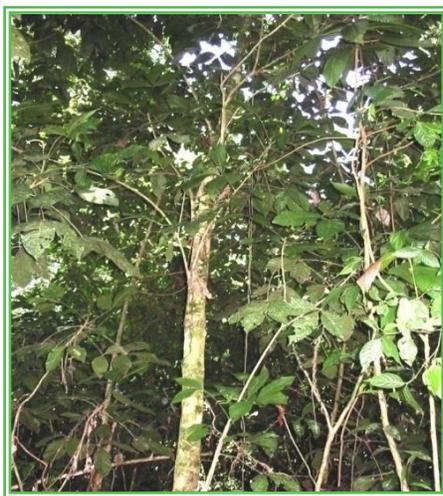
¹⁰ FONAMA, IRD, UMSA, CIPTA. Tacana. Conozcan nuestros árboles, nuestras hierbas “Ecuánasha aquí, ecuanasha id’rene cuana, me schanapaque”. CID. 1999; 1: 497

¹¹ Giménez A., Avila J., Ruiz G., Paz M., Udaeta E., Salamanca E., Paredes C., Chuqui R., Quenevo C., Dalence M., *Revista Boliviana de Química*. 2005; 22: 94-107

3.1 Genero *Galipea*

Galipea es un género tropical de la familia *Rutaceae*, con aproximadamente 60 especies indexadas, al menos, la mitad de estas especies se encuentran distribuidas a lo largo de Panamá, Guatemala, Nicaragua, Cuba, Costa Rica, Ecuador, Perú, Venezuela, Brasil y Bolivia.¹² En Bolivia la especie *Galipea longiflora* (K. Krause) **Figura 3.1** se distribuye en los bosques tropicales con elevada humedad (entre 350 – 600 m.s.n.m.) de los departamentos de La Paz y Beni.¹³

Figura 3. 1 *Galipea longiflora* k., planta leñosa que crece en lugares con elevada humedad de llanuras y montañas de Norte y Sur América (IIFB)



En Bolivia la *Galipea longiflora* es conocida por la etnia Tacana como *Evanta* o *Yuruma huana epuna*, su corteza es empleada para el tratamiento de la espundia o leishmaniasis, en este tratamiento la corteza seca es molida y aplicada directamente como cataplasma sobre las úlceras, adicionalmente, es bebida como infusión durante el tiempo que dure el tratamiento. También es utilizada como antiemético, vermífugo y amebicida, el uso más frecuente es en forma de cocción en el tratamiento de diarreas causadas por parásitos intestinales, tales como la disentería amebiana y como antihelmíntico¹⁰.

¹² www.Missouribotanicalgarden.com. Página de internet [Fecha de acceso 2011]

¹³ Gómez J. A New Species of *Galipea* (*Rutaceae-Cuspariinae*) from Costa Rica and Nicaragua. *Novon*. 1994; 4(4):347-349

Según los conocimientos en la medicina tradicional venezolana la corteza de la especie *Galipea officinalis* es utilizada para el tratamiento de la dispepsia, disentería, diarreas crónicas y fiebre¹⁴

La Evanta, es un árbol de 10 a 15 m de altura, presenta hojas trifoliadas alternas o superpuestas sobre la misma rama, con un pecíolo frecuentemente alado, flores blancas y perfumadas en cimas, panículos o racimos. El árbol florece entre los meses de Mayo a Junio, los frutos se observan en los meses de Junio a Julio.¹⁵

3.2 Clasificación taxonómica¹⁶

Dominio	: Eucariota
Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub-clase	: Rosidae
Superorden	: Rutanae
Orden	: Rutales
Suborden	: Rutineae
Familia	: Rutaceae
Género	: <i>Galipea</i> , <i>Angostura</i>
Especie	: <i>G. longiflora</i> (k. Krause) <i>kallunki</i>
Nombre común	: <i>Yuruma huana epuna</i> , <i>Evanta</i> , <i>Ivab`ta</i> , <i>Tantac</i> .

3.3 Estudios químicos y biológicos del genero *Galipea*

Desde 1985, se vienen estudiando varias especies del genero *Galipea*, se han aislado y caracterizado 13 alcaloides quinolinicos de la corteza, raíz y hojas de la *Galipea longiflora*. Algunos de los principios activos han sido aislados y debido a su eficacia demostrada¹⁷ y su baja toxicidad determinada en modelos *in vivo*¹⁸ han sido patentados como Chimaninas A, B, C, D, US4209519/15/04/93.

¹⁴ Mester I., *Fitoterapia*. 1973; 44: 123-152

¹⁵ Pirani J, Kallunki J. two new species of *Galipea* (Rutaceae, Galipeae) from Bolivia, Ecuador and Peru. *Brittonia*. 2007; 59 (4): 343-349

¹⁶ Levietava J. Medicinal plants in a middle Paleolithic grave shanidar IV. *J Ethnopharmacology*. 1992; 35:263-266

¹⁷ Fournet A., Angelo A., Muñoz V., Leishmanicidal and trypanocidal activities of medicinal bolivian plants. *Journal of ethnopharmacology*. 1994; 41:19-37

¹⁸ Gantier JC., Fournet A., Muñoz MH., The effect of some 2-substituted quinolines isolated from *Galipea longiflora* on *plasmodium vinckei petteri*, infected mice. *Planta medica*. 1996; 62(3):285-286

La mayor parte de los estudios de la *Galipea longiflora*, han sido dirigidos sobre su actividad frente a parásitos intracelulares (leishmania¹⁹, malaria¹⁸), pero según las farmacopeas tradicionales, también se la utiliza como antiemético, vermífugo, amebicida y en el tratamiento de diarreas causadas por parásitos intestinales.

Una muestra científica del uso tradicional de la Evanta como amebicida, fue descrito al determinar el IC₅₀ del CAT frente a dos cepas de *Acanthamoeba (castellani-polyfaga)* IC₅₀ = 12,01 ug/mL (+/-0,67) y 27,34ug/mL (+/- 2,65) que muestra una estrecha relación al IC₅₀ de miltefosina.²⁰ Otros estudios sugieren, que el extracto crudo de Evanta, cura no solo por la acción sobre el parasito sino por una combinación, con un efecto sobre componentes de la respuesta inmune principalmente sobre la producción de IFN- Gamma y la proliferación celular.²¹

En Bolivia el uso tradicional de esta planta como antiparasitario es reconocido dentro de la lista de los recursos naturales aceptados, las normas para medicamentos naturales lo reconocen como medicamento seguro, eficaz y de calidad.²² El IIFB ha estandarizado un método de extracción de CAT de Evanta a escala piloto y ha trabajado en el desarrollo de jarabes al 1 %, 2% y 5%.²³ Desde 1993 forma parte de un equipo multidisciplinario que ha llevando adelante estudios pre-clínicos²⁴ y continua llevando estudios clínicos sobre la eficacia de formulaciones farmacéuticas frente a la leishmaniasis cutánea las cuales continúan investigando sobre nuevas alternativas para el tratamiento de esta enfermedad.

¹⁹ Giménez A., Avila JA., Ruiz G., Paz M., Udaeta E., Estudios químicos, biológicos y farmacológicos de *Galipea longiflora* Krause. *Revista boliviana de química*. 2005; 22 (1):94-107

²⁰ Salamanca E., Actividad antiparasitaria múltiple de alcaloides totales de corteza de *Galipea longiflora* Krause kallunki (Evanta). Tesis de post-grado. La Paz-Bolivia. 2008

²¹ Calla J., Troye M., Fernandez C., El extracto de alcaloides de *Galipea longiflora* (Evanta) afecta la proliferación celular y la producción de citoquinas pro-inflamatorias: Factor de necrosis tumoral e interferon-gamma *in vitro*. *Biofarbo*. 2006; 14: 56-66

²² Estado plurinacional de Bolivia. Ministerio de salud y deportes. Normas para medicamentos naturales, tradicionales y homeopáticos. 2001

²³ Ticona JC., Estudio químico de dos plantas bolivianas de la etnia tacana: *Galipea longiflora* y *bowdichia virgiloides*. Tesis de post-grado. La Paz-Bolivia. 2008

²⁴ Herrera V. Toxicidad del extracto de alcaloides totales de *Galipea longiflora* Krause kallunki (Evanta) en fase pre-clinica. Tesis de post-grado. La Paz-Bolivia. 2008

La actividad biológica antiparasitaria de *G. longiflora*²⁵, es atribuída a un grupo de alcaloides; se han identificado 13 alcaloides quinolinicos, los cuales fueron obtenidos de la corteza del tronco, raíz y hojas del árbol, la composición de alcaloides en diferentes partes de la planta es resumida en la **Tabla 3.1** El trabajo sobre Evanta, se centra en el análisis de variaciones de la mezcla de los cinco alcaloides quinoléicos principales aislados de la corteza de *Galipea longiflora*, varios estudios reconocen a la 2-fenilquinolina; 2-pentilquinolina; 4-metoxi-2-fenilquinolina; 2-propilquinolina y 2-(3,4-metilendioxfeniletíl)-quinolina, como los compuestos mayoritarios que representan cerca del 90% del total de los alcaloides.¹⁹

Tabla 3.1 Composición de alcaloides de diferentes órganos de *Galipea longiflora*.

Rendimiento de alcaloides totales (g/kg)	Troncos	Raíces	Hojas
	32	43	7
Estimación de la composición de alcaloides (%)			
Alcaloide	Tronco	Raíces	Hojas
1. sikimanina (1)		4,0	1,7
2. 2- fenilquinolina (2)	47,7	66,7	29
3. 4- metoxi-2-fenilquinolina (3)	2,8	3,3	
4. 2-(3',4'-dimetoxifeniletíl)quinolina (4)	1,1		
5. 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)- quinolina (5)	10,2	6,7	
6. 4 metoxi-2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)quinolina (6)	3,1	2,0	
7. 4-metoxi-2-n-pentilquinolina (7)	1,0		
8. 2-n-pentilquinolina (8)	2,4	17,3	
9. 2-n-propilquinolina (9)	1,3		12,5
10. 4-metoxi-2-n-propilquinolina (chimanina A) (10)	2,4		
11. 2-(E)-prop-1'-enilquinolina (chimanina B) (11)			16,7
12. 4-metoxi-2-(E)-prop-1'-enilquinolina (chimanina C) (12)			0,5
13. 2-(1',2'-transepoipropil)- quinolina (chimanina D) (13)			1,7
Fuente: Fournet A. et al, Journal of Natural Products ²⁶			

²⁵ Fournet A., Vagneur B., Richomme P.. Aryl-2 et alkyl-2 quinoleines nouvelles isolées d'un Rutaceae bolivienne : *Galipea longiflora*. *Can. J. Chem.* 1989; 67 : 2116-2118

²⁶ Fournet A., Hocquemiller R., Les chimanines, Nouvelles Quinoleines Substituées en 2, Isolées d'Une plante Bolivienne Antiparasitaire: *Galipea longiflora*. *Journal of Natural Products*. 1993; 56(9): 1547-1552

3.4 Identificación de alcaloides

Los alcaloides quinolinicos es uno de los grupos químicos más estudiados, debido a sus interesantes propiedades farmacológicas, muchos de sus derivados pueden actuar como agentes analgésicos potentes, hipertensores, amebicidas, virucidas, entre otras propiedades.^{27 28}

La cromatografía de gases capilar es una técnica bien establecida para el análisis de mezclas complejas de alcaloides, se encuentran numerosas publicaciones por CG o CG-MS para la determinación de derivados de pirrolozina, quinolizidina, tropano, indol y alcaloides de plantas²⁹. La principal ventaja de utilizar CG capilar es la posibilidad de evaluar directamente los extractos que contienen los alcaloides quinolinicos sin la necesidad de una derivatización, la mayoría de los alcaloides pueden ser identificados por comparación de sus masas (en el caso de CG-MS)³⁰ o de los tiempos de retención (en el caso de CG), con los obtenidos en literatura.³¹ Además, la cromatografía capilar ha demostrado ser una herramienta poderosa para la separación e identificación de fracciones complejas de alcaloides (incluyendo isómeros) de varios extractos de plantas y cultivos in vitro.³²

3.5 Parásitos intestinales

En América latina y el Caribe las infecciones por parásitos intestinales son transmitidas por medio del contacto con el suelo, vegetación comida y agua contaminados con materia fecal que contiene alguna forma parasitaria. Después de que los individuos han consumido los huevos inadvertidamente, o que las larvas de los parásitos intestinales provenientes del suelo han penetrado su piel, estas viajan por varias vías

²⁷ Michael J. Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids. *Natural Product Reports*. 2007; 24: 223-246

²⁸ Osorio E., Montoya G., Arango G. Productos naturales alcaloidales con actividad antiprotozoaria. *Vitae. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 2006; 13(1): 61-84

²⁹ Kreh M, Matusch R., Witte L. Capillary gas chromatography of Amaryllidaceae alkaloids. *Phytochemistry*. 1995; 38: 773 – 776

³⁰ Jacquemond I. Identification of the Alkaloids of *Galipea officinalis* by Gas Chromatography–Mass. *SpectrometryPhytochem. Anal.* 2001; 12: 312–319

³¹ Duffield AM., Aplin RT., Budzikiewicz H., Djerassi C., Murphy CF., Wildman WC. Mass spectrometry and stereochemical problems, a study of the fragmentation of some Amaryllidaceae alkaloids. *J Am Chem Soc.* 1965; 87: 4902–4917

³² Wink M., Witte L., Hartmann T., Theuring T., Volz V. Accumulation of quinolizidine alkaloids in plants and cell suspension cultures: Genera *Lupinus*, *Cytisus*, *Baptista*, *Genista*, *Laburnum* and *Sophora*. *Planta Med.* 1986; 48: 253– 257

hasta sus intestinos, donde los parásitos adultos pueden vivir durante uno a cinco años, dependiendo de la especie.

Los niños son el grupo objetivo de máxima prioridad para el tratamiento, debido a los agotadores efectos de las infecciones por parásitos. Se estima que 46 millones de niños en edad pre-escolar y escolar corren el riesgo de contraer una infección por geohelminfos en la región, debido a que no tienen acceso a instalaciones mejoradas de saneamiento. Esto equivale al 15 % de los niños en edad escolar y más de la mitad de todos los niños de las áreas rurales desde México hasta Argentina. A pesar de eso, solo entre el 23 y 33% de estos niños está recibiendo tratamiento anti-parasitario.³³

Estos parásitos causan diarreas y vómitos, así como dolor y anemia crónica, que hace que los niños falten frecuentemente a la escuela y tengan un peor rendimiento cuando logran asistir a clases.³⁴ Estas infecciones también limitan el crecimiento físico, tanto en términos de peso como de estatura, a medida de que los parásitos roban a los niños el hierro, las proteínas y otros nutrientes vitales. Además, los niños con parásitos en sus intestinos a menudo comen menos de lo que necesitan, porque los geohelminfos (especialmente las uncinarias) pueden suprimir el apetito.³⁵

Cuando se administra el tratamiento contra los parásitos intestinales comúnmente se pasa por alto un segmento importante de la población. A los niños muy pequeños se les excluye de la mayoría de las campañas contra los parásitos intestinales, las cuales por lo general tienen lugar en las escuelas. Estudios han demostrado que los niños que todavía no van a la escuela tienen niveles más altos de infección por parásitos intestinales por lo tanto dar medicamentos anti-parasitarios a este grupo es altamente costo-efectivo.³⁶

³³ Carabin H., Chan MS., *et al.* A Population Dynamic Approach to Evaluating the Impact of School Attendance on the Unit Cost and Effectiveness of School-Based Schistosomiasis Chemotherapy Programmes. *Parasitology*, 2000; 121: 171-183

³⁴ Miguel E., Kremer M. Worms: identifying impacts on education and health in the presence of treatment externalities. *Econometrica*. 2004; 72(1):159-217

³⁵ Stephenson LS., Latham M.C., Adams EJ. Physical Fitness, Growth and Appetite of Kenyan School Boys with Hookworm, *Trichuris trichiura* and *Ascaris lumbricoides* Infections are Improved Four Months after a Single Dose of Albendazole. *Journal of Nutrition*. 2003; 123:1036-46

³⁶ Carabin H., Chan MS., Guyatt HL. A Population Dynamic Approach to Evaluating the Impact of School Attendance on the Unit Cost and Effectiveness of School-Based Schistosomiasis Chemotherapy Programmes. *Parasitology*. August 2000; 121 (2): 171-83

Sin embargo, es importante observar que no todas las formulaciones que existen actualmente para el tratamiento son apropiadas para los niños en edad preescolar (1-4 años). Por consiguiente, se necesitan nuevas formulaciones pediátricas apropiadas para los niños de esa edad, incluyendo las presentaciones líquidas, para llegar a esta población de niños pequeños con medicamentos esenciales.³⁷

3.6 Situación de las parasitosis en Bolivia

En Bolivia, 7.5% de los niños muere antes de los 5 años por neumonía, diarreas y desnutrición o una combinación de estas causas, lo que significa 7 de cada 10 muertes infantiles, el 26,5% de los sobrevivientes tiene desnutrición crónica.³⁸

Más de una cuarta parte de los niños menores de 5 años en Bolivia (26,5%) padecen de desnutrición crónica (baja talla para la edad), la cual afecta con mayor intensidad a los niños del área rural (37%); si se analiza esta situación de acuerdo a niveles de pobreza, 42%. Casi el 8% de los niños menores de 5 años tienen un peso deficiente para su edad. La desnutrición global en menores de 2 años es de 15%; la aguda de 6% y la desnutrición crónica de 38%, siempre se relaciona la desnutrición con las parasitosis.⁴

En el área urbana, 86,49% de la población se abastecía de agua mediante cañería de red. Mientras que en el área rural, sólo el 27,97% de los hogares contaba con este servicio. Y si bien en el área urbana se advierten progresos en la provisión de agua por cañería, en el área rural ésta se mantuvo en el mismo nivel que en el año 1996. En relación con el estado de salud, la falta de acceso inmediato a agua potable y la contaminación de las aguas, sea por minerales pesados o por plaguicidas, es factor desencadenante de varias y diversas patologías, en particular enfermedades gástricas y parasitosis.³⁹

³⁷ Keiser J., Utzinger J. The Drugs We Have and the Drugs We Need Against Major Helminth Infections. *Advances in Parasitology*. 2010; 73:197-230

³⁸ Plan nacional de desarrollo, ministerio de planificación para el desarrollo, Gobierno de Bolivia. 2006

³⁹ Estado plurinacional de Bolivia. Ministerio de Salud y deportes. Plan sectorial de desarrollo 2010-2020 "Hacia la salud universal". Bolivia. 2009

Desde el año 1985, el Ministerio de Previsión Social y Salud Pública, decidió aplicar un programa de control de parasitosis en niños de 2 a 12 años con cobertura contra helmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Anquilostomideo*). Con la administración de mebendazol en una dosis única de 200mg en zonas con clima frío, 300 mg con clima templado y 400mg con clima cálido, que disminuyó la prevalencia de helmintiasis en zonas urbanas y en menor grado en zonas rurales.⁴⁰

3.6.1 Amebiasis

Diversas especies de protozoarios del género *Entamoeba* colonizan humanos, pero no todos ellos están asociados con enfermedad. *Entamoeba histolytica* es bien reconocida como ameba patógena, asociada con infecciones intestinales y extraintestinales.⁴¹ Es importante saber diferenciar entre los distintos tipos de amebiasis, especialmente cuando el diagnóstico no es completado con tinciones especiales se suele confundir leucocitos con parásitos y no diferenciar entre *Entamoeba histolytica* de *Entamoeba coli* y *Entamoeba dispar*, la prevalencia general encontrada es muy amplia desde el 0,4 a 38,6%.⁴²

En Bolivia se llevó a cabo un estudio epidemiológico para determinar la prevalencia de parasitosis intestinales en cinco unidades educativas de los distritos 4, 5 y 6 de Tiquipaya. De las 277 muestras obtenidas, se evidenció la presencia de parasitosis intestinal en el 61% de los niños, siendo las parasitosis más frecuentes *E. histolytica*, *Hymenolepis nana*, y *Giardia lamblia*. En este estudio se encontró una prevalencia baja de parasitosis que cursan con anemia.⁴³

⁴⁰ Poppe E. Microbiología y parasitología de las vías biliares. *Archivos Bolivianos de Medicina*. 1991; 44 (1): 28-30

⁴¹ Centers for disease & prevention. Center for global health. Página de internet. www.dpd.cdc.gov/dpdx [Fecha de acceso, Enero 2012]

⁴² Bravo R., Serología de amebiasis en pacientes con disentería. (Tesis). La Paz: Hospital del niño. 1994

⁴³ Martínez C. Prevalencia de parasitosis intestinales en escolares, ambulatorio San miguel II Enero-Febrero 2008. Tesis de licenciatura. Julio 2008

Los principales fármacos utilizados son el metronidazol en dosis de 30 a 50 mg/Kg/día por 7 a 10 días y el secnidazol que es 2 veces más activo que el metronidazol y solo requiere una dosis única de 30mg/Kg.⁴⁴

3.6.2 *Giardia intestinalis*

Es el parásito protozoario patógeno más común hallado en estudios de parasitismo y diarrea infantil; con una prevalencia general que alcanza hasta un 38%. Las infecciones por *Giardia intestinalis* (*Giardia lamblia* o *Giardia duodenalis*), suele dar signo-sintomatología cuando la parasitosis es intensa, presentando irritación duodenal que se manifiesta con diarrea mucosa o esteatorrea, dolor epigástrico, flatulencia y anorexia; esta inflamación puede ocasionar una mala absorción intestinal con desnutrición secundaria. Su incidencia varía entre 0,5 a 30%; con prevalencia de 20 a 30% en países en desarrollo y de 2 a 5% en países industrializados.⁴⁵

En niños que habitan la zona altiplánica se informan cifras superiores al 20%, y en la zona tropical del Río Beni, se reporta una prevalencia del 18.5%.⁴⁶ Un estudio realizado en 576 pacientes se encontró que 10,3 % de ellos tenía *Giardia intestinalis* en vías biliares mediante sondaje duodenal. En un estudio más reciente en 159 niños se determinó una prevalencia de 21% para *Giardia lamblia*, siendo los niños de 0-3 años los más afectados (71%).⁴⁷ El fármaco más utilizado es el metronidazol en dosis de 15 a 20 mg/Kg/día en 2 a 3 dosis por 5 a 7 días, con una eficacia de 80-85%.⁴⁸

⁴⁴ Tamayo L. parasitosis intestinal infantil. *Rev.Soc. Bol. Ped.* 2003; 32(1): 36-40

⁴⁵ Herrera I. Giardiasis y desnutrición. *Rev Soc Bol Ped.* 2005; 44(3): 166-173

⁴⁶ Luna S., Jimenez S., Lopez R., Et all. Prevalencia de parasitismo intestinal en niños y mujeres de comunidades indígenas del Río Beni. *Vision científica.* 2007; 2 (1): 37-46

⁴⁷ Condori S., Frecuencia de *Giardia lamblia* en niños de 0-15 años de edad que acuden al hospital La Paz durante los meses de Junio-Agosto 2007. Tesina de licenciatura. La Paz. 2008

⁴⁸ Herrera I. Giardiasis y desnutrición. *Rev. bol. ped.* 2005; 44 (3)

3.6.3 *Blastocystis hominis*

Protozoo habitante del tracto gastrointestinal humano y considerado durante mucho tiempo como comensal no patógeno. Publicaciones recientes relacionan determinadas cepas del parásito con diversos síntomas, tanto intestinales (diarrea aguda autolimitada), como extraintestinales (alérgicos principalmente).⁴⁹

Muchos son los estudios, que muestran a *Blastocystis hominis* como el parásito de mayor prevalencia de hasta un 56% de la población adulta.⁵⁰ Y hasta un 40% en el área rural en el trópico, encontrando mayor prevalencia en niños de 5 a 10 años. Aunque no existe mucha evidencia de la patogenicidad de este parásito, estudios sugieren que está relacionado con la carga parasitaria y el estado inmunológico del individuo, así como los hábitos higiénicos y el ambiente en el que se desarrolla.⁵¹

3.6.4 Helmintiasis

Los helmintos transmitidos por el contacto con el suelo infectan a millones de personas en Latino América y el Caribe **Tabla 3.2**, especialmente los niños pequeños y las mujeres embarazadas. Las enfermedades causadas por estos parásitos intestinales causan retardo en el desarrollo mental y físico de los niños, complican los embarazos y alteran la salud de los recién nacidos, y tienen efectos a largo plazo sobre los logros educativos y la productividad económica. Los parásitos intestinales afectan desproporcionadamente a los más desfavorecidos, particularmente en las áreas rurales y los barrios pobres y marginalizados, y ayudan a atrapar a las personas vulnerables en un ciclo de pobreza.⁵²

⁴⁹ Aparicio M., Tajada P. Parasitosis intestinales. *Pediatr integral*. 2007; 11 (2): 149-160

⁵⁰ Muñoz V., Lizarazu P., Limache G., Blastocistosis y otras parasitosis intestinales en adultos mayores del hogar San Ramon, ciudad de La Paz, Bolivia. *Biofarbo*. 2008; 16:9-12

⁵¹ Michelli E., Leon M. De Donato M. Efecto antiparasitario del pamoato de piraxel/oxantel y metronidazol y su relación con parámetros hematológicos, en escolares de la escuela Ascanio Jose Velasquez de Cumana, Estado de Sucre. *Salus Online*. 2006; 11 (1): 23-35

⁵² Pan American health organization. IDB. Un llamado a la acción: hacer frente a los helmintos transmitidos por el contacto con el suelo en Latino America y el Caribe. 2011

Tabla 3.2 Prevalencia de los helmintos transmitidos por contacto con el suelo en países altamente afectados de las Américas

Bolivia	34.9%
Brasil	19.0%
Colombia	30.0%
República Dominicana	30.3%
Ecuador	49.8%
Guatemala	40.4%
Guyana	25.2%
Haití	51.0%
Honduras	62.5%
México	8.2%
Nicaragua	53.5%
Santa Lucía	40.0%
Surinam	39.5%
Venezuela	11.0%

Es muy común el poli-parasitismo en zonas rurales, en zonas altiplánicas pueden albergar hasta 4 especies (predominantemente protozoarios), en los valles hasta 6 y en el área tropical hasta 8 (predominantemente helmintos); con asociación peculiar de *Ascaris lumbricoides*/ *Trichuris trichiura*; y *Ascaris lumbricoides* / *Trichuris* / *uncinarias* (Triada oriental).⁵³ En zonas tropicales, los enteroparasitos alcanzan mayor relevancia, es frecuente encontrar *Ascaris lumbricoides*, con cifras mayores al 60% (15 a 96%), de *Trichuris trichiura* (5 a 87%) y *Uncinarias* (1 al 84%).⁵⁴

Es importante hacer notar que la prevalencia de estos parásitos varía mucho de población en población, aun bajo una misma zona geográfica.

3.6.4.1 *Ascaris lumbricoides*

Se los reconoce como los mas prevalentes, la prevalencia varia en el altiplano de 1,4 a 8,9%, en los valles de 5,0 a 83% y en las zonas tropicales, del 15 al 96%. Un estudio en 155 niños de 2 a 9 años de la población de Isinuta en el Chapare del valle de Cochabamba encontró una prevalencia del 64% para esta parasitosis, por otra parte, esta es la principal parasitosis de las vías biliares según estudios del instituto Gastroenterologico de

⁵³ Cordero A. Enteroparasitosis infantil en Rio abajo, La Paz – Bolivia. Tesis de licenciatura, 2005

⁵⁴ Melgar B., Cuellar C., De Muynck A., Estado de salud de niños escolares del barrio Santa Rosita, Santa Cruz-Bolivia, *Bol. Inf. CENETROP*, 7:37-40

Cochabamba detectando 21 parasitosis por *Ascaris lumbricoides* de 22 pacientes con este diagnostico.⁵⁵

En el año 2007, un estudio en la población amazónica de Alto Beni, identifico que un 50% de la población con parasitosis presenta a *Ascaris lumbricoides* reconociéndolo como el paracito de más alta prevalencia.⁵⁶

3.6.4.2 *Trichuris trichiuria*

Dentro de los nematodos intestinales ocupa el segundo lugar en prevalencia, estimando una prevalencia hasta el 9,4% en el altiplano, hasta un 66% en los valles y hasta un 87% en las zonas tropicales. Los trabajos específicos que buscaron a este paracito encontraron una prevalencia del 54%.⁵⁷

La trichuriasis, cuya prevalencia varía de 10% a 66%, y la uncinariasis que llega a 15%, excepto en la zona andina, donde los valores son muy inferiores debido a que no son las mejores condiciones climáticas para el desarrollo del paracito y hay mayor acceso a servicios de agua potable y alcantarillado.³⁵

3.6.4.3 *Strongyloides stercoralis*

Strongyloides es el único entre los parásitos nematodos conocidos capaz de permanecer décadas en el organismo humano, creando un estado de autoinfección crónica, condición que en pacientes inmunosuprimidos puede desencadenar el conocido Síndrome de Hiperinfección.⁵⁸

Los datos disponibles acerca de este paracito en zonas tropicales advierte una prevalencia de hasta un 45%. Con frecuencia es una parasitosis asintomática o provoca escasas molestias.⁴⁴ Un trabajo realizado en la población de Caranavi (Zona tropical del

⁵⁵ Koller J., Yañez E., Iporre S. Parasitosis de la vía biliar: Diagnóstico y tratamiento. *Acta Gastroenterologica Boliviana*. 1994; 25-7

⁵⁶ Carpio I., Reyes J., Trelles M., et al. Presencia de *Strongyloides stercoralis* en un estudio sobre enteroparasitosis en escolares del asentamiento humano "La Candelaria", distrito de Chancay, provincia de Huaral, departamento de Lima. *Acta Med Per*. 2007; 24(3): 177-180

⁵⁷ Mollinedo S., Prieto C. El enteroparasitismo en Bolivia. Ministerio de Salud y deportes. 2006

⁵⁸ Suarez A. *Strongyloides stercoralis*: Hallazgos histopatológicos en mucosa duodenal 1999-2005. *Rev. Gastroenterol. Per*. 2006; 26: 44-48

departamento de La Paz), en 72 personas, mayormente niños, se informaron once casos (15,27%) con *Strongyloides stercoralis*.⁴³

El tratamiento de elección es la ivermectina. El albendazol también posee actividad frente a *Strongyloides stercoralis*, pero la ivermectina ha demostrado mayores tasas de curación. Se han propuesto diferentes pautas de tratamiento con ivermectina, siendo la más habitual 200 ug/kg, cada 12 horas, durante dos días consecutivos, pudiéndose repetir el ciclo al cabo de 2-3 semanas para asegurar la erradicación de la infección.⁵⁹

3.6.4.4 Uncinarias

Tres especies de uncinarias pueden completar su ciclo biológico en el hombre: *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* y *Ancylostoma ceylanicum*; aunque las dos primeras son las de mayor importancia.⁶⁰ *Necator americanus* es un nematodo, que vive de modo obligado en clima templado o tropical. Las vías de infección del *Necator*, son la transcutánea, además puede invadir al huésped por vía oral en cuyo caso no realizan ciclo pulmonar y se establecen directamente en el intestino. Las hembras del *N. americanus* oviponen 8000 a 12000 huevos/día. Estos geohelminthos, necesitan calor, humedad, sombra y desechos orgánicos para poder desarrollar las distintas fases evolutivas.⁶¹

Las uncinarias presentan bajas prevalencias con alto grado de daño en los pacientes, un estudio en la provincia de Larecaja en la zona tropical de La Paz informa una prevalencia del 7,2%.⁶² Según el informe de la PAHO las uncinarias presentan una prevalencia del 1 al 84% de prevalencia.⁵⁴ El tratamiento en adultos y niños mayores de 2 años, la dosis es de 400mg (2 comprimidos una vez al día por 3 días).

⁵⁹ Pinal I., Molina I., Sulleiro E., Segura A. Infección por *Strongyloides stercoralis* con eosinofilia masiva y hepatitis colestasica. *Rev. Clin Esp.* 2011; 39: 695-700

⁶⁰ Rosado M., Centurion J. manifestaciones clínicas y laboratoriales de la uncinariasis. *Rev. Soc. bol. Ped.* 1994; 33 (2):60-62

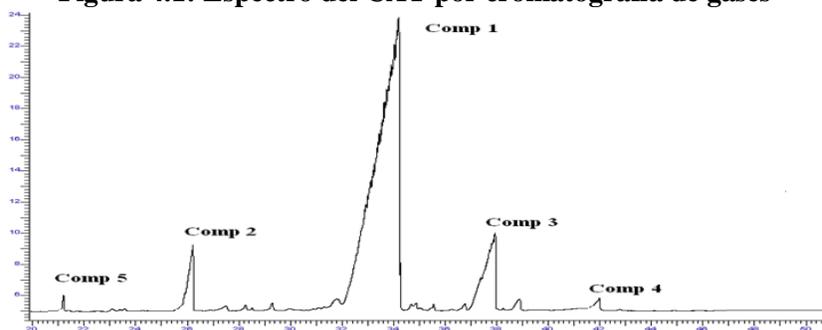
⁶¹ Tamayo L., Yaniquez R., Padilla L. Anemia severa causada por *Necator americanus*. *Rev. Cuadernos.* 2008; 53 (1): 52-55

⁶² Calderon N. Frecuencia de helmintos en vendedores de alimentos de la población del municipio de Guanay de la provincia de Larecaja tropical, La Paz – Bolivia, durante el primer semestre de la gestión 2007. Tesis de licenciatura. 2007

4.1 Obtención de las fracciones FQ1 y FQ2 a partir del concentrado de alcaloides totales de corteza (CAT)

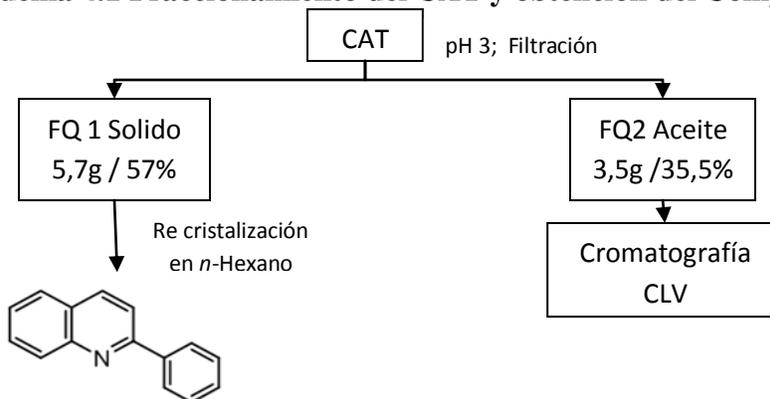
El análisis por cromatografía de gases (CG) del concentrado de alcaloides totales de corteza (CAT), nos muestra a un compuesto que representaría más del 50% del total (**Comp. 1**). **Figura 4.1**

Figura 4.1: Espectro del CAT por cromatografía de gases



Este CAT, fue sometido a precipitación por diferencia de pH lográndose separar dos fracciones (FQ1 y FQ2) que presentan características diferentes. La fracción sólida, denominada FQ1, ha mostrado ser la mayoritaria con una media del 57 (+/-1,22) % de abundancia, mientras que la Fracción aceitosa, denominada FQ2, representa el 35,5 (+/-1,25) %. **Esquema y Tabla 4.1**

Esquema 4.1 Fraccionamiento del CAT y obtención del Compuesto 1



Compuesto 1 (57%)

Pf: 78°C [76,5 – 84 °C]

Rt: 32,3 (+/-0,15)

$C_{15}H_{11}N$

M/Z: [205]*

Tabla 4.1: Porcentajes en la separación de FQ1 y FQ2 a partir de CAT

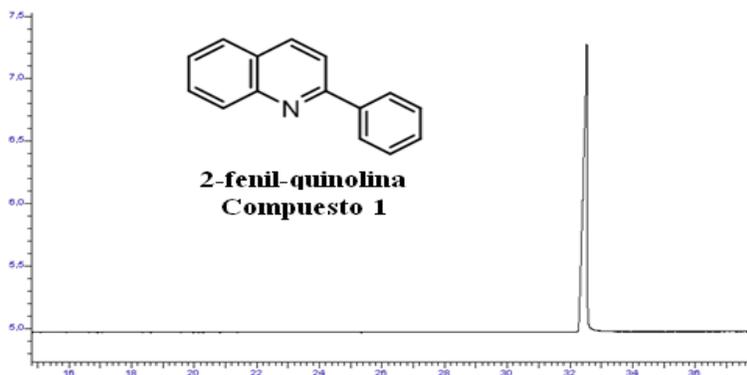
CAT	Fraccionamiento a partir de 10g de CAT				
	FQ1	FQ2	% FQ1	% FQ2	Rendimiento
Promedio	5,7g	3,5g	57,0	35,5	92,5
DS	0,12	0,12	1,22	1,25	0,32

Los promedios se obtuvieron sobre la precipitación, por triplicado, de 10g de CAT con un rendimiento en la recuperación del 92,5%.

4.2 Obtención de la 2-fenil-quinolina (Compuesto 1)

La fracción FQ1, sometida a cristalización en *n*-Hexano, y se obtuvo el **Compuesto 1**, en forma de cristales blancos, con punto de fusión de 78,0°C [76,5°C Ticona 2008; 84°C Fournet 1989]. El análisis por CG mostro la presencia de un compuesto con 99% de pureza y un tiempo de retención (Rt) igual a Rt: 32,3(+/-0,15) minutos. **Figura 4.2**, estudios anteriores identifican al **Comp. 1** como **2-fenil-quinolina (1)**, con un ión molecular a 205 m/z correspondiente a una formula C₁₅H₁₁N (Giménez et al, 2005; Ticona, 2005 y Llanos, 2008).

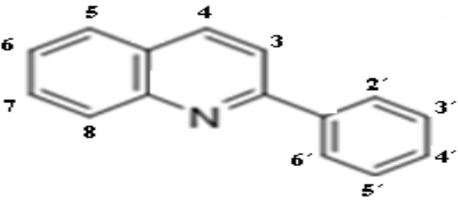
Figura 4.2: Espectro del Compuesto 1 por cromatografía de gases y datos físicos



Compuesto 1 (57% del CAT)	2-fenil-quinolina
Apariencia	Cristales
Punto de fusión	78°C
TLC Rf (CH₂Cl₂-MeOH 5%)	0,58
GC Rt (min)	32,3 (+/-0,15)
IC₅₀ frente a cepas de Leishmania	
<i>Lma</i> (MOHM/BR/76/LTB-012)	41,47(+/-2,7)
<i>M2904 C192 RJA</i>	34,02(+/-8,29)

El espectro de H^1 RMN ($CDCl_3$, $\delta = 7,24$ ppm) del **compuesto 1**, solo presenta señales en la región aromática en forma de tripletes para los protones: (H-4'), (H-3', H-5') y (H-7), un multiplete para: (H-6), cinco dobletes para: (H-5), (H-3), (H-2', H-6'), (H-8) y (H-4) **Tabla 4.2**. Estos datos han sido comparados con los obtenidos en estudios anteriores (Giménez, 2005).

Tabla 4.2 Datos espectrométricos de H^1 RMN para el Compuesto 1

 2-fenil-quinolina				
Protones	ΔH en ppm	Compuesto 1	ΔH en ppm	Giménez 2005 2-fenil-quinolina
H-3	7,86	1H, d, $J = 8,6$ Hz	7,85	1H, d, $J=8,6$ Hz
H-4	8,23	1H, d, $J = 8,6$ Hz	8,23	1H,br d, $J=8,6$ Hz
H-5	7,84	1H, d, $J = 8,0$ Hz	7,81	1H,brd, $J=8,1$ Hz
H-6	7,52	1H, m	7,51	1H,m
H-7	7,75	1H, t, $J = 8,4$ Hz	7,76	1H, t, $J=7,9$ Hz
H-8	8,19	1H, d, $J = 8,4$ Hz	8,18	1H, brd, $J=7,9$ Hz
H-2'; H-6'	8,17	2H, d, $J = 7,0$ Hz	8,20	2H, d, $J=7,0$ Hz
H-4'	7,48	1H, t, $J = 7,0$ Hz	7,48	1H, t, $J=7,0$ Hz
H-3'; H-5'	7,53	2H, t, $J = 7,0$ Hz	7,55	2H, t, $J=7,0$ Hz

En el espectro de C^{13} RMN ($CDCl_3$) se observaron señales en la región aromática correspondiente a 11 carbonos metínicos para: (C-3), (C-4'), (C-5), (C-6', C-2'), (C-3', C-5'), (C-6), (C-7), (C-8), (C-4) y cuatro carbonos cuaternarios a δ : (C-9), (C-1'), (C-10), (C-2) **Tabla 4.3**, el conjunto de estos datos identifica al **Compuesto 1** como la **2-fenil-quinolina** (Anexo 1).

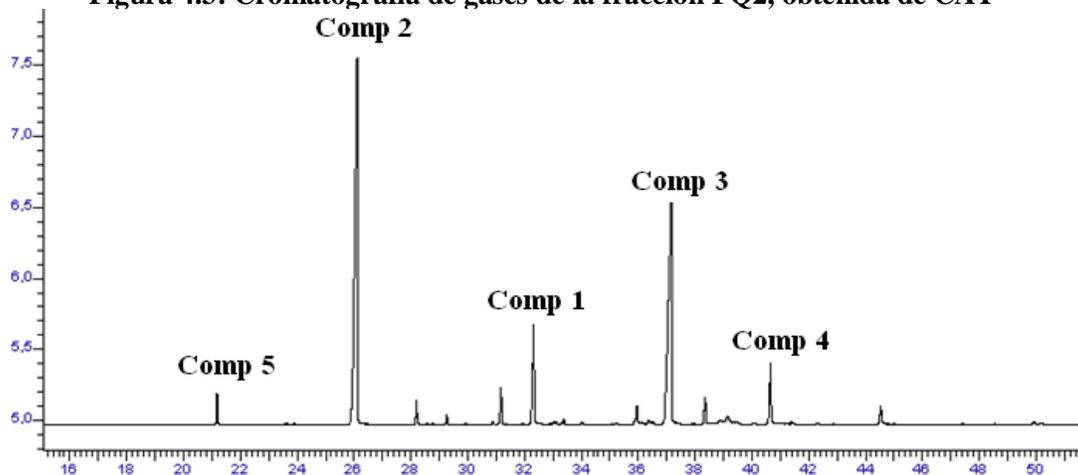
Tabla 4.3 Datos espectrometricos de C¹³ RMN para el Compuesto 1, reconocido como 2-fenil-quinolina

Carbono	δ_c Compuesto 1	δ_c Giménez 2005
C-3	118,7	118,0
C-4'	126,1	126,2
C-9	127,0	129,9
C-5	127,4	127,3
C-6'; C-2'	127,5	127,6
C-3'; C-5'	128,7	128,9
C-6	129,2	127,4
C-7	129,5	129,5
C-8	129,6	129,8
C-4	136,6	136,6
C-1'	139,5	139,6
C-10	148,1	148,2
C-2	157,0	157,2

4.3 Fraccionamiento cromatográfico de la fracción FQ2 obtenida del CAT

La fracción oleosa FQ2, comprende el 35,5(+/-1,25) % del CAT **Tabla 4.1**. El análisis por CG muestra en esta fracción una mezcla de metabolitos, estudios anteriores por CG-SM (Llanos, Fabiola 2008; Ticona, JC 2005) reportan tiempos de retención semejantes con los reportados en nuestro estudio **Figura 4.3**

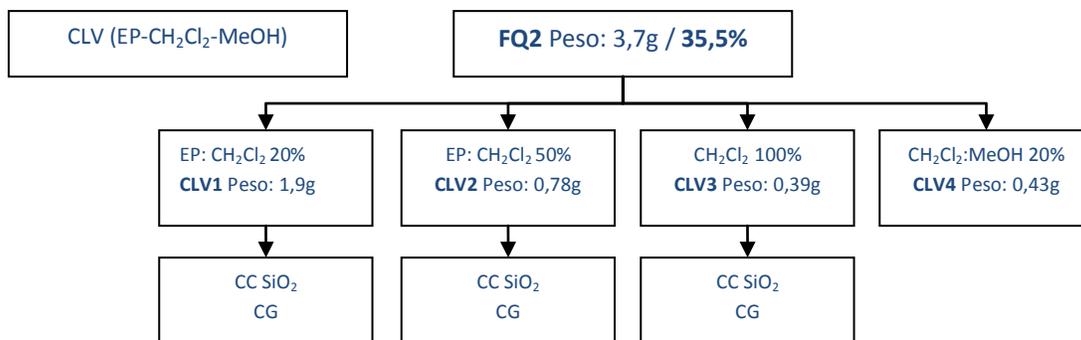
Figura 4.3: Cromatografía de gases de la fracción FQ2, obtenida de CAT



Con el fin de aislar los principales metabolitos de la fracción FQ2, esta ha sido sometida a fraccionamiento por cromatografía líquida al vacío (CLV), utilizando mezclas de eluyentes de polaridad creciente: Éter de petróleo (EP), Diclorometano (CH₂Cl₂), Metanol (MeOH).

Se han obtenido 4 fracciones (CLV1 – CLV4) **Esquema 4.2** y por su perfil de separación se ha observado que estas moléculas son principalmente de carácter apolar (Anexo 2).

Esquema 4.2 Fraccionamiento por cromatografía líquida al vacío (CLV) de la fracción FQ2

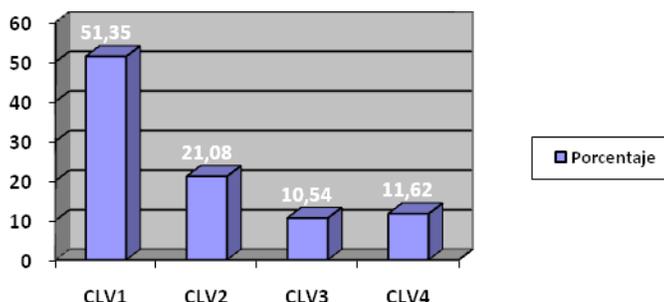


Después del fraccionamiento cromatográfico se ha observado que la fracción menos polar (CLV1) es la mayoritaria con 51% de abundancia relativa dentro el FQ2 **Grafica 4.1** y que representaría el 19,3% del CAT **Esquema 4.2**, el análisis por CG de la fracción CLV1 ha mostrado una mezcla de compuestos (Anexo 2).

La fracción CLV2 y CLV3 tienen un 21,1% y 10,5% de abundancia relativa respectivamente dentro del FQ2 **Grafica 4.1**, y representarían el 7,9% y 3,0% del CAT respectivamente, al igual que la fracción CLV1 el análisis por CG muestra una mezcla de compuestos (anexo 2).

La fracción CLV4 tiene un 11,6% de abundancia relativa dentro el FQ2 **Grafica 4.1**, y representa el 4,4% del CAT, al ser esta fracción de carácter polar (CH₂Cl₂: MeOH 20%), se la descarto para el análisis por CG.

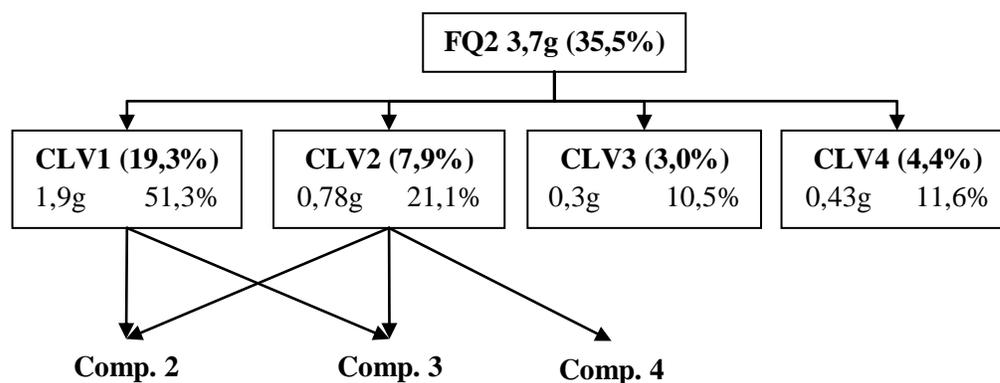
Grafica 4.1 Abundancia relativa de las fracciones obtenidas por cromatografía líquida en columna al vacío (CLV) de la fracción FQ2 obtenida del CAT



4.4 Obtención de metabolitos de las fracciones CLV1 y CLV2 por cromatografía líquida en columna abierta

Se han aislado 3 compuestos de nuestro interés de las fracciones CLV1 y CLV2 **Esquema 4.3**, no se ha tomado en cuenta la fracción CLV3 porque esta presentaba una mezcla de varios metabolitos en muy pequeñas proporciones y de difícil manejo, también la fracción CLV4 no fue tomada en cuenta para el estudio por su carácter polar.

Esquema 4.3: Aislamiento de metabolitos a partir de las fracciones CLV1 y CLV2 por cromatografía líquida



La fracción FQ2, comprende el 35,5 % (3,7g a partir de 10g de CAT) de los alcaloides totales de *Galipea longiflora*, tras haber sido sometidos a diversas técnicas cromatográficas se ha logrado aislar los compuestos mayoritarios (**Comp. 2; Comp. 3; Comp. 4**), cada uno de estos han sido analizados por CG para determinar el nivel de pureza, el Rt y analizadas por resonancia magnética nuclear (RMN) logrando de esta manera identificar inequívocamente los principales alcaloides:

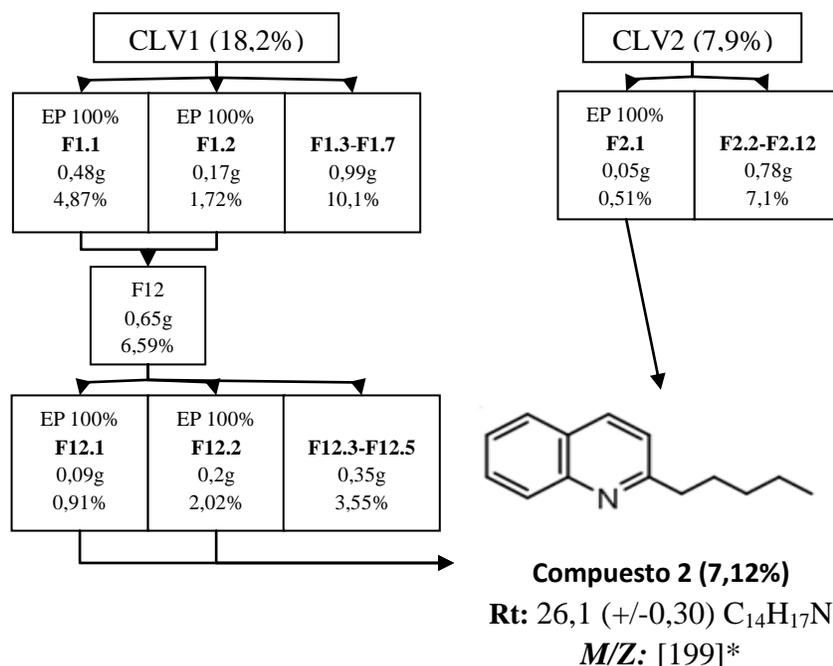
2-fenil-quinolina (**Comp. 1**) Rt: 32,3(+/-0,15); 2-*n*-pentilquinolina (**Comp. 2**) Rt: 26,1(+/-0,30); 2-fenil-4-metoxi-quinolina (**Comp. 3**) Rt: 37,16(+/-0,14) y 2-(3',4'-metilendioxfeniletil)-quinolina (**Comp. 4**) Rt: 40,79(+/-0,26).

4.5 Obtención de 2-pentil-quinolina (Comp. 2) de CLV1 y CLV2

El **Comp. 2**, fue obtenido de las fracciones CLV1 y CLV2 después de ser sometidas en una columna de cromatografía líquida abierta, **Comp. 2** ha mostrado ser de carácter apolar al ser eluido con éter de petróleo 100% (EP) **Esquema 4.4** **Comp. 2** fue obtenido de las fracciones **F12.1** y **F12.2**, ambas subfracciones fueron aisladas de la fracción **CLV1**. De

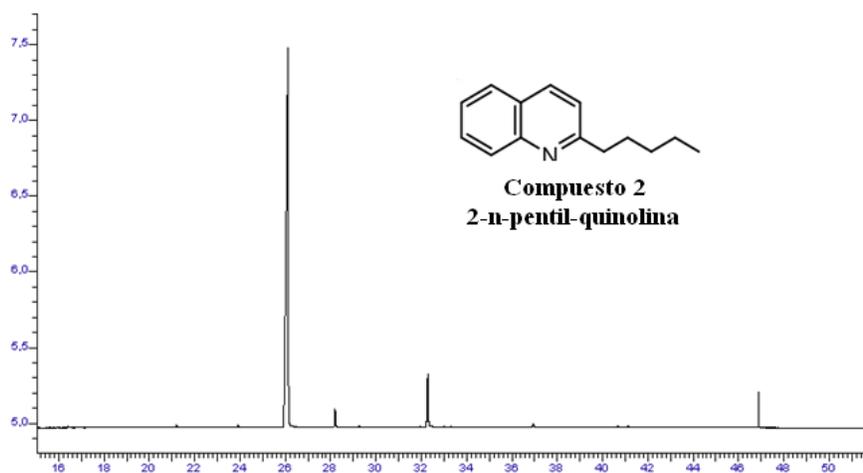
la fracción **CLV2** se selecciono a la fracción **F2.1**, las fracciones fueron seleccionadas por mostrar alta pureza del **Comp. 2** en el análisis por CG, Estudios anteriores la identifican al **Comp. 2** como la **2-pentil-quinolina (2)**, con un ion molecular a 199 *m/z*, correspondiente a una formula molecular C₁₄H₁₇N (Giménez et al, 2005; Ticona, 2005 y Llanos, 2008).

Esquema 4.4: Obtención del compuesto 2 (Comp.2) de las fracciones CLV1 y CLV2



El **Comp. 2** es de consistencia aceitosa y de color amarillo, este compuesto tiene un Rt: 26.1 (+/- 0,3) por CG y muestra un 90% de pureza **Figura 4.4**. Tras un cálculo de los pesos obtenidos después de la cromatografía (Anexo 3), se han calculado 0,71g del **Comp. 2** que representaría el 7,12% del CAT, de los cuales tenemos 0,34g corresponden al compuesto puro y el peso restante se lo calculo en base a las áreas relativas encontradas por CG de las subfracciones que presentaban mezclas de compuestos.

Figura 4.4: Espectro del Compuesto 2 por cromatografía de gases y datos físicos



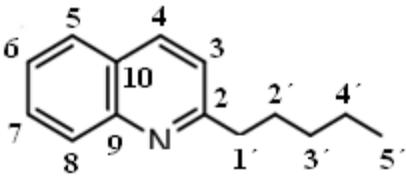
Compuesto 2 (7,12% del CAT)	2-n-pentil-quinolina
Apariencia	aceitosa
TLC Rf (CH₂Cl₂-MeOH 5%)	0,71
GC Rt (min)	26,1 +/- 0,30
IC₅₀ frente a cepas de Leishmania	
<i>Lma</i> (MOHM/BR/76/LTB-012)	42,3 ug/mL
<i>M2904 C192 RJA</i>	13 ug/mL

El análisis del ¹H RMN muestra en la región alifática un triplete (H-5') que corresponde a un grupo metilo, un multiplete (H-3', H-4'), y dos dobletes (H-2') (H-1'), también se observa en la región de los aromáticos 6 dobletes para: (H-4, H-8), (H-5), (H-7), (H-6), (H-3) **Tabla 4.4**

En su espectro de ¹³C RMN se observaron señales en la región alifática de cinco átomos de carbono: (C-1'), (C-2'), (C-3'), (C-4'), (C-5'), siendo el último el correspondiente al grupo metílico, así mismo se observaron 9 átomos de carbono en la región alifática, seis de ellos metínicos para: (C-4), (C-7), (C-6) (C-5), (C-8), (C-3) y 3 cuaternarios para: (C-2), (C-5), (C-10). **Tabla 4.5** (Anexo 4).

El conjunto de estos datos identifica al Comp. 2 como 2-n-pentil-quinolina.

Tabla 4.4 Datos espectrométricos de H¹ RMN para el Compuesto 2, reconocido como 2-n-pentil-quinolina



2-n-pentil-quinolina

Protones	ΔH en ppm	Compuesto 1	ΔH en ppm	Giménez 2005 2-n-pentil.quinolina
H-5'	0,94	3H, t, $J = 6,7$ Hz	0,85	3H, t, $J=7,1$ Hz
H-4'; H-3'	1,36	4H, m	1,32	4H, brm
H-2'	1,85	2H, d, $J = 7,1$ Hz	1,75	2H, brpen, $J=7,5$ Hz
H-1'	2,85	2H, d, $J = 7,6$ Hz	2,90	2H, brdd, $J=7,8$ y $8,0$ Hz
H-4; H-8	8,09	2H, d, $J = 8,3$ Hz	7,95	1H, brd, $J=8,4$ Hz
H-5	7,8	1H, d, $J = 8,1$ Hz	7,63	1H, brd, $J=8,0$ Hz
H-7	7,72	1H, d, $J = 7,1$ Hz	7,56	1H, dd, $J=7,1$ y $6,7$ Hz
H-6	7,49	1H, d, $J = 7,6$ Hz	7,35	1H, dd, $J=8,0$ y $6,7$ Hz
H-3	7,3	1H, d, $J = 7,2$ Hz	7,20	1H, d, $J=8,4$ Hz

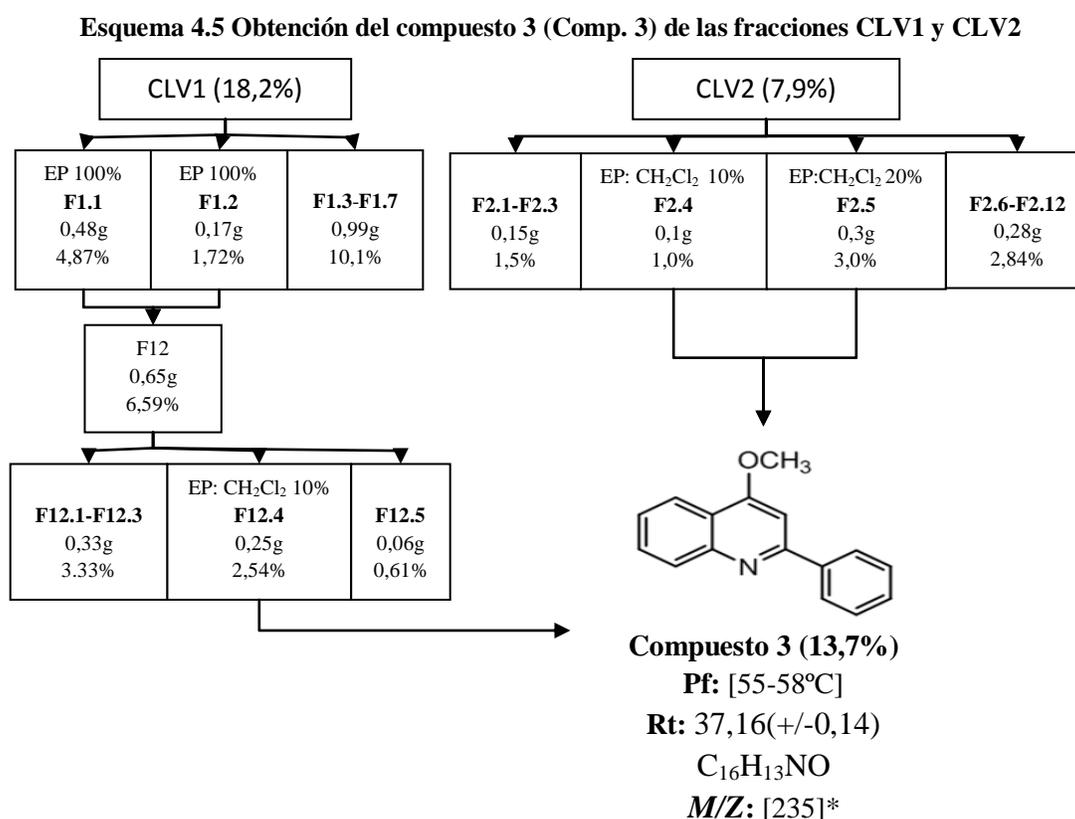
Tabla 4.5 Datos espectrométricos de C¹³ RMN para el Compuesto 2, reconocido como 2-n-pentil-quinolina

Carbono	δc Compuesto 2	δc Giménez 2005
C-1'	39,8	39,3
C-2'	29,6	29,7
C-3'	31,6	31,7
C-4'	22,57	22,5
C-5'	14,02	14,0
C-4	136,29	136,4
C-7	129,38	125,2
C-6	128,78	127,4
C-5	126,71	126,6
C-8	125,68	128,7
C-3	121,38	121,3
C-2	163,12	162,7
C-9	126,71	129,9
C-10	147,77	147,8

4.6 Obtención de 2-fenil-4-metoxi-quinolina (Comp. 3) de CLV1 y CLV2

El **Comp. 3**, ha sido obtenido de las fracciones **CLV1** y **CLV2** después de ser sometidas a una cromatografía líquida en columna abierta, el eluyente para la obtención de dicho compuesto está formado por una mezcla de éter de petróleo y dicloro-metano al 10% y al 20%. Todas las subfracciones fueron analizadas por CG de las cuales se seleccionaron de la fracción **CLV1** la subfracción **F12.4**, mientras de la fracción **CLV2** se han seleccionado a las fracciones **F2.4** y **F2.5** por mostrar alto grado de pureza del **Comp. 3**

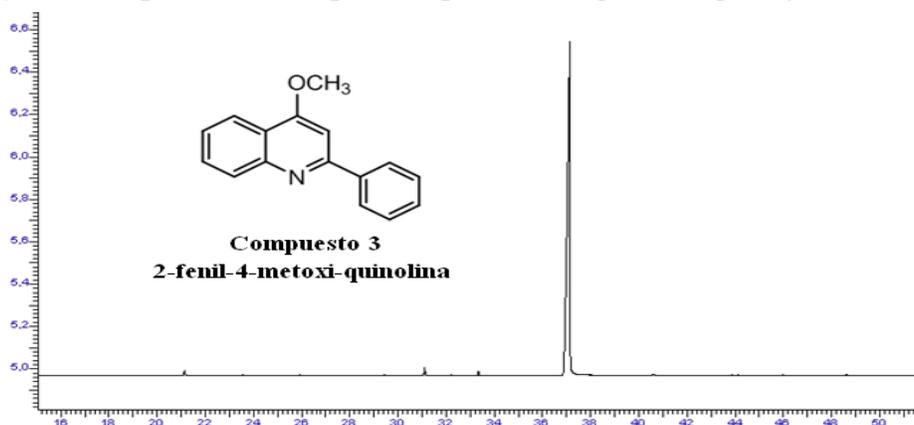
Esquema 4.5



El **Comp. 3**, muestra una consistencia sólida Pf: [55-58°C], de color amarillo pálido, el análisis por CG muestra un compuesto con Rt: 37,13(+/-0,14) y 98,4 % de pureza, estudios anteriores identifican al **Compuesto 3** como **2-fenil-4-metoxi-quinolina** con un ion molecular de 235 *m/z* correspondiente a la fórmula molecular C₁₆H₁₃NO **Figura 4.5**, después de un cálculo de los pesos obtenidos, se obtuvieron 0,65g del **Comp. 3** en forma pura, el restante 7,16 fue obtenido por un cálculo de las áreas relativas de las subfracciones

obtenidas por CG (Anexo 3), en total se obtuvieron 1,37g que representarían el 13,7% del CAT.

Figura 4.5: Espectro del Compuesto 3 por cromatografía de gases y datos físicos



Compuesto 3 (13,7%)	2-fenil-4-metoxi-quinolina
Apariencia	Sólido, amarillo pálido
Punto de fusión	55-58 °C
TLC Rf (CH₂Cl₂-MeOH 5%)	0,42
GC Rt (min)	37,16(+/-0,14)
IC₅₀ frente a cepas de Leishmania	
Lma (MOHM/BR/76/LTB-012)	22,4 ug/mL
M2904 C192 RJA	10,2 ug/mL

El espectro de ¹H RMN muestra la presencia de dos singletes (O-CH₃) característico de un metoxilo y (H-3), también la señal de un multiplete (H-6), tres triplete (H-4') (H-5'; H-3') (H-7) y tres dobletes (H-5), (H-8), (H-6'; H-2') **Tabla 4.6**

En su espectro de ¹³C RMN indicaron señales de un metoxilo a (O-CH₃) y 8 carbonos metínicos a (C-3), (C-8), (C-4'), (C-2', C-6'), (C-3', C-5'), (C-7,C-6), (C-5) y cinco carbonos cuaternarios a (C-9), (C-1'), (C-10), (C-2), (C-4) **Tabla 4.7**, el conjunto de datos reconocen a la molécula como 2-fenil-4-metoxi-quinolina (Anexo 5)

Tabla 4.6 Datos espectrometricos de H^1 RMN para el Compuesto 3, reconocido como 2-fenil-4-metoxi-quinolina

2-fenil-4-metoxi-quinolina

Protones	ΔH en ppm	Compuesto 3	ΔH en ppm	Giménez 2005 2-fenil-4-metoxi-quinolina
O-CH ₃	4,12	3H, s	3,94	3H,s
H-3	7,18	1H, s	7,07	1H, s
H-4'	7,47	1H, t, $J = 7,0$ Hz	7,48	1H, t, $J=7,0$ Hz
H-5'; H-3'	7,54	2H, t, $J = 6,7$ Hz	7,55	2H, t, $J=7,0$ Hz
H-7	7,72	1H, d, $J = 8,3$ Hz	7,76	1H, t, $J=7,9$ Hz
H-6	7,51	1H, m	7,51	1H, m
H-5	7,71	1H, d, $J = 8,4$ Hz	7,73	1H,brd, $J=8,1$ Hz
H-8	8,11	1H, d, $J = 7,3$ Hz	8,18	1H, brd, $J=7,9$ Hz
H-6'; H-2'	8,2	1H, d, $J = 7,4$ Hz	8,20	2H, d, $J=7,0$ Hz

Tabla 4.7 Datos espectrometricos de C^{13} RMN para el Compuesto 3, reconocido como 2-fenil-4-metoxi-quinolina

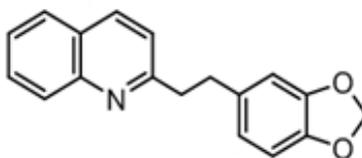
Carbono	δ_c Compuesto 3	δ_c Giménez 2005
C-1'	140,36	140,3
C-2'	127,59	127,6
C-3'	128,77	128,7
C-4'	121,64	125,4
C-5'	128,77	128,7
C-4	162,86	162,8
C-7	129,23	129,1
C-9	149,15	149,1
C-6	129,23	130,0
C-5	125,41	121,6
C-8	129,99	129,2
C-3	98,00	98,0
C-2	158,85	158,8
C-6'	127,59	127,6
C-10	120,39	120,3
O-CH ₃	53,43	55,6

4.7 Obtención de la 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina (Comp. 4) de CLV2

El **Comp. 4**, ha sido obtenido de la fracción **CLV2** después de ser sometida a una cromatografía líquida en columna abierta, el eluyente para la obtención de este compuesto ha sido formado por una mezcla de éter de petróleo y dicloro-metano al 30% y al 50%. De la fracción **CLV2** han seleccionado las fracciones **F2.8** y **F2.9** por mostrar alto grado de pureza en el análisis por CG para el **Comp. 4** Esquema 4.6

Esquema 4.6 Obtención del compuesto 4 (Comp. 4) de la fracción CLV2

CLV2			
	EP:CH ₂ Cl ₂ 30%	EP:CH ₂ Cl ₂ 50%	
F2.1-F2.7	F2.8	F2.9	F2.10-F2.12
0,57g	0,1g	0,1g	0,06g
5,78%	1,0%	1,0%	0,6%



Compuesto 4 (2,0%)

Rt: 40,79 (+/-0,26)

C₁₈H₁₅NO₂

M/Z: [277]*

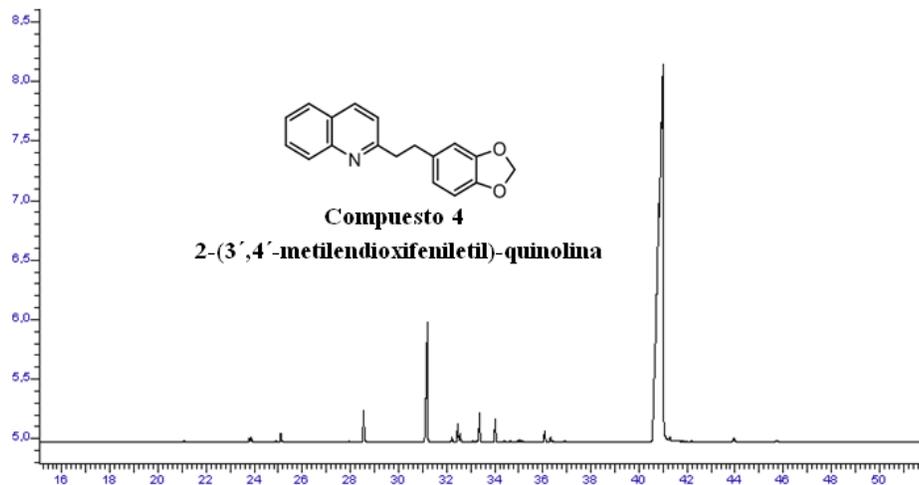
El **Comp. 4**, muestra una consistencia líquida aceitosa de color amarillo, el análisis por CG, muestra un compuesto con Rt: 41,79(+/-0.26) con 87% de pureza, estudios anteriores reconocen al **Compuesto 4** como **2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina (4)**, con un ion molecular a 277 *m/z*, correspondiente a una fórmula molecular C₁₈H₁₅NO₂ (Llanos, F 2007, Ticona 2005) **Figura 4.6**, este compuesto presenta muy baja abundancia, representando el 2% del CAT, se lograron obtener 0,2g de compuesto puro (Anexo 3).

En su espectro de ¹H RMN en la región alifática se observó un sistema AB de dos dobles dobles para (H-2'), (H-1'), un singlete a (OCH₂O) propio del metilendioxi, en la región aromática se observan a dos dobles dobles en (H-7) y (H-6), también a cuatro dobles dobles en (H-8), (H-4), (H-5), (H-3), correspondientes a los hidrógenos del anillo

aromático y más cercanos al origen tenemos a tres dobletes para (H2''), (H5''), (H6'')

Tabla 4.8

Figura 4.6: Espectro del Compuesto 4 por cromatografía de gases y datos físicos



Compuesto 4	2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina
Apariencia	Aceite , amarillo
TLC Rf (CH₂Cl₂-MeOH 5%)	0,42
GC Rt (min)	40,79(+/-0,26)
IC₅₀ frente a cepas de Leishmania	
<i>Lma</i> (MOHM/BR/76/LTB-012)	16,9 ug/mL
<i>M2904 C192 RJA</i>	8,7 ug/mL

En su espectro de ¹³C se observaron en la región alifática señales de dos carbonos metilenos para (C-1'), (C-2'), un carbono cetálico para (OCH₂O), en la región aromática se observaron nueve carbonos metínicos para (C-5''), (C-2''), (C-6''), (C-6), (C-3), (C-8), (C-7), (C-5), (C-4), como también a seis carbonos cuaternarios (C-3''), (C-10), (C-4''), (C-1'), (C-9), (C-10). **Tabla 4.9** (Anexo 6).

Tabla 4.8 Datos espectrometricos de H^1 RMN para el Compuesto 4, reconocido como 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina

2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina

Protones	ΔH en ppm Compuesto 4	Constantes de Acoplamiento	ΔH en ppm	Giménez 2005 2-(3',4'- metilendioxfeniletíl)- quinolina
H-2'	3,26	2H, dd, $J = 9,5, 6,0$ Hz	Sist AB 3,13	2H, $J=10,2$ y $8,9$ Hz
H-1'	3,09	1H, dd, $J = 9,7, 6,3$ Hz	Sist AB 2,97	2H, $J=10,2$ y $8,8$ Hz
H-7	7,73	1H, dd, $J = 7,1, 1,3$ Hz,	7,56	1H, dd, $J=7,1$ y $6,7$ Hz
OCH ₂ O	5,92	2H, s,	5,77	2H,s
H-6	7,52	1H, dd, $J = 8,0, 7,0$ Hz,	7,35	1H, dd, $J=8,0$ y $6,7$ Hz
H-8	8,10	1H, d, $J = 8,5$ Hz,	7,97	1H, brd, $J=7,1$ Hz
H-4	8,06	1H, d, $J = 8,4$ Hz,	7,93	1H, brd, $J=8,4$ Hz
H-5	7,80	1H, d, $J = 8,1$ Hz,	7,63	1H, brd, $J=8,0$ Hz
H-3	7,24	1H, d, $J = 8,4$ Hz,	7,08	1H, d, $J=8,4$ Hz
H-2''	6,77	1H, d, $J = 7,3$ Hz,	6,56	1H,dd, $J=8,0$ y $1,3$ Hz
H-5''	6,72	1H, d, $J = 6,2$ Hz,	6,80	1H,d, $J=8,0$ Hz
H-6''	6,67	1H, d, $J = 8,6$ Hz,	6,97	1H,d, $J=1,3$ Hz

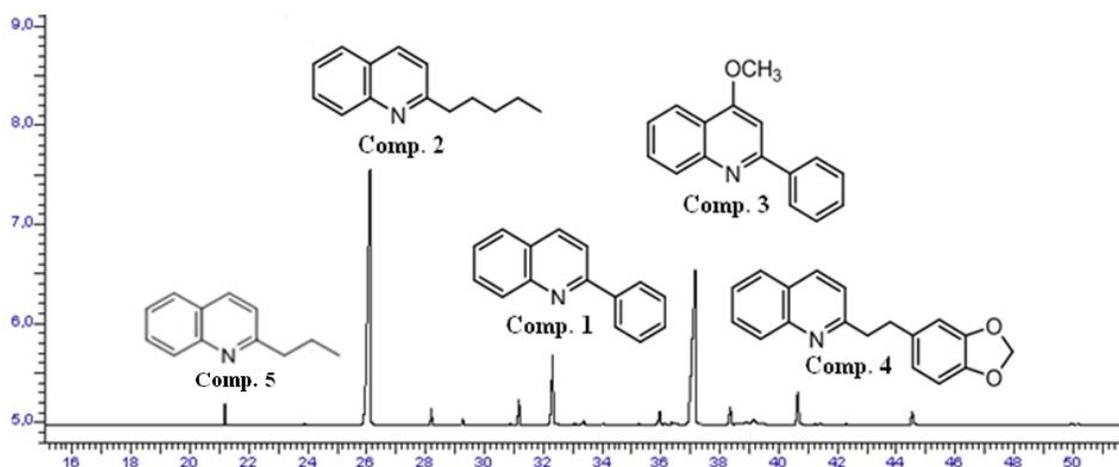
Tabla 4.9 Datos espectrometricos de C^{13} RMN para el Compuesto 4, reconocido como 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina

Carbono	δ_c Compuesto 4	δ_c Giménez 2005	Carbono	δ_c Compuesto 4	δ_c Giménez 2005
C-1'	41,20	41,3	C-8	128,94	129,4
C-2'	35,62	35,7	C-7	128,84	125,9
OCH ₂ O	100,76	100,8	C-5	127,21	126,9
C-5''	121,29	121,4	C-4	136,23	136,2
C-2''	108,99	109,1	C-3''	147,96	147,1
C-6''	108,17	108,2	C-10	147,56	147,0
C-6	125,39	127,5	C-4''	145,74	145,6
C-3	121,44	121,6	C-1''	135,34	135,4
C-9	126,80	128,8	C-2	167,56	162,5

4.8 Calculo de la abundancia relativa de los alcaloides del CAT en base a los pesos obtenidos tras la cromatografía en columna

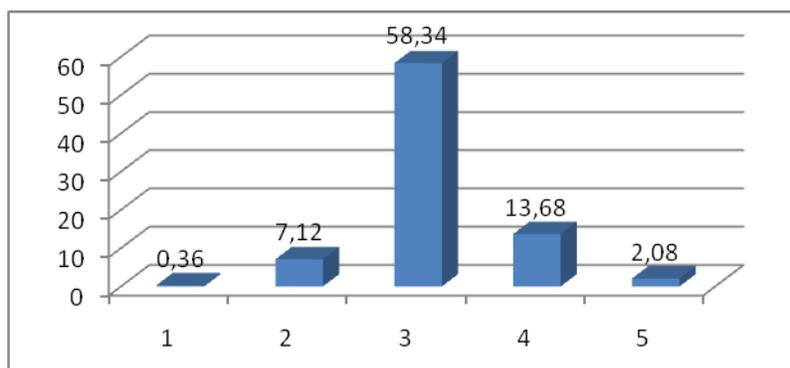
Luego de haber realizado las técnicas cromatográficas y los análisis por CG y RMN, hemos obtenido un panorama claro de los principales alcaloides presentes en el CAT de Evanta **Figura 4.7**; aun quedan compuestos que son de gran importancia dentro del CAT que están presentes en la mayoría de las fracciones y que son de difícil aislamiento. **Compuesto 5**, este compuesto ha sido reconocido como 2-propil-quinolina $M/Z= 172$ ($C_{12}H_{13}N$) (Giménez 2005, Ticona 2005), con un R_t : 21,2 (+/-0.12), este compuesto ha sido encontrado en varias fracciones pero en muy bajas concentraciones.

Figura 4.7 Cromatografía de gases de la fracción FQ2 obtenida del CAT de Evanta



La abundancia relativa calculada en base a los pesos obtenidos en todas las fracciones de la cromatografía en columna y CG muestra a la fracción FQ1 como la mayor fracción de las dos, encontrándose dentro de esta el **Comp. 1** como el alcaloide mayoritario (58.3%), mientras en la fracción FQ2 se logro aislar los compuestos mayoritarios, **Comp. 3** (13,7%), al **Comp. 2** (7,12%) y **Comp. 4** (2,08%) **Grafica 4.2**

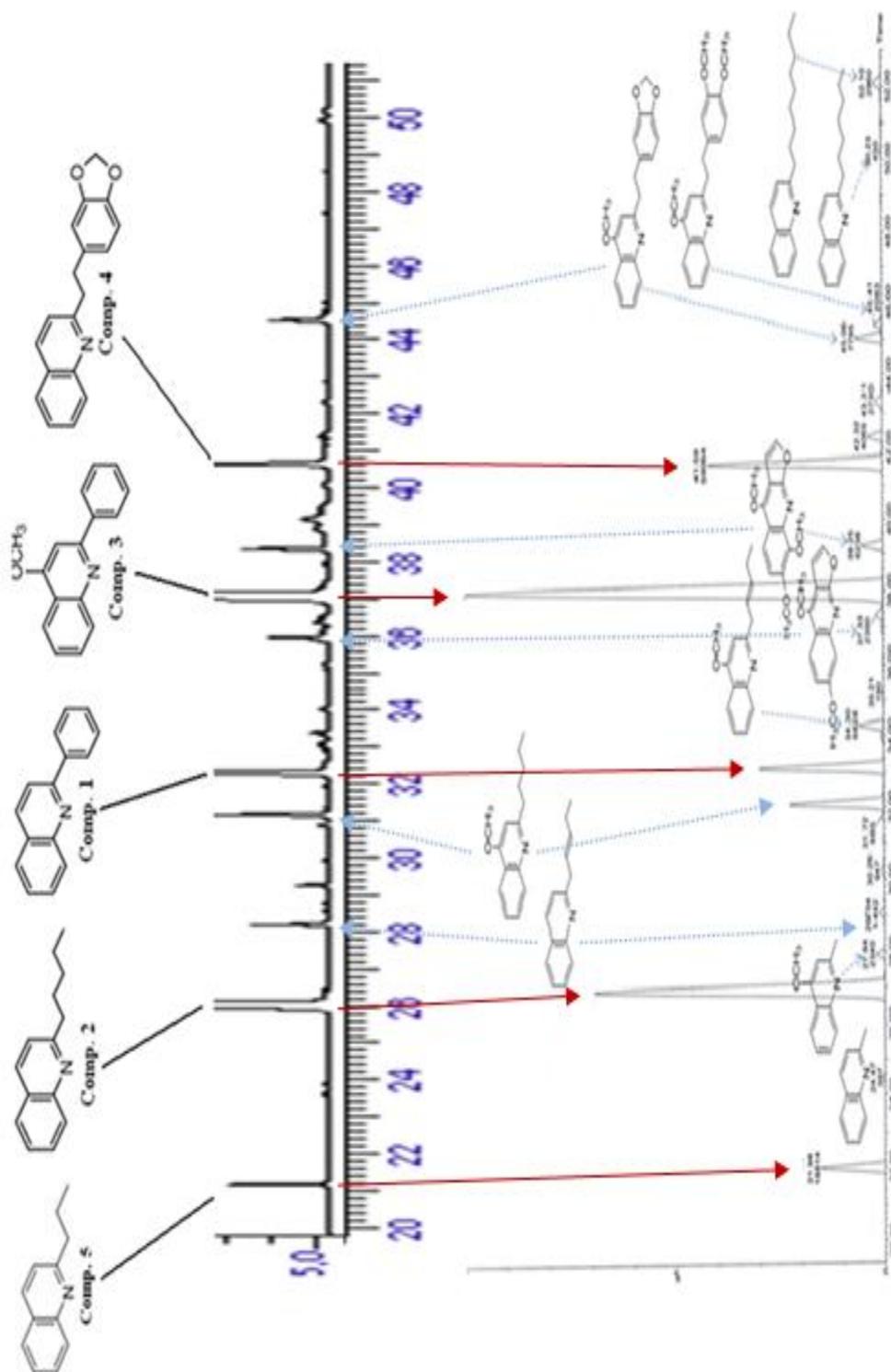
Grafica 4.2 Abundancia relativa de los alcaloides calculados en base a los pesos obtenidos por cromatografía en columna y CG



1. 2-n-propil-quinolina; **2.** 2-n-pentil-quinolina (**Comp. 2**); **3.** 2-fenil-quinolina (**Comp. 1**); **4.** 2-fenil-4-metoxi-quinolina (**Comp. 3**); **5.** 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina (**Comp. 4**)

Los estudios por CG-SM (Ticona 2005, Llanos 2007) proponen estructuras de los alcaloides minoritarios de la fracción aceitosa (FQ2), pero debido a sus concentraciones muy bajas son de difícil aislamiento, gracias a los tiempos de retención obtenidos podemos inferir algunos de los compuestos encontrados en nuestro estudio. **Figura 4.8**, en la grafica ampliamos la zona que representa a los alcaloides minoritarios de la fracción aceitosa (FQ2) y relacionando los picos encontrados en nuestro estudio y los calculados por CG-SM podemos inferir cuales picos corresponden a los alcaloides minoritarios.

Figura 4.8 Espectro por CG-SM de la fracción aceitosa (FQ2) obtenida del CAT



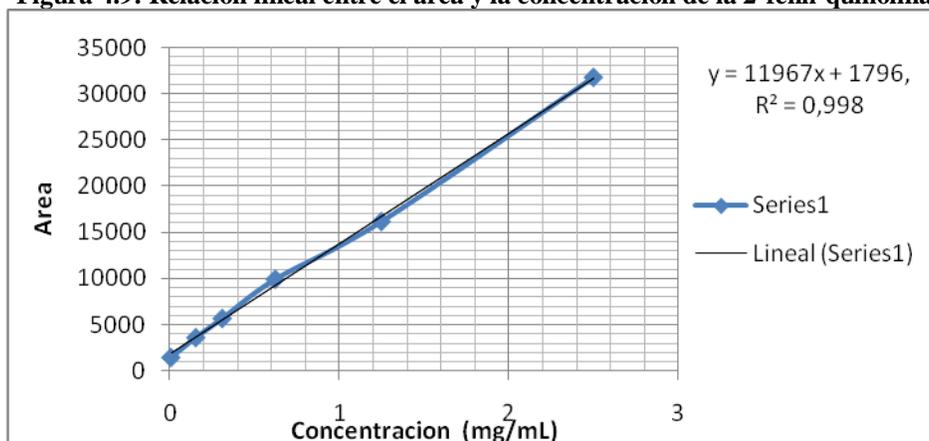
4.9 Validación de un método por cromatografía de gases (CG) para alcaloides de Evanta (*Galipea longiflora*)

Los resultados del cálculo de la *linealidad* se reflejan en la **Tabla 4.10** donde se obtuvo un coeficiente de correlación igual a 0,997 y un coeficiente de determinación de 0,998 los cuales indican una relación lineal entre el área y la concentración, puesto que a mayores concentraciones los coeficientes de correlación y de determinación se alejan de la unidad. Además, de acuerdo con los valores del intercepto y la variable X 1 se construye la recta que se aplicara para el cálculo de las concentraciones. **Figura 4.9** (Anexo 7)

Tabla 4.10: Regresión lineal del método por cromatografía de gases para la determinación de 2-fenil-quinolina

Estadísticas de la regresión	
coeficiente de correlación	0,997
Coefficiente de determinación r ²	0,998
Error típico	0,0415
Observaciones	6
Parámetros	Coefficientes
Intercepción	1796
Variable X1	11967

Figura 4.9: Relación lineal entre el área y la concentración de la 2-fenil-quinolina



Como se observa en la **Tabla 4.11** para la determinación de la exactitud se tomaron 3 niveles de concentración (2,5; 0,31; 0,16 mg/mL), por triplicado, se pueden ver valores en la desviación estándar inferiores al 1%, errores relativos inferiores al 2% para mayores concentraciones (2,5mg/mL), considerado óptimo (sede web, 1998) para métodos analíticos.

Tabla 4.11: Exactitud del método por cromatografía de gases para la determinación de 2-fenil-quinolina

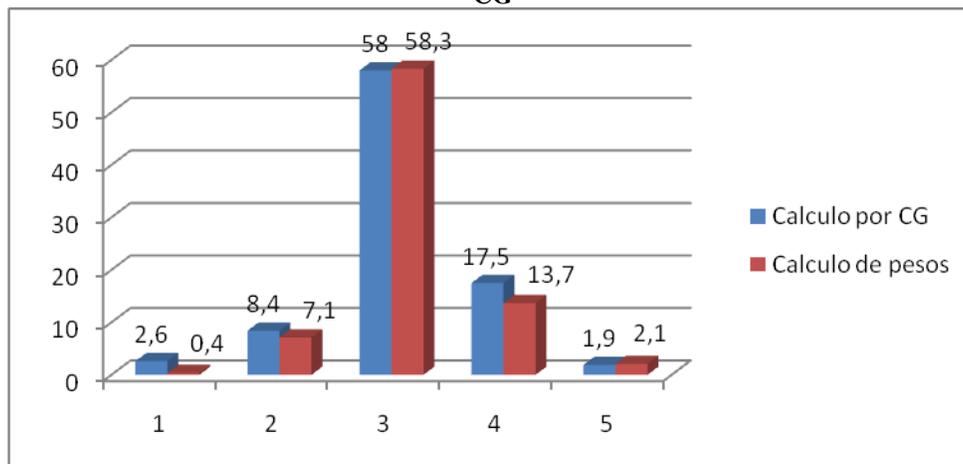
Concentración	mg/ml		
	2,5	0,31	0,16
Promedio +/- D.S.	2,51 +/- 0,08	0,33 +/- 0,024	0,16 +/- 0,008
E.R. (%)	-0,9	-5,2	0,0
Recuperación (%)	99,1	94,8	100
D.S. Desviación estándar	E.R. : Error relativo		

4.10 Comparación de la abundancia relativa obtenida por el cálculo de pesos y el obtenido por CG

Con los alcaloides aislados, purificados e identificados se ha logrado obtener un panorama claro de los tiempos de retención y el comportamiento de los alcaloides al ser analizados por CG bajo nuestras condiciones de laboratorio.

Con esta comparación podemos observar que no existen grandes diferencias entre las abundancias relativas obtenidas por CG y las obtenidas por el cálculo de pesos en los compuestos de mayor abundancia **Grafica 4.3**, la mayor diferencia se encuentra al comparar los pesos del Comp. 5 con el análisis de áreas por CG, se ha observado que este compuesto siempre va unido a otros en la cromatografía en columna y se lo ve en muy bajas cantidades en todas las fracciones obtenidas, este puede ser uno de los motivos por los que se tiene un bajo rendimiento en el cálculo de pesos.

Grafica 4.3 Comparación de la abundancia relativa obtenida por el cálculo de pesos y el obtenido por CG



1. 2-n-propil-quinolina (**Comp. 5**); **2.** 2-n-pentil-quinolina (**Comp. 2**); **3.** 2-fenil-quinolina (**Comp. 1**); **4.** 2-fenil-4-metoxi-quinolina (**Comp. 3**); **5.** 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina (**Comp. 4**)

Según algunos datos reportados por otros autores, se ha observado que la abundancia relativa de los alcaloides de *Galipea longiflora* varia mucho dependiendo la parte de la planta que es utilizada, observamos que existen compuestos que se encontrarían en mayor abundancia en hojas (Comp. 5) y otros en raíz (Comp. 2 y Comp. 4), un dato en común es que el Comp. 1 es siempre el mayoritario en todas las partes de la planta **Tabla 4.12**

Tabla 4.12: Abundancia relativa de los alcaloides presentes en el CAT de *Galipea longiflora*

	Compuesto	% CAT Calculo de pesos	% CAT Calculo por CG	Bibliografía	
				Hojas	Raíz
1	2-n-propil-quinolina (5)	0,4	2,6	12,5	
2	2-n-pentil-quinolina (2)	7,1	8,4		17,3
3	2-fenil-quinolina (1)	58,3	58	29	66,7
4	2-fenil-4-metoxi-quinolina (3)	13,7	17,5		3,3
5	2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina (4)	2,1	1,9		6,7

4.11 Uso del jarabe de CAT de *Galipea longiflora* al 2% como antiparasitario

Nuestro primer análisis fue determinar la prevalencia de parásitos en nuestra población (40 niños inscritos en la escuela Charcas II). La prevalencia de parasitosis intestinal fue del 97,5% (39/40) **Tabla 4.13**, solo se encontró a un niño que no mostro parásitos por coproparasitológico, el único tratamiento que reporto la madre, anterior al análisis, fue que la familia tomaba decocción de corteza de Evanta regularmente.

También se observo que un 90% (36/40) de la población reporto poli-parasitismo, dato que muestra relación con los estudios realizados por Luna S. Et al⁴⁶ que indican hasta un 81,9% de poli-parasitismo, de los cuales el 55% (22/40) mostraba una asociación de helmintos y protozoarios, muy superior a lo reportado por la PAHO el 2011⁵² que menciona un 34,9% de parasitismo por helmintos.

También se observo que un 42,5% (17/40) estaba parasitado solo por protozoarios, este primer estudio mostro, además, siendo estos el mayor problema dentro de esta población, la relación de protozoarios/Helmintos es de 3,9.

Tabla 4.13 Datos generales de prevalencia de parásitos en niños de la escuela Charcas II

	n=40	Porcentaje
Niños parasitados	39	97,5%
Niños poli-parasitados	36	90%
Niños parasitados por helmintos y protozoarios	22	55%
Niños parasitados solo por protozoarios	17	42,5%
Relación Helmintos/protozoarios	0,3	
Relación protozoarios/Helmintos	3,9	

En la distribución de parásitos intestinales se identificaron a 11 especies de parásitos intestinales **Tabla 4.14**, según la frecuencia de parásitos se encontró, una mayor prevalencia de protozoarios, siendo el *Blastocystis hominis* el parasito encontrado en un 95% de las muestras, dentro del grupo de los protozoarios varios estudios identifican a este como el parasito mas prevalente, datos reportados por Luna S. et al.⁴⁶ con 49,8%; Michelli E. et. All⁵¹ 48% y Carpio I. et all⁵⁶ con 46% de prevalencia, sin embargo, estos datos no son tan elevados como los encontrados en nuestro estudio. Al igual que *Endolimax nana* y

Iodoamoeba bustchili que muestran una alta prevalencia (55% y 30% respectivamente), existe aun mucha controversia sobre la patogenicidad de estos parásitos, muchos autores los consideran un patógeno en países en vías de desarrollo y relacionan la carga parasitaria con factores higiénicos y de infraestructura.⁵⁶

Estudios reportaron la prevalencia de *Entamoeba coli* hasta un 38,6%⁴², nuestro estudio reportó una prevalencia del 68% (27/40), dentro de las amebiasis, este parásito es considerado un comensal humano. Sin embargo, también puede considerarse un problema cuando está asociado a otros parásitos como *Giardia lamblia*, *Hymemolepis nana*.⁴³

Tabla 4.14: Prevalencia de parásitos intestinales en niños de la escuela Charcas II

	Parásitos	n=40	%
Helmintos	<i>Trichuris trichiura</i>	5	12,5
	<i>Ascaris lumbricoides</i>	3	7,5
	<i>Hymenolepis nana</i>	4	10
	<i>Uncinarias</i>	17	42,5
	<i>Strongyloides stercoralis</i>	4	10
Protozoarios	<i>Blastocystis hominis</i>	38	95
	<i>Giardia lamblia</i>	21	52,5
	<i>Endolimax nana</i>	22	55
	<i>Entamoeba coli</i>	27	67,5
	<i>Chilomastix mesnili</i>	9	22,5
	<i>Iodoamoeba bustchili</i>	12	30

El protozoario patógeno de mayor prevalencia encontrado es la *Giardia lamblia* que se encontró en un 52,5% (21/40) de las muestras, estudios informan hasta un 30% de prevalencia en países en vías de desarrollo⁴⁵, y hasta un 18,5% en un estudio en los alrededores del Río Beni (que sería el área más cercana al área del estudio).⁴⁶ Este dato muestra la alta prevalencia de este parásito en niños con relación a otros estudios.

Dentro de los helmintos, las uncinarias son los parásitos de más alta prevalencia 42,5% (17/40), estos datos son superiores a los reportados en zonas tropicales como Larecaja (7,2%).⁶² Sin embargo, estudios en el Río Beni reportan una prevalencia del 39,7%. Estos datos, aunque no sean tan elevados como los reportados en otros estudios, son causa de alarma sobre todo por el gran daño que causan, según un estudio en adultos con

estos parásitos, ellos tendrían unos valores hemáticos inferiores a las personas no parasitadas, en madres gestantes darían como resultado recién nacidos con pesos muy bajos, y en niños en plena etapa de desarrollo, limitan su crecimiento y perjudican su desempeño educativo.³⁵

4.12 Análisis de la eficacia tras la administración del jarabe de Evanta al 2%

Durante el estudio se realizaron 3 análisis, el primero determino la prevalencia de los enteroparásitos el mes de Marzo, el control de mayo nos ayudaría a determinar la eficacia del medicamento y el control a Noviembre determinaría si existe algún efecto protector. En estos controles se pudo evidenciar la eliminación de los parásitos y a la vez la infección por parásitos en niños que antes no los tenían, por esta razón es muy importante el análisis de los parásitos niño por niño y parásito por parásito.

4.12.1 Helmintos

4.12.1.1 *Ascaris lumbricoides*

En un inicio, hubo un solo caso de infección en el grupo Jarabe, que no logro la eliminación del parásito al terminar el tratamiento, en los controles siguientes se observo que nuevos niños tenían la parasitosis, pero al final del tratamiento se observo que de los 4 niños parasitados, 3 ya no presentaban al parásito (75% eliminación), estos datos mostrarían que la eliminación de este parásito podría llevar más tiempo de tratamiento, pero también se observo que no existe algún efecto protector del jarabe, dado que hay 3 casos de infección después de haberse iniciado el tratamiento. Mientras que para el grupo control, de los 2 niños infectados ambos eliminaron el parásito terminado el tratamiento (mes de mayo), pero también se evidencio que no existe efecto protector al ver la re-infección del niño al mes de noviembre **Tabla 4.15**.

Tabla 4.15 Niños parasitados con *Ascaris lumbricoides* en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov		
7-BI			1	Niños infectados	4
23-HHPR		1		Niños desinfectados	3
21-FPW		1		Porcentaje de éxito	75%
29-MCE	1	1			
Mebendazol				Niños infectados	2
26-MCGI	1		1	Niños desinfectados	1
43M-QCHM	1			Porcentaje de éxito	100%

4.12.1.2 *Hymenolepis nana*

Al final del tratamiento no se observó ningún efecto favorable del jarabe, los 2 niños infectados continuaban con la parasitosis y un nuevo caso se evidenció en el mes de noviembre, en cambio el tratamiento con Mebendazol logró la eliminación del parásito en 1 niño de los 2 infectados (50%), el tratamiento no tendría efecto protector en 1/3 casos

Tabla 4.16.

Tabla 4.16 Niños parasitados con *Hymenolepis nana* en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov		
7-BI			1	Niños infectados	3
41-QCHN	1	1	1	Niños desinfectados	0
29-MCE	1	1	1	Porcentaje de éxito	0%
Mebendazol					
26-MCGI			1	Niños infectados	3
38-PME	1			Niños desinfectados	2
43M-QCHM	1	1		Porcentaje de éxito	50%

4.12.1.3 *Strongyloides stercoralis*

Se observo que el tratamiento es efectivo en 2/3 casos hasta el primer control y que tendría un efecto protector en 1/3, el porcentaje de éxito seria del 66,6%, mientras el mebendazol no tuvo efecto en el único caso observado al mes de marzo, y tendría un efecto protector en 1/3 casos. **Tabla 4.17**

Tabla 4.17 Niños parasitados con *Strongyloides stercoralis* en los controles copro- parasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov		
9-CMK	1	1	1	Niños infectados	3
39-PVN	1		1	Niños desinfectados	1
47-VNN	1			Porcentaje de éxito	66,6%
Mebendazol					
14-CCHV		1	1	Niños infectados	3
26-MCGI	1	1		Niños desinfectados	1
43M-QCHM			1	Porcentaje de éxito	0%

4.12.1.4 *Trichiuris trichiura*

Se pudo observar que hubo una eliminación del parasito en 3/4 niños parasitados (75%), hubo un caso de re-infección en el mes de noviembre, este caso nos indicaría que el jarabe no tendría efectos protectores 1/4 casos. En el caso del mebendazol se elimino el parasito en el único caso observado, pero se observo la re-infección del niño al mes de noviembre **Tabla 4.18**

Tabla 4.18 Niños parasitados con *Trichiuris trichiura* en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov		
11-CHCHJB	1		1	Niños infectados	4
25-HQME	1			Niños desinfectados	3
23-HHPR	1	1		Porcentaje de éxito	75%
47-VNN	1				
Mebendazol					
26-MCGI		1		Niños infectados	2
12-CHAE	1		1	Niños desinfectados	1
				Porcentaje de éxito	100%

4.12.1.5 Uncinarias

Se pudo observar que hubo una eliminación del parásito en el 50% de los casos (7/14), y mostraría tener un efecto protector en 13/16 casos, posiblemente el jarabe le tomaría más tiempo eliminar al parásito, también se observó que al final del control del mes de noviembre, el jarabe habría tenido un efecto favorable en 13/16 casos lo que representaría el 81,2% de los casos. El mebendazol eliminaría al parásito en 2/3 casos en el mes de mayo y tendría un efecto protector solo en 1/3 casos, uno de los **Tabla 4.19**

Tabla 4.19 Niños parasitados con *Uncinarias* en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov		
3-AMFB	1	1	1	Niños infectados	16
7-BI	1			Niños desinfectados	12
9-CMK		1		Porcentaje de éxito	50%
35-OACD	1				
32M-MMM	1	1	1		
17-CFW		1			
11-CHCHJB	1				
25-HQME	1				
23-HHPR	1	1	1		
39-PVN	1	1			
21-FPW	1	1			
29-MCE	1	1			
47-VNN	1	1			
13-CHCHE	1				
5-AQR	1				
37-OARM	1				
Mebendazol					
14-CCHV	1	1	1	Niños infectados	5
26-MCGI		1		Niños desinfectados	2
38-PME	1		1	Porcentaje de éxito	66,6%
30-MAMA	1				
40-PVY			1		

En la **Tabla 4.20** se resume la acción del jarabe de Evanta frente al mebendazol y su acción frente a helmintos, se observa que el jarabe no tendría un efecto favorable frente a *Ascaris lumbricoides* e *Hymenolepis nana* al terminar el tratamiento solo se observo que 1/3 casos habrían eliminado al parasito, el Mebendazol actuaría de mejor manera en la eliminación de estos parásitos, pero no ofrece una protección en el tiempo. En el caso de *Strongyloides stercoralis*, el jarabe habría actuado mejor eliminando al parasito en 2/3 casos, mientras no hay efectos en el grupo de mebendazol. Frente a *Trichuris trichiura*, habrían efectos favorables en ambos casos, jarabe y mebendazol, pero el jarabe ofrecería un mejor efecto protector al mes de noviembre. En cuanto a *Uncinarias*, se observa un mejor efecto en el grupo de mebendazol al mes de Mayo eliminando al parasito en 2/3 de los casos, mientras que el jarabe eliminaría en la mitad de los casos, pero también se observa que la eliminación del parasito es mejor en más tiempo, al final del mes de Noviembre se observa que el jarabe elimino el parasito en 13/16 casos.

Tabla 4.20 Eficacia al mes de Mayo y efecto protector al mes de Noviembre, del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol

Parasito	Control Mayo		Control Noviembre	
	Jarabe	Mebendazol	Jarabe	Mebendazol
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Sin efecto	2/2 curados	1/3 protegidos	1/2 protegido
<i>Hymenolepis nana</i>	Sin efecto	1/2 curados	1/3 protegidos	1/2 protegido
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2/3 curados	Sin efecto	1/3 protegidos	1/3 protegido
<i>Trichuris trichiura</i>	3/4 curados	1/1 curado	3/4 protegidos	1/2 protegido
<i>Uncinarias</i>	7/14 curados	2/3 curados	13/16 protegidos	1/3 protegido

4.12.2 Protozoarios

4.12.2.1 *Chilomastix mesnili*

Se observo la eliminación del parasito en 4/8 casos que representaría el 50% de los casos, mientras se observa la eliminación del parasito al mes de Noviembre en 7/10 casos **Tabla 4.21.** En el grupo mebendazol no se observo la eliminación del parasito en el único caso registrado para este grupo y la eliminación del parasito al mes de Noviembre es en 1/4 casos que representan el 25% de casos, en 3 de estos casos la infección aparece después de iniciado el tratamiento.

Tabla 4.21 Niños parasitados con *Chilomastix mesnili* en los controles coproparasitológicos y eficacia del jarabe de Evanta al 2% respecto al Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov		
3-AMFB	1	1		Niños infectados	10
7-BI		1		Niños desinfectados	7
9-CMK	1			Porcentaje de éxito	50%
35-OACD	1	1			
32M-MMM	1	1	1		
41-QCHN	1		1		
11-CHCHJB	1	1			
25-HQME	1				
23-HHPR			1		
29-MCE	1				
Mebendazol					
14-CCHV		1		Niños infectados	4
24-HQV			1	Niños desinfectados	1
38-PME	1	1	1	Porcentaje de éxito	25%
22-HHJN			1		

4.12.2.2 *Endolimax nana*

En el grupo Jarabe se observo que hubo una eliminación del parasito solo en 1/11 de los casos, en 6 casos se observo al parasito después de iniciado el tratamiento, en el mes de Noviembre se observa que se elimino al parasito en 5/18 casos que representaría el 27,8% , también se observo una reducción de la carga parasitaria en 7 de los casos (Anexo 8) **Tabla 4.22 A.**

Tabla 4.22 A. Niños parasitados con *Endolimax nana* en los controles coproparasitológicos después de la administración del jarabe de Evanta al 2%

Jarabe	Mar	May	Nov		
9-CMK			1	Niños infectados	18
35-OACD	1	1	1	Niños desinfectados	5
6-BCU		1	1	Porcentaje de éxito	27,80%
32M-MMM		1	1		
17-CFW		1	1		
1-ACR	1	1	1		
41-QCHN	1	1	1		
11-CHCHJB		1			
25-HQME	1	1	1		
23-HHPR		1	1		
39-PVN	1	1	1		
21-FPW	1	1	1		
15-CCHP	1				
29-MCE	1	1	1		
47-VNN	1	1			
13-CHCHE	1	1	1		
5-AQR	1	1			
37-OARM		1			

En el grupo Mebendazol se observo en un inicio que la eliminación del parasito fue en 3/11 casos y en el control de Noviembre fue en 9/15 de los casos que representaría el 60% **Tabla 4.22 B**

Tabla 4.22 B. Niños parasitados con *Endolimax nana* en los controles coproparasitológicos después de la administración de Mebendazol

Mebendazol	Mar	May	Nov		
14-CCHV		1	1	Niños infectados	15
20-FY	1	1		Niños desinfectados	9
24-HQV	1	1	1	Porcentaje de éxito	60%
26-MCGI	1	1			
38-PME	1	1	1		
22-HHJN	1	1			
4-AQN		1			
28-MPO	1	1			
12-CHAE	1				
2-ACO	1	1			
42-QMS	1		1		
43M-QCHM	1	1	1		
30-MAMA		1			
44-QMB			1		
40-PVY	1				

4.12.2.3 *Entamoeba coli*

El jarabe de Evanta al 2% mostro una eliminación del parásito en 5/14 casos que representarían un 35,7% **Tabla 4.23 A**, también se observó una reducción de la carga parasitaria en 4 de los casos (Anexo 8), en el control de Noviembre se observa que se eliminó al parásito en 4/17 de los casos, lo que muestra muy poca protección en el tiempo. En el grupo Mebendazol hubo una eliminación del parásito en 3/13 de los casos, 5 de ellos mostraron una reducción de la carga parasitaria (Anexo 8), al control de Noviembre se vio una eliminación de parásitos en 5/17 de los casos que representaría el 29,4% **Tabla 4.23 B**.

Tabla 4.23 A. Niños parasitados con *Entamoeba coli* en los controles coproparasitológicos después de la administración del jarabe de Evanta al 2%

Jarabe	Mar	May	Nov		
3-AMFB			1	Niños infectados	17
7-BI	1		1	Niños desinfectados	4
35-OACD			1	Porcentaje de éxito	23,50%
46-VKJL	1		1		
32M-MMM	1	1	1		
17-CFW	1	1	1		
41-QCHN	1		1		
11-CHCHJB	1	1	1		
25-HQME	1	1	1		
23-HHPR	1	1	1		
21-FPW			1		
15-CCHP	1				
29-MCE	1	1	1		
47-VNN	1	1			
13-CHCHE	1				
5-AQR	1	1	1		
37-OARM	1	1			

Tabla 4.23 B. Niños parasitados con *Entamoeba coli* en los controles coproparasitológicos después de la administración de Mebendazol

Mebendazol	Mar	May	Nov		
14-CCHV	1			Niños infectados	17
20-FY			1	Niños desinfectados	6
24-HQV	1	1	1	Porcentaje de éxito	29,4%
26-MCGI	1	1	1		
38-PME	1	1	1		
36-OAJL	1				
22-HHJN	1	1	1		
4-AQN	1	1	1		
28-MPO	1	1	1		
12-CHAE	1	1			
2-ACO		1	1		
42-QMS	1				
10-CHQC	1	1			
43M-QCHM	1	1	1		
19M-FVSA		1	1		
30-MAMA	1	1			
44-QMB			1		

4.12.2.4 *Giardia lamblia*

Se observo una eliminación del parasito en 4/11 de los casos que representaría un 36,4%, hay una reducción de la carga parasitaria en 2 de los casos (Anexo 8), en 5 de los casos los parásitos aparecieron luego de empezado el tratamiento y un solo caso de re-infección, en el control de Noviembre se observo una eliminación de parásitos en 6/15 de los casos que representaría el 40% **Tabla 4.24 A.**

Tabla 4.24 A. Niños parasitados con *Giardia lamblia* en los controles coproparasitológicos después de la administración de jarabe de Evanta al 2%

Jarabe	Mar	May	Nov		
3-AMFB			1	Niños infectados	18
7-BI		1	1	Niños desinfectados	9
35-OACD		1	1	Porcentaje de éxito	36,4%
46-VKJL	1				
32M-MMM			1		
17-CFW	1	1			
1-ACR	1	1			
41-QCHN	1	1			
11-CHCHJB			1		
25-HQME	1		1		
23-HHPR	1	1			
39-PVN	1	1	1		
15-CCHP	1	1	1		
47-VNN	1				
5-AQR	1	1	1		
37-OARM	1				

En el grupo Mebendazol se observa una eliminación del parasito en 1/9 de los casos, en los siguientes controles se observan 5 nuevos casos de infección, en el mes de Noviembre hay una eliminación en 7/16 casos que representarían el 43,7% y 4 de los casos no resueltos presentan una reducción de la carga parasitaria **Tabla 4.24 B,**

Tabla 4.24 B. Niños parasitados con *Giardia lamblia* en los controles coproparasitológicos después de la administración de Mebendazol

Mebendazol					
24-HQV		1		Niños infectados	15
26-MCGI		1		Niños desinfectados	6
8-CHNY	1	1	1	Porcentaje de éxito	40%
38-PME	1				
36-OAJL	1	1	1		
22-HHJN	1	1	1		
4-AQN			1		
28-MPO	1	1	1		
2-ACO	1		1		
42-QMS	1	1			
10-CHQC	1	1			
43M-QCHM	1	1			
19M-FVSA		1	1		
30-MAMA			1		
40-PVY	1	1	1		

4.12.2.5 *Iodoamoeba butchilli*

Se observó la eliminación del parásito en 2/3 de los casos que representan el 66,6% de los casos, al mes de Noviembre se observan 3 nuevos casos de infección y 2 casos de re-infección con lo que no se observa ninguna protección en el tiempo **Tabla 4.25 A.**

Tabla 4.25 A. Niños parasitados con *Iodoamoeba butchilli* en los controles coproparasitológicos después de la administración del jarabe de Evanta al 2%

Jarabe	Mar	May	Nov		
32M-MMM	1	1	1	Niños infectados	6
25-HQME			1	Niños desinfectados	0
23-HHPR			1	Porcentaje de éxito	66,6 %
29-MCE	1		1		
5-AQR	1		1		
37-OARM			1		

En el grupo Mebendazol se observó la eliminación del parásito en 4/9 de los casos lo que representa el 44,4%, en los controles siguientes se observan a 2 nuevos casos de infección y 1 de re-infección, al control de Noviembre se observa una eliminación del parásito en 5/11 casos que representarían el 45,4%, y una reducción en la carga parasitaria en 5 de los casos (Anexo 8).

Tabla 4.25 B. Niños parasitados con *Iodoamoeba butchilli* en los controles coparásitológicos después de la administración de Mebendazol

Mebendazol					
14-CCHV	1			Niños infectados	11
24-HQV			1	Niños desinfectados	5
26-MCGI	1	1	1	Porcentaje de éxito	44,4%
38-PME	1				
36-OAJL		1			
22-HHJN	1	1			
4-AQN	1	1	1		
2-ACO	1		1		
10-CHQC	1	1	1		
43M-QCHM	1	1	1		
40-PVY	1				

4.12.2.6 *Blastocystis hominis*

Después del tratamiento con el jarabe de evanta al 2% no se vio la eliminación del parásito en ninguno de los casos, para el mes de Noviembre se observó la eliminación del parásito en 2/21 casos y una reducción de la carga parasitaria en 12 de los casos, hasta un 50% (Anexo 8) **Tabla 4.26 A.**

Tabla 4.26 A. Niños parasitados con *Blastocystis hominis* en los controles coproparasitológicos después de la administración del jarabe de Evanta al 2%

Jarabe	Mar	May	Nov		
3-AMFB	1	1	1	Niños infectados	21
7-BI	1	1	1	Niños desinfectados	2
9-CMK	1	1	1	Porcentaje de éxito	9,50%
35-OACD	1	1	1		
6-BCU	1	1	1		
46-VKJL	1	1	1		
32M-MMM	1	1	1		
17-CFW	1	1	1		
1-ACR	1	1	1		
41-QCHN	1	1	1		
11-CHCHJB	1	1	1		
25-HQME	1	1			
23-HHPR	1	1	1		
39-PVN	1	1	1		
21-FPW	1	1	1		
15-CCHP	1	1	1		
29-MCE	1	1	1		
47-VNN	1	1			
13-CHCHE	1	1	1		
5-AQR	1	1	1		
37-OARM	1	1	1		

En el grupo Mebendazol, se observó la eliminación del parásito solo en 1/18 casos, para el mes de Noviembre no se observó eliminación del parásito en ninguno de los casos, hubo una reducción de la carga parasitaria en 8 de los casos (Anexo 8) **Tabla 4.26 B.**

Tabla 4.26 B. Niños parasitados con *Blastocystis hominis* en los controles coproparasitológicos después de la administración de Mebendazol

Mebendazol	Mar	May	Nov		
14-CCHV	1	1		Niños infectados	19
20-FY	1	1	1	Niños desinfectados	0
24-HQV	1	1	1	Porcentaje de éxito	0%
26-MCGI	6	1	1		
8-CHNY	4	1	1		
38-PME	1	1	1		
36-OAJL			1		
22-HHJN	1	1	1		
4-AQN	1	1	1		
28-MPO	1	1	1		
12-CHAE	1	1	1		
2-ACO	1	1	1		
42-QMS	1		1		
10-CHQC	1	1	1		
43M-QCHM	1	1	1		
19M-FVSA	1		1		
30-MAMA	1	1	1		
44-QMB	1	1	1		
40-PVY	1	1	1		

Los datos observados muestran una baja efectividad frente a protozoarios **Tabla 4.27**, en ambos grupos, el problema con las parasitosis por protozoarios es su fácil transmisión, su alta prevalencia y la falta de servicios básicos.

Tabla 4.27 Eficacia al mes de Mayo y efecto protector al mes de Noviembre, del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol frente a protozoarios

Parasito	Control Mayo		Control Noviembre	
	Jarabe	Mebendazol	Jarabe	Mebendazol
<i>Chilomastix mesnili</i>	4/8 curados	Sin efecto	7/10 protegidos	1/4 protegido
<i>Endolimax nana</i>	1/11 curados	3/11 curados	5/18 protegidos	9/15 protegido
<i>Entamoeba coli</i>	5/14 curados	3/13 curados	4/17 protegidos	5/17 protegido
<i>Giardia lamblia</i>	4/11 curados	1/9 curado	7/16 protegidos	6/15 protegido
<i>Iodoamoeba bustchili</i>	2/3 curados	4/9 curados	Ninguna protección	5/11 protegido
<i>Blastocystis hominis</i>	Sin efecto	1/18 curados	2/21 protegidos	Ninguna Protección

- Se realizó el aislamiento y la caracterización de los principales alcaloides de *Galipea longiflora* por técnicas cromatográficas y de resonancia magnética nuclear (RMN).

Del concentrado de alcaloides totales de corteza (CAT) se aislaron y caracterizaron los 4 compuestos mayoritarios: 2-fenil-quinolina (5,7g; 57%), 2-n-pentil-quinolina (0,71g; 7,12%), 2-fenil-4-metoxi-quinolina (1,37g; 13,7%) y 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina (0,2g; 2%).

- Se desarrolló un método por cromatografía de gases (CG) para la cuantificación de alcaloides de corteza de *Galipea longiflora*.

Utilizando los compuestos puros se estandarizó un método analítico por cromatografía de gases (CG), con un intervalo de linealidad entre 2,5–0,075mg/mL, y que presenta relación con los datos obtenidos por gravimetría de las fracciones obtenidas en cromatografía en columna.

- Se elaboraron jarabes al 2% en base al CAT de *G. longiflora*, y se administraron en niños de la escuela Charcas II, ubicada en la región amazónica del norte de la provincia Sud Yungas del departamento de La Paz, Bolivia.

Se observó una alta prevalencia de helmintos y protozoarios en muestras fecales (97,5%), el poliparasitismo alcanza un 90% de prevalencia, la relación protozoarios/helmintos es de 3,9. El mayor protozoario encontrado fue *Blastocystis hominis* (95%); *Giardia lamblia* (52,5%) también se encontraron *Endolimax nana* (55%); *Entamoeba coli* (67,5%); *Chilomastix mesnili* (22,5%); *Iodoamoeba bustchili* (30%). Dentro de los helmintos el parásito de mayor prevalencia son las *uncinarias* (42,5%), *Trichuris trichiura* (12,5%), *Hymenolepis nana* (10%) y *Strongyloides stercoralis* (10%) y *Ascaris lumbricoides* (7,5%).

Después del tratamiento se observa una mejor acción frente a los helmintos, las *uncinarias* fueron eliminadas en 7/14 casos (50%), se eliminó a *Trichuris trichiura* y *Strongyloides stercoralis* en 3/4 casos (75%) en ambos casos.

Hymenolepis nana y *Ascaris lumbricoides* mostraron resistencia al tratamiento.

Se observo una alta protección hasta el mes de noviembre en el caso de las *uncinarias* en 13/16 casos (81,25%) y *Trichuris trichiura* en 3/4 casos (75%). En *Strongyloides stercoralis*, *Hymenolepis nana* y *Ascaris lumbricoides* mostraron protección en 1/3 casos (33,3%)

En protozoarios, el jarabe elimino a *Chilomastix mesnili* en 4/8 casos (50%); *Iodoamoeba bustchili* en 2/3 casos (66,6%); *Giardia lamblia* en 4/11 casos (36,3%) y *Entamoeba coli* en 5/14 casos (35,7%); *Blastocystis hominis* mostro resistencia al tratamiento y *Endolimax nana* funciono en 1/11casos.

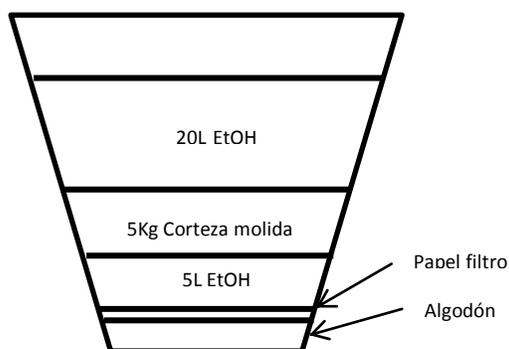
En el mes de Noviembre se elimino a *Chilomastix mesnili* en 7/10 casos (70%) y a *Giardia lamblia* en 6/15 casos (40%). En *Iodoamoeba bustchili*, *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli* y *Endolimax nana* la eliminación del parasito fue inferior al 25%

6.1 Material vegetal

La corteza de *Galipea longiflora* (Evanta) ha sido recolectada entre los meses de Agosto y Septiembre del 2009 por el Instituto de Investigaciones Farmaco Bioquímicas (IIFB) a cargo del Dr. Alberto Giménez Turba PhD en la comunidad de Vencedores (S15 21110 y W 87 20342) a una altura de 469 m.s.n.m. en la provincia Sud Yungas del departamento de La Paz, Bolivia. Su identificación taxonómica se realizo mediante comparación, con muestras Voucher (AS49 mayo de 1996 y SD17 septiembre de 1994) depositados en el herbario nacional de Bolivia, las partes recolectadas fueron secadas lejos de la luz del sol hasta obtener pesos constantes.

6.2 Obtención del concentrado de alcaloides totales (CAT)

La corteza molida de *Galipea longiflora* (5Kg) se macero en un percolador con alcohol etílico (25L) según esquema:



El extracto obtenido fue concentrado en un evaporador rotatorio (Figmay RV20) y llevado a sequedad, de esta forma se obtuvo el **Extracto crudo**.

El **Extracto crudo** se disolvió en ácido clorhídrico (HCL, 1L, 1N) y se lavo con di-cloro-metano (CH_2Cl_2 , 200mL x 3 veces).

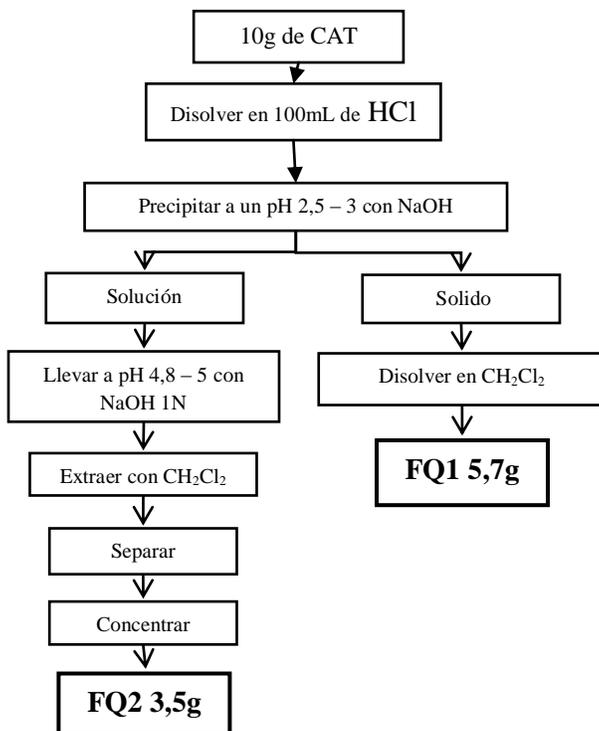
Se extrajeron los alcaloides del di-cloro-metano (CH_2Cl_2) con HCL (HCl, 500mL, 1N x 3 veces). Se unieron los lavados y se alcalinizaron hasta un pH de 2,5 – 3 (NaOH, 2N)

Se extrajeron los **Alcaloides Totales de Corteza** (CAT) con CH_2Cl_2 (500mL x 3 veces) en agitación por 15min, el CH_2Cl_2 fue secado con cloruro de sodio (ClNa), filtrado y concentrado en un evaporador rotatorio.

6.3 Obtención de las fracciones FQ1 y FQ2 a partir de CAT

El CAT (10g) se disolvió con HCl 0,01N se alcalinizó hasta un pH entre 2,5 y 3, el precipitado obtenido (FQ1) fue filtrado y lavado con una solución de HCl 0,01N hasta la obtención de unos cristales blancos (5,7g), la solución restante fue llevada a un pH de 4,8 – 5 y extraída con CH₂Cl₂, fue secado con NaCl y concentrado en un evaporador rotatorio hasta sequedad para obtener un aceite irritante (3,5g) (FQ2) **Esquema 5.1**

Esquema 5.1: Obtención de las fracciones FQ1 y FQ2 a partir de CAT



De la fracción FQ1 por re-cristalización en *n*-Hexano, se obtuvo el **Compuesto 1**, en forma de cristales blancos, con punto de fusión de 78,0 °C, el análisis por CG mostro la presencia de un compuesto con 99% de pureza y un tiempo de retención (Rt) igual a Rt: 32,3(+/-0,15) min. Con un ión molecular a 205 m/z correspondiente a una formula C₁₅H₁₁N. El conjunto de estos datos y los datos espectrometricos por RMN reconocen al **compuesto 1** como:

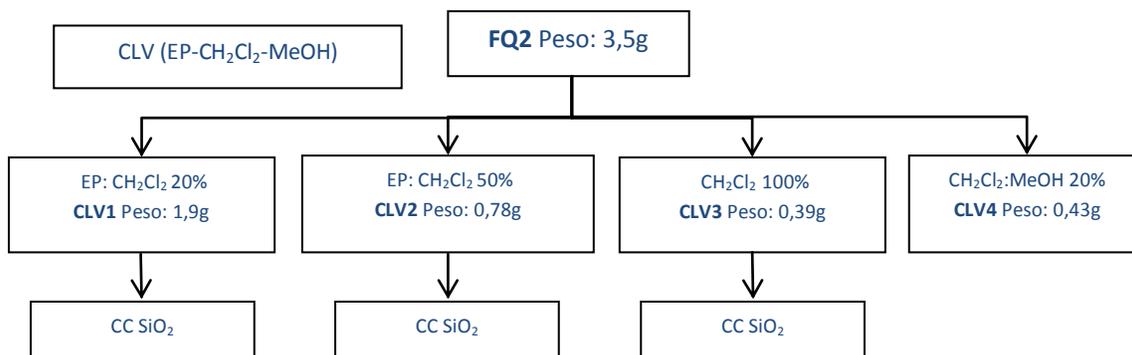
2-fenil-quinolina (Comp. 1): ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.48 (1H, t, J=5.7Hz, H-4'), 7.53 (2H, t, J=7.4Hz, H-3', H-5'), 7.75 (1H, t, J=8.4Hz H-7), 7.52 (1H, m, H-6), 7.84 (1H, d, J=8.0Hz H-5), 7.86 (1H, d, J=8.6Hz, H-3), 8.17 (2H, d, J= 6.8Hz, H-2', H-6'), 8.19 (1H, d, J=8.5Hz, H-8), 8.23 (1H, d, J=8.7Hz, H-4). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 118.7 (C-3),

12.1 (C-4'), 127.4 (C-5), 127.5 (C-6', C-2'), 128.7 (C-3', C-5'), 129.2 (C-6), 129.5 (C-7), 129.6 (C-8), 136.6 (C-4), 127.0 (C-9), 139.5 (C-1'), 148.1 (C-10), 157.0 (C-2).

6.4 Cromatografía líquida al vacío (CLV) de la fracción FQ2

La fracción FQ2 (3,5g) fue dividida en una columna (3cm d.i.; 10cm altura) con gel de sílice (0,063-0,020 mm) para separar los distintos compuestos de la fracción FQ2, se utilizó un volumen de elusión de 50 mL de diferentes mezclas: éter de petróleo: CH₂Cl₂ (20%, 50mL); éter de petróleo: CH₂Cl₂ (50%, 50mL); CH₂Cl₂ (100%, 50mL); CH₂Cl₂: metanol (20%, 50mL); obteniéndose así las fracciones: CLV1 (1,9g), CLV2 (0,78g), CLV3 (0,39g) y CLV4 (0,43g). **Esquema 5.2**

Esquema 5.2: Aislamiento de metabolitos bioactivos de la corteza de *Galipea longiflora* de la fracción FQ2



6.5 Cromatografía columna de las fracciones CLV1, CLV2 y CLV3

Para la obtención de compuestos purificados se utilizó una columna (1,5cm d.i.; 15cm altura) con gel de sílice (0,063-0,020 mm) utilizando diferentes mezclas: éter de petróleo: CH₂Cl₂ (10%, 25mL, 3 veces); éter de petróleo: CH₂Cl₂ (20%, 25mL, 3 veces); éter de petróleo: CH₂Cl₂ (30%, 25mL, 3 veces); éter de petróleo: CH₂Cl₂ (50%, 25mL, 3 veces); éter de petróleo: CH₂Cl₂ (75%, 25mL, 3 veces); CH₂Cl₂ (100%); CH₂Cl₂ : metanol (5%, 25mL, 3 veces).

De la fracción CLV1 se obtuvieron 7 fracciones (F1.1 – F1.7), las fracciones F1.1 y F1.2 representaron el 6,59% del CAT y fueron unidas formando la fracción F12, que fue sometida a cromatografía en columna, utilizando gel de sílice y como sistema de elución mezclas de éter de petróleo: CH₂Cl₂ en orden creciente de polaridad, se lograron obtener 5 fracciones (F12.1 – F12.5) **Esquema 5.3.**

De estas fracciones se ha aislado el **Comp. 2** (0,7g) que representa el 7,12% del CAT con un ion molecular a 199 m/z , correspondiente a una formula molecular $C_{14}H_{17}N$, y un Rt: 26,1(+/-0,30), Rf: 0,31. El conjunto de estos datos y los datos espectrometricos por RMN reconocen al **compuesto 2** como:

2-*n*-pentil-quinolina(Comp. 2): 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 2.89 (m, 2H, H-1'), 1.85 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.36 (m, 4H, H-3', H-4'), 0.94 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H, H-5'), 8.09 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-4, H-8), 7.80 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-5), 7.72 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, H-7), 7.49 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-6), 7.30 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H-3) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 163.12 (C-2), 147.77 (C-10), 136.29 (C-4), 129.38 (C-7), 128.78 (C-6), 127.48 (C-9), 126.71 (C-5), 125.68 (C-8), 121.38 (C-3), 39.8 (C-1'), 29.6 (C-2'), 31.6 (C-3'), 29.77 (C-2'), 22.57 (C-4'), 14.02 (C-5').

El **Comp. 3** (1.34g) que representa el 13,4% en relación al CAT, muestra una consistencia solida Pf: [55-58°C], de color amarillo pálido, Rt: 37,13(+/-0,14) y 98.4 % de pureza, Rf: 0,47 y un ion molecular de 235 m/z correspondiente a la formula molecular $C_{16}H_{13}NO$. El conjunto de estos datos y los datos espectrometricos por RMN reconocen al **compuesto 3** como:

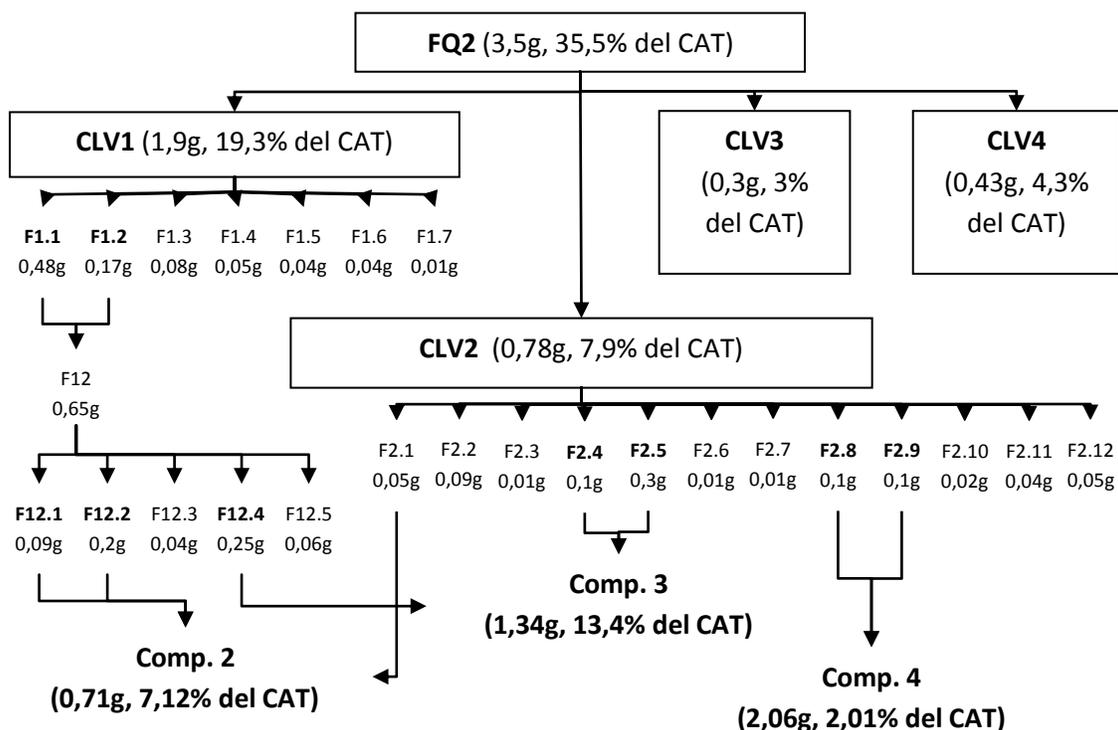
2-fenil-4-metoxi-quinolina (3): 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.22 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-8), 8.15 (dd, $J = 5.3, 3.0$ Hz, 3H, H-2', H-6'), 7.73 (ddd, $J = 8.4, 6.9, 1.4$ Hz, 1H, H-7, H-5), 7.52 (m, 4H, H-3', H-4', H-5', H-6), 7.20 (s, 1H, H-3), 4.13 (s, 3H, O- CH_3). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 162.86 (C-4), 158.85 (C-2), 149.15 (C-9), 140.36 (C-1'), 129.99 (C-8), 129.23 (C-7,C-6), 128.77 (C-3', C-5'), 127.59 (C-2', C-6'), 125.41 (C-5), 121.64 (C-4'), 120.39 (C-10), 98.00 (C-3), 53.43 (C-O- CH_3).

De la fracción CLV2 se aislaron **Comp. 3** descrito anteriormente y **Comp. 4** (0,2g) que representa el 2% en relación al CAT, muestra una consistencia liquida aceitosa de color amarillo, con Rt: 41,79(+/-0,26) y 87% de pureza, un ion molecular a 277 m/z , correspondiente a una formula molecular $C_{18}H_{15}NO_2$. El conjunto de estos datos y los datos espectrometricos por RMN reconocen al **compuesto 4** como:

2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina (4): 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.10 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-8), 8.06 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-4), 7.80 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-5), 7.73 (dd, $J = 7.1, 1.3$ Hz, 1H, H-7), 7.52 (dd, $J = 8.0, 7.0$ Hz, 1H, H-6), 7.24 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-3), 6.77 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-2'), 6.72 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H, H-5'), 6.67 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H,

H6'), 3.27 (dd, $J = 9.2, 6.8$ Hz, 2H, H-2'), 3.10 (dd, $J = 9.1, 6.7$ Hz, 2H, H-1'). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 161.67 (C-2), 147.96 (C-3'), 147.56 (C-10), 145.74 (C-4'), 136.23 (C-4), 135.34 (C-1'), 128.94 (C-8), 128.84 (C-7), 127.21 (C-5), 126.80 (C-9), 125.39 (C-6), 121.44 (C-3), 121.29 (C-5'), 108.99 (C-2'), 108.17 (C-6'), 100.76 (OCH₂O), 41.20 (C-1), 35.62 (C-2').

Esquema 5.3: Aislamiento de los compuestos mayoritarios de la corteza de *Galipea longiflora* (Evanta) de las fracciones CLV1 y CLV2



6.6 Cromatografía en placa fina de la fracción FQ2

Todas las fracciones fueron sometidas a cromatografía en capa fina utilizando placas cromatográficas con soporte de silicagel de 250 μm de espesor con base de aluminio, con indicador de fluorescencia para luz ultravioleta (254 y 366 nm) (Whatman, Germany). Utilizando como sistema de elusión mezclas de: CH_2Cl_2 : MeOH (5%), realizando la corrida cromatográfica junto a alcaloides purificados de *G. longiflora* para la comparación de R_f s.

6.7 Método de cromatografía de gases (CG) para cuantificación de alcaloides de Evanta (*Galipea longiflora*)

Los alcaloides obtenidos del extracto etanólico de Evanta fueron analizados en un Cromatografo de Gases CLARUS 500, sobre una columna capilar SUPELCO (0.32mm x 0.52um x 30m), bajo las siguientes condiciones:

Temperatura del Horno	Tiempo	ratio
50°C	5min	5°C/min
250°C	10min	Fin del programa

Inyector (250°C), gas carrier H₂ (modo flujo 0,5ml/min) y detector de ionización a flama (FID) (270°C).

6.7.1 Curva de calibración para 2-Fenil-Quinolina por CG

A partir de una solución madre de 2-Fenil-Quinolina (10mg) en CH₂Cl₂ (1mL), se valoraron por CG (por triplicado) bajo las condiciones mencionadas anteriormente, tomando como referencia el pico encontrado a un RT: 32,3 (+/-0,15) que corresponde a la 2-Fenil-Quinolina, para el cálculo de la *linealidad*, se eligieron las diluciones 3-8 **Tabla 5.1** con las áreas a distintas concentraciones se construyo una curva de calibración (área vs concentración).

Tabla 5.1: Diluciones de 2-fenil-quinolina en CH₂Cl₂ a partir de la solución madre

Nº de dilución	Concentración (mg/mL)	Área Promedio	DS
3	2,5	31457,50	0,079
4	1,25	16205,10	0,071
5	0,625	9966,20	0,008
6	0,313	5723,74	0,024
7	0,156	3662,46	0,008
8	0,078	1506,78	0,001

Sobre la misma se aplico el análisis de regresión de mínimos cuadrados en los promedios de los puntos y se construyo la ecuación de la recta (1) de acuerdo con las ecuaciones (2) y (3):

$$Y = a + bx \quad (1)$$

Donde y es la a es el área, a es el intercepto, b es la pendiente y x la concentración.

Para la determinación de la *pendiente* (b) se aplico:

$$b = \frac{N \sum xy - \sum x \sum y}{N \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad (2)$$

Donde N es el numero de datos observados, y el valor de las áreas obtenidas y x la concentración teórica.

En la determinación del *intercepto* (a) se aplicó:

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{N} \quad (3)$$

Para el coeficiente de correlación (r) se aplicó:

$$r = \frac{N \sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{[N \sum x^2 - (\sum x)^2] [N \sum y^2 - (\sum y)^2]}} \quad (4)$$

Y la determinación del coeficiente de determinación (r^2) se aplicó la ecuación (4):

$$r^2 = (r^2) \quad (5)$$

Para comprobar la linealidad del método analítico se realizó el cálculo del análisis de varianza de la regresión lineal.

En el cálculo de la *exactitud* se eligieron las concentraciones experimentales obtenidas de las diluciones 3-7 y se determinaron los errores relativos (ER) aplicando la siguiente ecuación:

$$ER (\%) = \frac{100 \times (\text{concentración promedio} - \text{concentración nominal})}{\text{Concentración nominal}} \quad (6)$$

Para el cálculo de la *repetibilidad* también se analizaron tres diluciones 3-7 y se calcularon los coeficientes de variación (C.V.) y las desviaciones estándar (D.S.), aplicando las siguientes ecuaciones:

$$D.S. = \sqrt{(x - \bar{x}^2)/N - 2} \quad (7)$$

Donde N es el numero de datos, x los valores de concentración obtenidos y \bar{x} la media de los mismos valores.

Para el cálculo del coeficiente de variación se aplica la siguiente fórmula:

$$C.V. = \frac{D.S.}{\bar{x}} \quad (8)$$

6.8 Elaboración del jarabe de Evanta al 2%

6.8.1 Preparación del jarabe simple

Se pesan 204g de sacarosa y se disuelven en 60mL de agua destilada esterilizada, luego aforado a un volumen final de 120 mL, mezclados sobre un agitador magnetico hasta obtener una solución homogénea, posteriormente con la finalidad de clarificar la solución, fue llevado a una filtración al vacio.

6.8.2 Preparación de la emulsión de alcaloides totales de *G. longiflora*

Todos los componentes de la formulación que se describe en la **Tabla 5.2** fueron pesado y medidos. Posteriormente en un baño maría (65°C) se van añadiendo la glicerina (240mL), propilparabeno (0,2g), metilparabeno (2g) y los alcaloides totales (20g), los cuales son mezclados hasta obtener una solución homogénea, manteniendo la temperatura entre 60°C-65°C. La solución fue llevada a temperatura ambiente y se adiciono aceite de maíz (420mL), polisorbato 20 (40mL), jarabe simple (240mL) y saborizante (60mL); toda la solución fue llevada a agitación por 1 hora hasta obtener una solución homogénea. Luego fueron trasvasados en envases opacos correspondientes e identificados. Todo el proceso de preparación es efectuado en condiciones de esterilidad.

Tabla 5.2 Componentes para la elaboración de la emulsion de *G. longiflora*

Componentes	Para 1000mL de emulsión
Glicerina	240mL
Aceite de maíz	420mL
Jarabe simple	240mL
Tween 20	40mL
Alcaloides totales de <i>G. longiflora</i>	20g
Saborizante	60mL
Propilparabeno	0,2g
Metilparabeno	2g
<i>Stevia rebaudiana</i>	0,02g

6.9 Estudio piloto de desparasitación de niños en edad escolar

6.9.1 Diseño

6.9.1.1 Estudio de campo controlado

Este estudio pretende demostrar la efectividad de la administración de jarabes al 2% de CAT sobre los parásitos intestinales, frente al tratamiento con un medicamento de efectividad reconocida como es el **Mebendazol**, administrado por vía oral a una dosis de 1200mg.

Variables independientes:

- Administración oral del jarabe al 2% de alcaloides totales de corteza de Evanta (*Galipea longiflora*) (5mL, 3 veces al día por 20 días)
- Administración oral de mebendazol (1200mg, 3 días,)

Las variables dependientes a ser medidas:

- Eliminación de parásitos intestinales, determinados por coproparasitología.
- Reacciones adversas a la administración oral del jarabe al 2% de alcaloides totales de la corteza de *Galipea longiflora* (presencia o ausencia de reacciones adversas).
- Eficacia del tratamiento (parásitos eliminados y parásitos persistentes), a los 5 días de terminado el tratamiento mediante la determinación de presencia/ausencia de parásitos en heces frescas.

6.9.2 Población

Se tomaron en cuenta para el estudio todos los niños inscritos en la gestión 2010 entre el ciclo inicial a 5to de primaria, de 5 a 12 años de edad, pertenecientes a la escuela de la comunidad Charcas II, un total de 40 muestras que representan el 100% de los niños. La comunidad, ubicada al norte del departamento de La Paz, en la provincia Sud Yungas, la escuela pertenece a la sectorial educativa de Inicua.

6.9.3 Diagnostico coproparasitológico.

6.9.3.1 Recolección de muestras fecales

A cada niño se le hizo entrega de un contenedor estéril de plástico de 50mL de capacidad etiquetado para indicar nombre, edad y curso escolar. Gracias a la estrecha colaboración del personal de apoyo, los contenedores fueron recogidos de forma inmediata y trasladados al laboratorio montado en ambientes de la posta de salud.

6.9.4 Procesamiento y análisis de las muestras fecales

6.9.4.1 Examen macroscópico de las muestras fecales

Se llevo a cabo un examen macroscópico de las muestras fecales, observando y registrando los caracteres organolépticos: consistencia, color, presencia de mucus, sangre, restos alimenticios e incluso la eventual presencia de helmintos (enteros o partes de ellos).

6.9.4.2 Examen directo

Una porción de muestra fecal (2 a 3 mm) fue colocada en una lámina portaobjetos, se diluyo con solución de yodo-yodurada de lugol (1 gota) por un extremo y por el otro con solución fisiológica (1gota), se cubre con una lámina cubreobjetos y se observa al microscopio óptico a 10x y 40x.

6.9.4.3 Método mixto o de centrifugación-flotación

Método de Ritchie

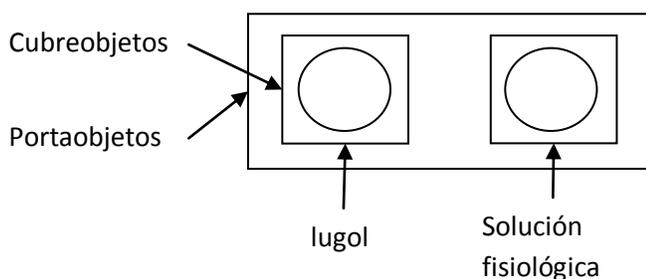
En un tubo de centrifuga, se coloco 1 a 2 g de heces y diluyo con 8mL de solución fisiológica, se centrifugo a 2500 r.p.m. durante 5 a 10 min. Se descarto el sobrenadante, luego se decanto el sobrenadante y se agrego al sedimento 6 mL de solución de Formol al 10%, se homogeneizó y se dejo reposar durante 5 min, tras lo cual se añadió de 2 a 3 mL de éter, se mezclo y centrifugo el tubo de 2500 a 3000 r.p.m. de 10 a 15 min.

Se deposito un poco del sedimento en una lámina portaobjetos con la ayuda de una pipeta Pasteur, se añadió lugol, se coloco un cubreobjetos y observo al microscopio a 10x y 40x.

6.9.4.4 Parámetros de análisis

Los parámetros de parasitismos fueron obtenidos en relación a la siguiente **Tabla 5.3**

Tabla 5.3: parámetros de diagnostico coproparasitológico



Asignación	Numero de parásitos
Muy escasos	1-2 por placa
Escasos	1 por campo
Ocasionales	1-3 por campo
Moderada cantidad	3-5 por campo
Frecuentes	6-10 por campo
Numerosos	11 – 15 por campo
Abundantes	>15 por campo

6.9.5 Análisis estadístico

Los parámetros estudiados estuvieron sujetos a análisis estadístico, donde se aplico el programa Microsoft Excel 2007.

1. Pan American Health Organization. *Final Report: Consultation Meeting on a Trust Fund for the Prevention, Control and Elimination of Neglected and Other Infectious Diseases in Latin America and the Caribbean* (Washington, D.C., 15-16 December 2008). PAHO/HSD/CD/542-09. 2009
2. Pan American Health Organization. *Epidemiological Profiles of Neglected Diseases and Other Infections Related to Poverty in Latin America and the Caribbean*, Washington, D.C. 2009; 1: 22
3. Christian P, Khattry SK, West KP., Jr *Antenatal anthelmintic treatment, birth weight, and infant survival in rural Nepal*. *Lancet*. 2000; 364:981–983
4. Estado plurinacional de Bolivia. Ministerio de salud y deportes. *Ibid: Línea de base de desnutrición cero*. Bolivia, 2007
5. Estado plurinacional de Bolivia. Ministerio de salud y deportes. *Agenda nacional de prioridades de investigación en salud*. La Paz, 2009
6. WHO/PAHO. English WHO. *Recomendaciones de la OMS para gobiernos y consumidores acerca del uso de los tratamientos tradicionales*. *Rev Panam Salud Pública*. 2004; 16(3): 218-21
7. Osorio E., Montoya G., *Revista de la facultad de química farmacéutica*. 2006; 13 (1): 61-84
8. Queiroz E., Araujo Faro R., *La Biodiversidad brasileña como fuente de nuevas drogas: Pasado, presente y futuro*. *Rev de fitoterapia*. 2009; 9 (1): 31-35
9. Calderon L., Silva I. *Amazonian biodiversity: a view of drug development for leishmaniasis and malaria*. *J Braz Chem. Soc*. 2009; 20 (6): 1011-1023
10. FONAMA, IRD, UMSA, CIPTA. Tacana. *Conozcan nuestros árboles, nuestras hierbas “Ecuánasha aquí, ecuánasha id’rene cuana, me schanapaque”*. CID. 1999; 1: 497
11. Gimenez A., Avila J., Ruiz G., Paz M., Udaeta E., Salamanca E., Paredes C., Chuqui R., Quenevo C., Dalence M., *Revista Boliviana de Química*. 2005; 22: 94-107
12. www.Missouribotanicalgarden.com. Página de internet [Fecha de acceso 2011]
13. Gómez J. *A New Species of Galipea (Rutaceae-Cuspariinae) from Costa Rica and Nicaragua*. *Novon*. 1994; 4(4):347-349
14. Mester I., *Fitoterapia*. 1973; 44: 123-152
15. Pirani J, Kallunki J. *two new species of Galipea (Rutaceae, Galipeae) from Bolivia, Ecuador and Perú*. *Brittonia*. 2007; 59 (4): 343-349
16. Levietava J. *Medicinal plants in a middle Paleolithic grave shanidar IV*. *J Ethnopharmacology*. 1992; 35:263-266
17. Fournet A., Angelo A., Muñoz V., *Leishmanicidal and trypanocidal activities of medicinal bolivian plants*. *Journal of ethnopharmacology*. 1994; 41:19-37

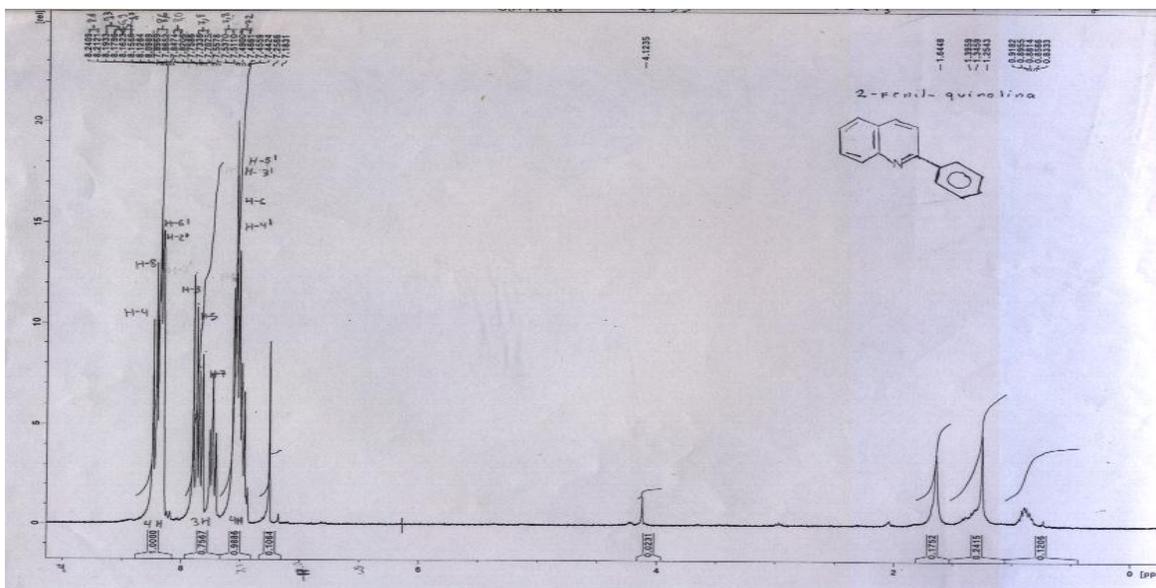
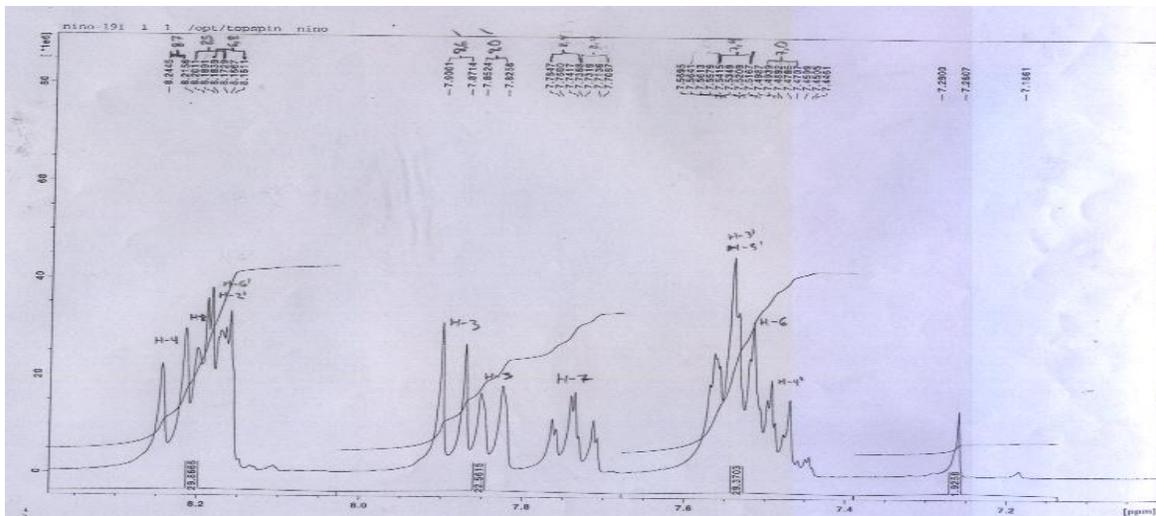
18. Gantier JC., Fournet A., Muñoz MH., The effect of some 2-substituted quinolines isolated from *Galipea longiflora* on *plasmodium vinckei petteri*, infected mice. *Planta medica*. 1996; 62(3):285-286
19. Gimenez A., Ávila JA., Ruiz G., Paz M., Udaeta E., Estudios químicos, biológicos y farmacológicos de *Galipea longiflora* Krause. *Revista boliviana de química*. 2005; 22 (1):94-107
20. Salamanca E., Actividad antiparasitaria múltiple de alcaloides totales de corteza de *Galipea longiflora* Krause kallunki (Evanta). Tesis de post-grado. La Paz-Bolivia. 2008
21. Calla J., Troye M., Fernandez C., El extracto de alcaloides de *Galipea longiflora* (Evanta) afecta la proliferación celular y la producción de citoquinas pro-inflamatorias: Factor de necrosis tumoral e interferon-gamma *in vitro*. *Biofarbo*. 2006; 14: 56-66
22. Estado plurinacional de Bolivia. Ministerio de salud y deportes. Normas para medicamentos naturales, tradicionales y homeopáticos. 2001
23. Ticona JC., Estudio químico de dos plantas bolivianas de la etnia tacana: *Galipea longiflora* y *bowdichia virgiloides*. Tesis de post-grado. La Paz-Bolivia. 2008
24. Herrera V. Toxicidad del extracto de alcaloides totales de *Galipea longiflora* Krause kallunki (Evanta) en fase pre-clinica. Tesis de post-grado. La Paz-Bolivia. 2008
25. Fournet A., Vagneur B., Richomme P. Aryl-2 et alkyl-2 quinoleines nouvelles isolées d'une Rutaceae bolivienne : *Galipea longiflora*. *Can. J. Chem.* 1989; 67 : 2116-2118
26. Fournet A., Hocquemiller R., Les chimanines, Nouvelles Quinoleines Substituées en 2, Isolées d'Une plante Bolivienne Antiparasitaire: *Galipea longiflora*. *Journal of Natural Products*. 1993; 56(9): 1547-1552
27. Michael J. Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids. *Natural Product Reports*. 2007; 24: 223-246
28. Osorio E., Montoya G., Arango G. Productos naturales alcaloidales con actividad antiprotozoaria. *Vitae. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 2006; 13(1): 61-84
29. Kreh M, Matusch R., Witte L. Capillary gas chromatography of Amaryllidaceae alkaloids. *Phytochemistry*. 1995; 38: 773 – 776
30. Jacquemond I. Identification of the Alkaloids of *Galipea officinalis* by Gas Chromatography–Mass. *SpectrometryPhytochem. Anal.* 2001; 12: 312–319
31. Duffield AM., Aplin RT., Budzikiewicz H., Djerassi C., Murphy CF., Wildman WC. Mass spectrometry and stereochemical problems, a study of the fragmentation of some Amaryllidaceae alkaloids. *J Am Chem Soc*. 1965; 87: 4902–4917
32. Wink M., Witte L., Hartmann T., Theuring T., Volz V. Accumulation of quinolizidine alkaloids in plants and cell suspension cultures: Genera *Lupinus*, *Cytisus*, *Baptista*, *Genista*, *Laburnum* and *Sophora*. *Planta Med.* 1986; 48: 253– 257

33. Carabin H., Chan MS., *et al.* A Population Dynamic Approach to Evaluating the Impact of School Attendance on the Unit Cost and Effectiveness of School-Based Schistosomiasis Chemotherapy Programmes. *Parasitology*, 2000; 121: 171-183
34. Miguel E., Kremer M. Worms: identifying impacts on education and health in the presence of treatment externalities. *Econometrica*. 2004; 72(1):159–217
35. Stephenson LS., Latham M.C., Adams EJ. Physical Fitness, Growth and Appetite of Kenyan School Boys with Hookworm, *Trichuris trichiura* and *Ascaris lumbricoides* Infections are Improved Four Months after a Single Dose of Albendazole. *Journal of Nutrition*. 2003; 123:1036-46
36. Carabin H., Chan MS., Guyatt HL. A Population Dynamic Approach to Evaluating the Impact of School Attendance on the Unit Cost and Effectiveness of School-Based Schistosomiasis Chemotherapy Programmes. *Parasitology*. August 2000; 121 (2): 171-83
37. Keiser J., Utzinger J. The Drugs We Have and the Drugs We Need Against Major Helminth Infections. *Advances in Parasitology*. 2010; 73:197-230
38. Plan nacional de desarrollo, ministerio de planificación para el desarrollo, Gobierno de Bolivia. 2006
39. Estado plurinacional de Bolivia. Ministerio de Salud y deportes. Plan sectorial de desarrollo 2010-2020 “Hacia la salud universal”. Bolivia. 2009
40. Poppe E. Microbiología y parasitología de las vías biliares. *Archivos Bolivianos de Medicina*. 1991; 44 (1): 28-30
41. Centers for disease & prevention. Center for global health. Página de internet. www.dpd.cdc.gov/dpdx [Fecha de acceso, Enero 2012]
42. Bravo R., Serología de amebiasis en pacientes con disentería. (Tesis). La Paz: Hospital del niño. 1994
43. Martinez C. Prevalencia de parasitosis intestinales en escolares, ambulatorio San miguel II Enero-Febrero 2008. Tesis de licenciatura. Julio 2008
44. Tamayo L. parasitosis intestinal infantil. *Rev.Soc. Bol. Ped.* 2003; 32(1): 36-40
45. Herrera I. Giardiasis y desnutrición. *Rev. Soc. Bol Ped.* 2005; 44(3): 166-173
46. Luna S., Jimenez S., Lopez R., Et al. Prevalencia de parasitismo intestinal en niños y mujeres de comunidades indígenas del Río Beni. *Visión científica*. 2007; 2 (1): 37-46
47. Condori S., Frecuencia de *Giardia lamblia* en niños de 0-15 años de edad que acuden al hospital La Paz durante los mese de Junio-Agosto 2007. Tesina de licenciatura. La Paz. 2008
48. Herrera I. Giardiasis y desnutrición. *Rev. Bol. ped.* 2005; 44 (3)
49. Aparicio M., Tajada P. Parasitosis intestinales. *Pediatr integral*. 2007; 11 (2): 149-160

50. Muñoz V., Lizarazu P., Limache G., Blastocistosis y otras parasitosis intestinales en adultos mayores del hogar San Ramon, ciudad de La Paz, Bolivia. *Biofarbo*. 2008; 16:9-12
51. Michelli E., Leon M. De Donato M. Efecto antiparasitario del pamoato de piraxel/oxantel y metronidazol y su relación con parámetros hematológicos, en escolares de la escuela Ascanio Jose Velasquez de Cumana, Estado de Sucre. *Salus Online*. 2006; 11 (1): 23-35
52. Pan American health organization. IDB. Un llamado a la acción: hacer frente a los helmintos transmitidos por el contacto con el suelo en Latino America y el Caribe. 2011
53. Cordero A. Enteroparasitosis infantil en Rio abajo, La Paz – Bolivia. Tesis de licenciatura, 2005
54. Melgar B., Cuellar C., De Muynck A., Estado de salud de niños escolares del barrio Santa Rosita, Santa Cruz-Bolivia, *Bol. Inf. CENETROP*, 7:37-40
55. Koller J., Yañez E., Iporre S. Parasitosis de la vía biliar: Diagnostico y tratamiento. *Acta Gastroenterología Boliviana*. 1994; 25-7
56. Carpio I., Reyes J., Trelles M., et al. Presencia de *Strongiloides stercoralis* en un estudio sobre enteroparasitosis en escolares del asentamiento humano “La Candelaria”, distrito de Chancay, provincia de Huaral, departamento de Lima. *Acta Med Per*. 2007; 24(3): 177-180
57. Mollinedo S., Prieto C. El enteroparasitismo en Bolivia. Ministerio de Salud y deportes. 2006
58. Suarez A. Strongyloides stercoralis: Hallazgos histopatoloicos en mucosa duodenal 1999-2005. *Rev Gastroenterol. Per*. 2006; 26: 44-48
59. Pinal I., Molina I., Sulleiro E., Segura A. Infeccion por Strongiloides stercoralis con eosinofilia masiva y hepatitis colestasica. *Rev Clin Esp*. 2011; 39: 695-700
60. Rosado M., Centurion J. manifestaciones clínicas y laboratoriales de la uncinariasis. *Rev. Soc. Bol. Ped*. 1994; 33 (2):60-62
61. Tamayo L., Yaniquez R., Padilla L. Anemia severa causada por *Necator americanus*. *Rev. Cuadernos*. 2008; 53 (1): 52-55
62. Calderon N. Frecuencia de helmintos en vendedores de alimentos de la población del municipio de Guanay de la provincia de Larecaja tropical, La Paz – Bolivia, durante el primer semestre de la gestión 2007. Tesis de licenciatura. 2007

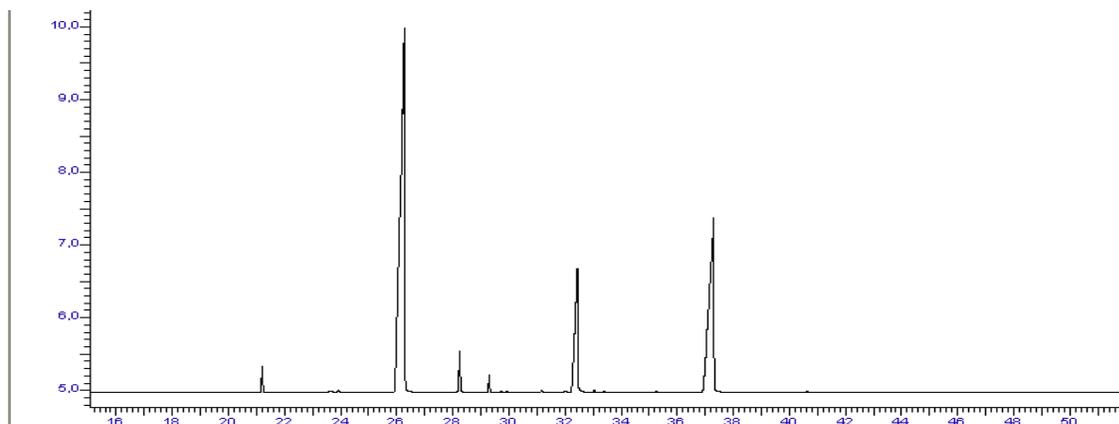
ANEXOS

Anexo 1: Espectros de H^1 y C^{13} de Comp. 1 reconocida como la 2-fenil-quinolina por RMN

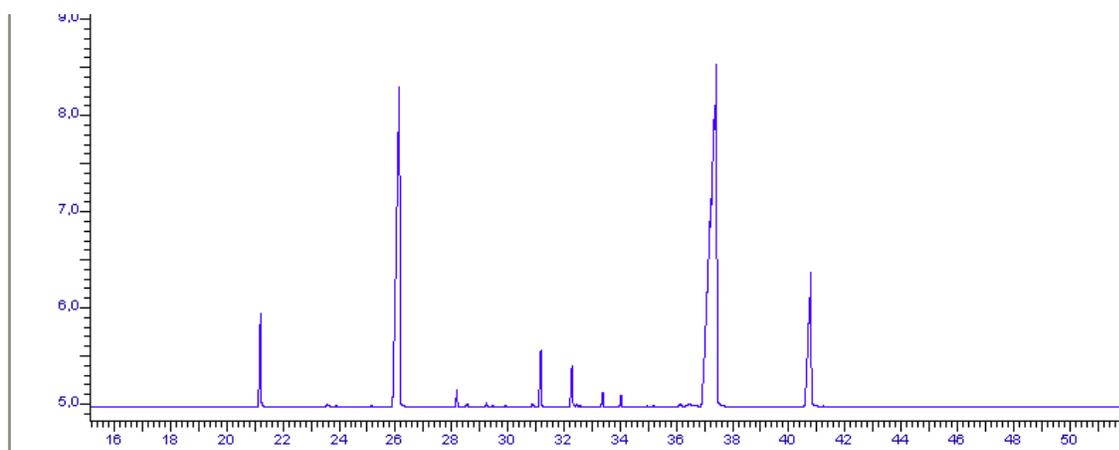


Anexo 2: CG de las fracciones obtenidas tras la CLV de la fracción FQ2

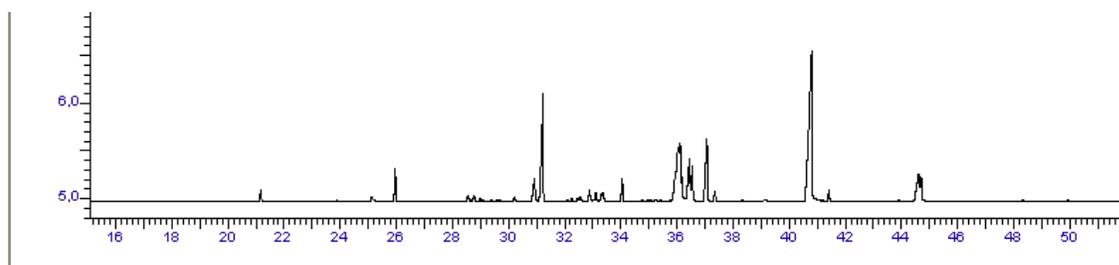
CLV 1



CLV 2



CLV 3



Anexo 3: pesos de las fracciones y abundancia relativa

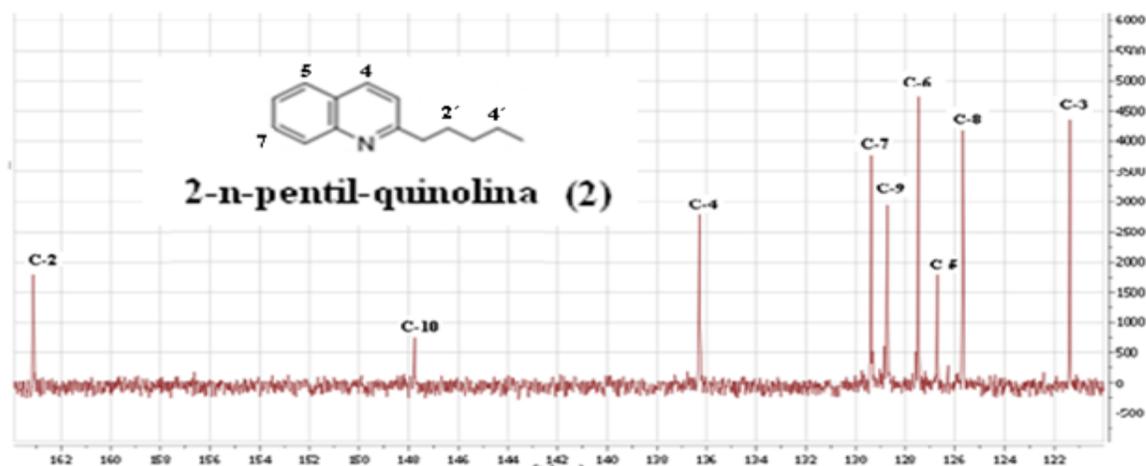
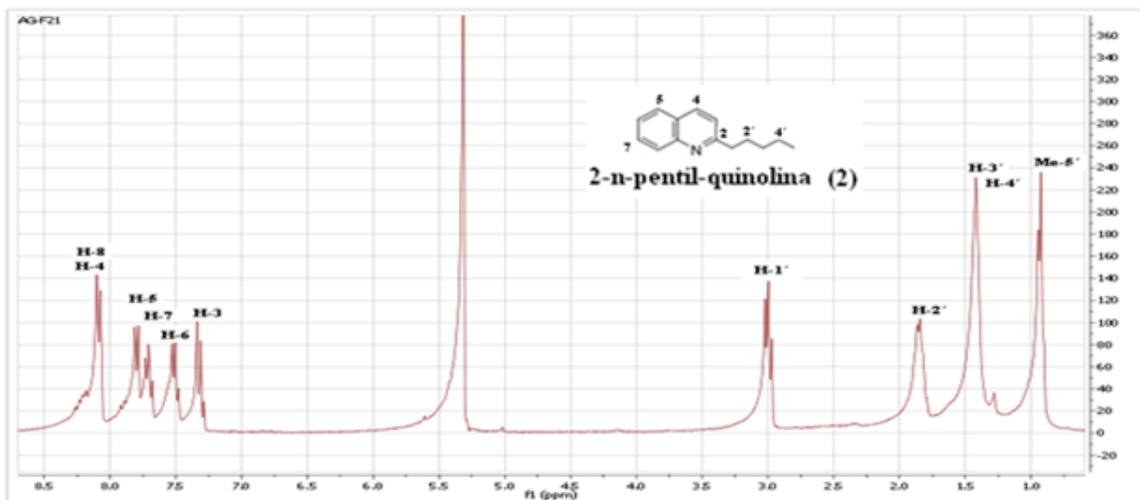
Fraccion	Compuesto	Peso seco	Abundancia relativa	Peso relativo
12,1	Comp. 2	0,09	71,5	0,0644
	Comp. 1	0,09	26	0,0234
12,2	Comp. 2	0,2	75,9	0,1518
	Comp. 1	0,2	19,1	0,0382
	Comp. 3	0,2	0,9	0,0018
12,3	Comp. 5	0,04	2,9	0,0012
	Comp. 2	0,04	57,9	0,0232
	Comp. 3	0,04	38,2	0,0153
12,4	Comp. 5	0,25	2	0,0050
	Comp. 2	0,25	1,4	0,0035
	Comp. 3	0,25	96,4	0,2410
12,5	Comp. 5	0,06	4,47	0,0027
	Comp. 2	0,06	1,6	0,0010
	Comp. 1	0,06	6,5	0,0039
	Comp. 3	0,06	79,8	0,0479
1,3	Comp. 5	0,08	1,92	0,001536
	Comp. 2	0,08	34,5	0,0276
	Comp. 3	0,08	60,1	0,04808
1,4	Comp. 5	0,05	2,84	0,00142
	Comp. 2	0,05	23,5	0,01175
	Comp. 3	0,05	73,1	0,03655
1,5	Comp. 5	0,1	2,43	0,00243
	Comp. 2	0,1	14	0,014
	Comp. 3	0,1	83,3	0,0833
1,6	Comp. 5	0,1	3,68	0,00368
	Comp. 2	0,1	9,9	0,0099
	Comp. 3	0,1	86,2	0,0862
1,7	Comp. 5	0,01	2,7	0,00027
	Comp. 2	0,01	4,8	0,00048
	Comp. 3	0,01	82,5	0,00825

Fraccion	Compuesto	Peso seco	Abundancia relativa	Peso relativo
2,1	Comp. 2	0,05	90,7	0,04535
	Comp. 1	0,05	6,6	0,00330
	Comp. 3	0,05	0,3	0,00015
	Comp. 4	0,05	0,6	0,00030
2,2	Comp. 5	0,09	7,7	0,00693
	Comp. 2	0,09	76,9	0,06921
	Comp. 1	0,09	3,96	0,00356
	Comp. 3	0,09	10	0,00900
2,3	Comp. 5	0,01	4,9	0,00049
	Comp. 2	0,01	9,9	0,00099
	Comp. 3	0,01	85,1	0,00851
2,4	Comp. 5	0,1	0,4	0,00040
	Comp. 1	0,1	0,1	0,00010
	Comp. 3	0,1	98,4	0,09840
2,5	Comp. 3	0,3	96,7	0,29010
2,6	Comp. 3	0,01	73,4	0,00734
	Comp. 4	0,01	14,4	0,00144
2,7	Comp. 3	0,01	3	0,00030
	Comp. 4	0,01	76,5	0,00765
2,8	Comp. 4	0,1	87,96	0,08796
2,9	Comp. 4	0,1	87,9	0,08790
2,1	Comp. 4	0,02	59,3	0,01186
2,11	Comp. 3	0,04	21,2	0,00848
	Comp. 4	0,04	14,3	0,00572

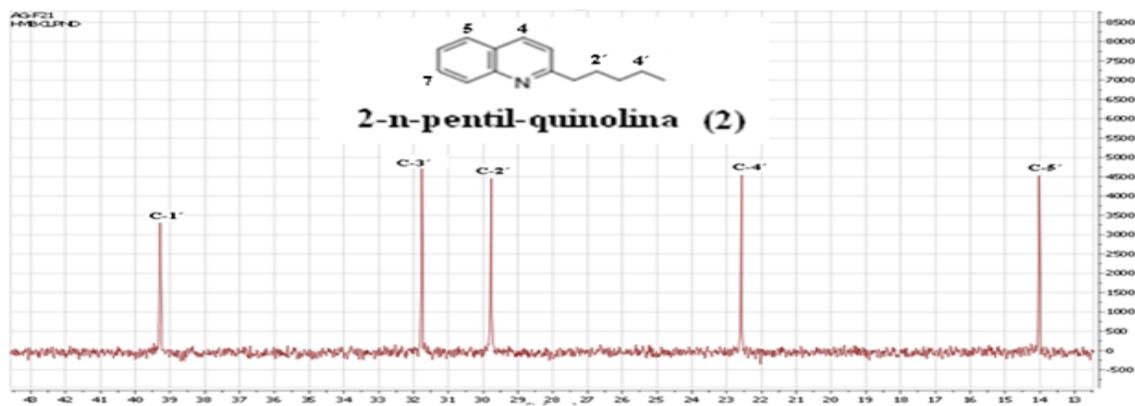
Compuesto	Peso relativo	% en relacion al CAT
Comp. 5	0,0355	0,36
Comp. 2	0,7124	7,12
Comp. 1	0,1319	1,34
Comp. 3	1,3483	13,48
Comp. 4	0,2058	2,06

Anexo 4: Espectros de H^1 y C^{13} de Comp. 2 reconocido como la 2-pentil-quinolina por RMN

Espectro de 1H RMN del compuesto 2

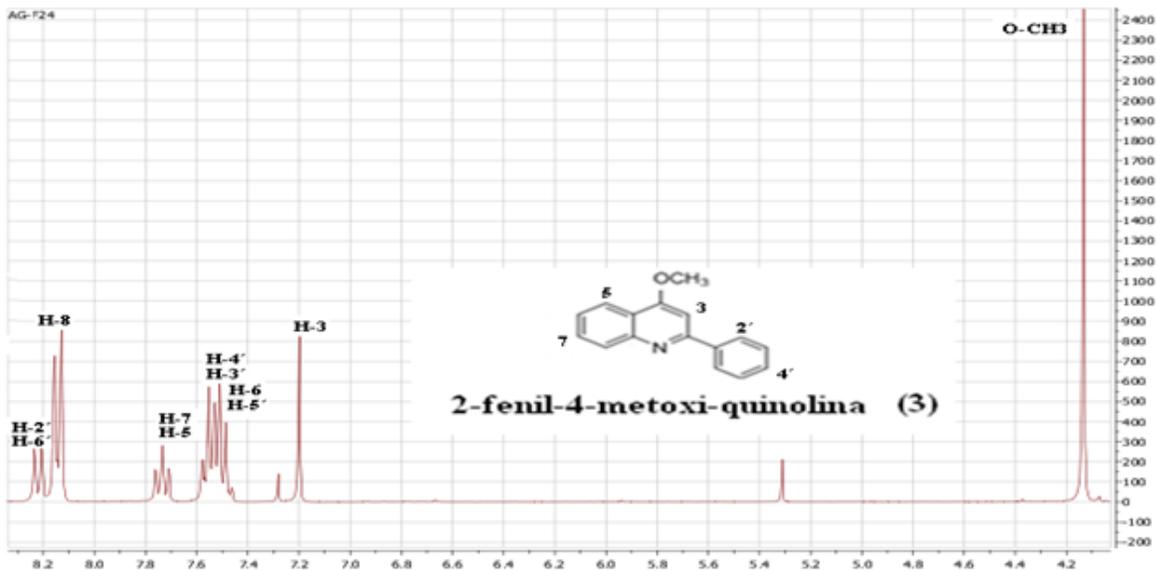


Espectro ^{13}C RMN en el compuesto 2

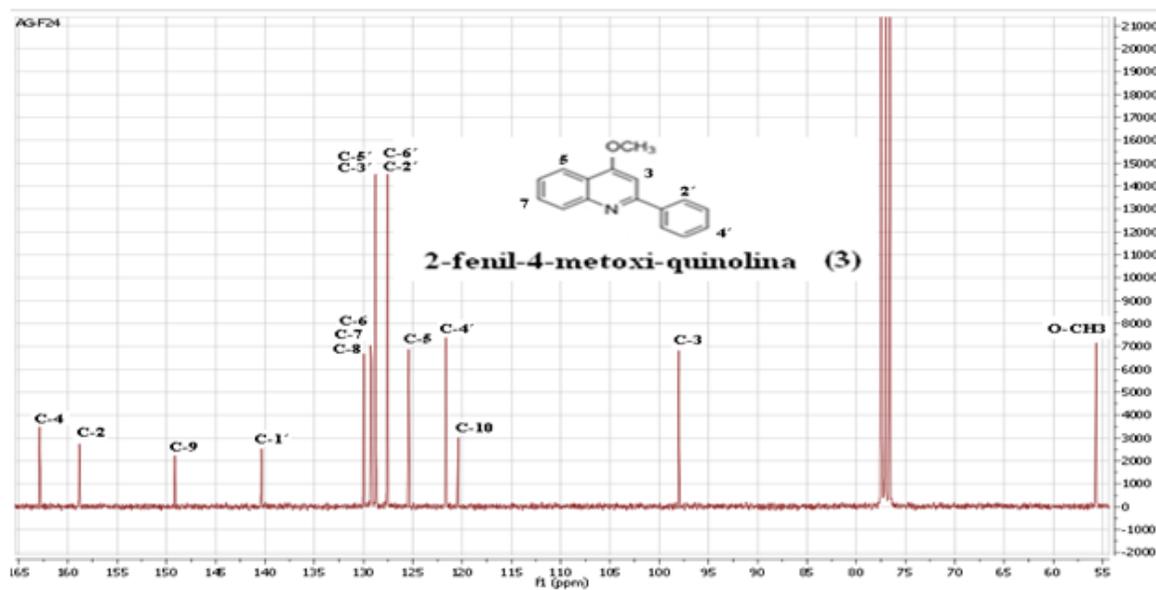


Anexo 5: Espectros de H^1 y C^{13} de Comp. 3 reconocido como la 2-fenil-4-metoxi-quinolina por RMN

Espectro de H^1 RMN del compuesto 3

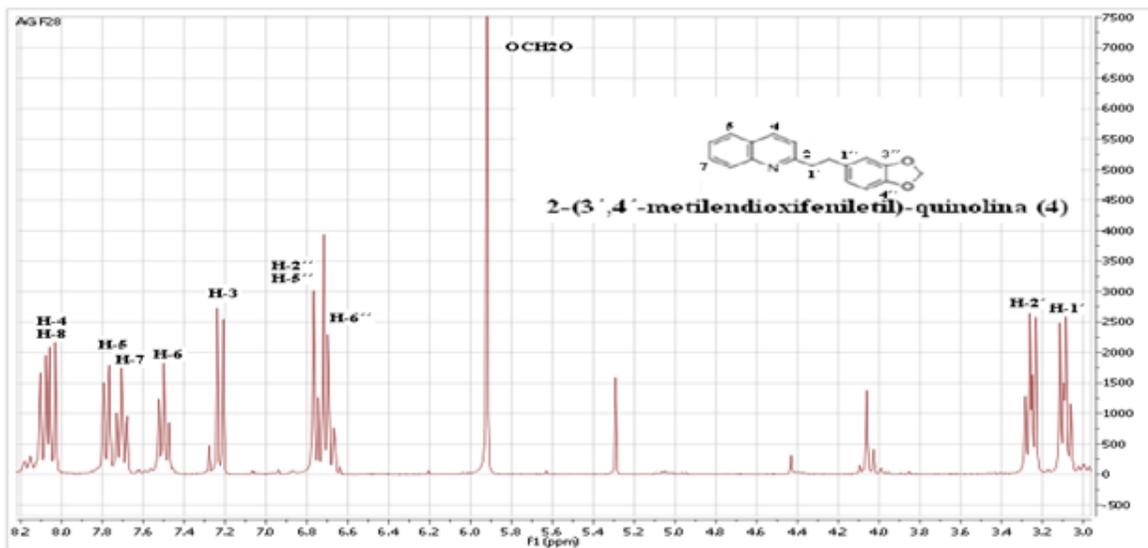


Espectro C^{13} RMN en el compuesto 3

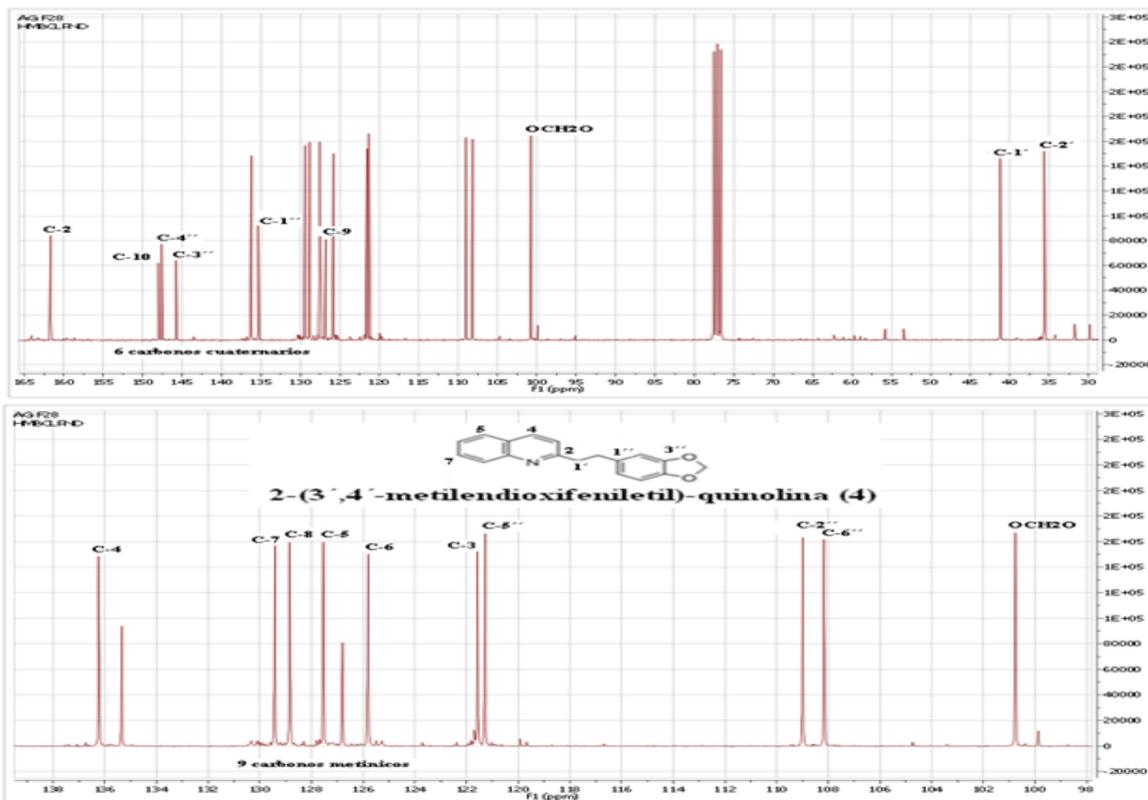


Anexo 6: Espectros de H^1 y C^{13} de Comp. 4 reconocido como la 2-(3',4'-metilendioxfeniletíl)-quinolina

Espectro de 1H RMN del compuesto 4



Espectro ^{13}C RMN en el compuesto 4



Anexo 7: Datos para la regresión lineal de las áreas obtenidas por CG

Concentración	repeticiones			Promedio
	1	2	3	
2,5	30702,99	32339,75	31329,75	31457,50
1,25	16622,99	15222,53	16769,77	16205,10
0,625	9866,17	10066,17	9966,27	9966,20
0,3125	5558,59	6060,92	5551,71	5723,74
0,15625	3615,78	3605,27	3766,34	3662,46
0,0078	1522,8	1499,96	1497,57	1506,78

DS	Error absoluto	Error relativo	LD	LC
0,079	-0,01	-0,3	1,44	3,30
0,071	0,05	3,6	0,90	1,92
0,008	-0,06	-9,3	0,35	0,77
0,024	-0,02	-5,2	0,23	0,57
0,008	0,00	0,0	0,00	0,23
0,001	0,03	346,7	0,00	-0,01

Anexo 8:

Disminución y aumento en la carga parasitaria de *Chilomastix mesnili* en los controles coproparasitológicos del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov	
3-AMFB	3	4		
7-BI		2		
9-CMK	2			
35-OACD	4	2		
32M-MMM	5	5	3	↓
41-QCHN	3		2	↓
11-CHCHJB	3	4		
25-HQME	2			
23-HHPR			2	↑
29-MCE	2			

Mebendazol				
14-CCHV		3		
24-HQV			3	↑
38-PME	3	6	2	↓
22-HHJN			4	

Disminución y aumento en la carga parasitaria de *Endolimax nana* en los controles coproparasitológicos del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov	
9-CMK			6	↑
35-OACD	5	4	3	↓
6-BCU		4	3	↓
32M-MMM		6	2	↓
17-CFW		3	5	↑
1-ACR	2	5	2	↓
41-QCHN	5	4	5	↑
11-CHCHJB		3		
25-HQME	4	6	2	↓
23-HHPR		2	2	=
39-PVN	2	3	2	↓
21-FPW	2	3	5	↑
15-CCHP	3			
29-MCE	3	3	4	↑
47-VNN	3	2		
13-CHCHE	3	4	2	↓
5-AQR	2	6		
37-OARM		6		

Mebendazol	Mar	May	Nov	
14-CCHV		2	2	=
20-FY	1	2		
24-HQV	1	2	5	↑
26-MCGI	4	5		
38-PME	2	5	3	↓
22-HHJN	5	5		
4-AQN		3		
28-MPO	3	3		
12-CHAE	2			
2-ACO	4	5		
42-QMS	2		2	↑
43M-QCHM	5	3	2	↓
30-MAMA		2		
44-QMB			2	↑
40-PVY	5			

Disminución y aumento en la carga parasitaria de *Entamoeba coli* en los controles coproparasitológicos del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov	
3-AMFB			1	↑
7-BI	2		2	=
35-OACD			1	↑
46-VKJL	2		2	=
32M-MMM	4	6	5	↓
17-CFW	4	3	2	↓
41-QCHN	4		3	↓
11-CHCHJB	5	5	3	↓
25-HQME	2	2	2	=
23-HHPR	5	4	5	↑
21-FPW			2	↑
15-CCHP	2			
29-MCE	3	3	6	↑
47-VNN	2	2		
13-CHCHE	2			
5-AQR	5	5	5	=
37-OARM	4	1		

Mebendazol	Mar	May	Nov	
14-CCHV	1			
20-FY			1	↑
24-HQV	1	3	5	↑
26-MCGI	6	5	3	↓
38-PME	3	2	6	↑
36-OAJL	2			
22-HHJN	6	7	5	↓
4-AQN	3	6	3	↓
28-MPO	5	5	3	↓
12-CHAE	6	2		
2-ACO		5	3	↓
42-QMS	2			
10-CHQC	2	2		
43M-QCHM	5	3	4	↑
19M-FVSA		3	4	↑
30-MAMA	2	4		
44-QMB			2	↑

Disminución y aumento en la carga parasitaria de *Giardia lamblia* en los controles coproparasitológicos del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov	
3-AMFB			2	↑
7-BI		2	5	↑
35-OACD		5	2	↓
46-VKJL	2			
32M-MMM			5	↑
17-CFW	7	4		
1-ACR	5	2		
41-QCHN	5	2		
11-CHCHJB			2	↑
25-HQME	3		5	↑
23-HHPR	6	3		
39-PVN	6	6	2	↓
15-CCHP	5	6	6	↑
47-VNN	6			
5-AQR	3	6	6	↑
37-OARM	5			

Mebendazol	Mar	May	Nov	
24-HQV		3		
26-MCGI		2		
8-CHNY	5	6	6	↑
38-PME	3			
36-OAJL	6	7	6	↓
22-HHJN	7	5	2	↓
4-AQN			2	↑
28-MPO	6	4	5	↓
2-ACO	2		6	↑
42-QMS	4	5		
10-CHQC	3	2		
43M-QCHM	5	6		
19M-FVSA		5	3	↓
30-MAMA			6	↑
40-PVY	2	6	7	↑

Disminución y aumento en la carga parasitaria de *Iodoamoeba butchilli* en los controles coproparasitológicos del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov	
32M-MMM	3	6	2	↓
25-HQME			5	↑
23-HHPR			2	↑
29-MCE	3		5	↑
5-AQR	2		5	↑
37-OARM			2	↑

Mebendazol	Mar	May	Nov	
14-CCHV	1			
24-HQV			2	↑
26-MCGI	6	4	4	↓
38-PME	2			
36-OAJL		3		
22-HHJN	4	6		
4-AQN	4	6	3	↓
2-ACO	4		2	↓
10-CHQC	4	6	3	↓
43M-QCHM	6	4	5	↓
40-PVY	2			

Disminución y aumento en la carga parasitaria de *Blastocystis hominis* en los controles coproparasitológicos del jarabe de Evanta al 2% y Mebendazol

Jarabe	Mar	May	Nov	
3-AMFB	3	2	2	↓
7-BI	7	5	6	↓
9-CMK	5	3	5	=
35-OACD	6	6	5	↓
6-BCU	5	4	5	=
46-VKJL	5	4	5	=
32M-MMM	7	6	6	↓
17-CFW	5	6	5	↓
1-ACR	2	4	7	↑
41-QCHN	5	5	3	↓
11-CHCHJB	5	5	3	↓
25-HQME	6	6		
23-HHPR	3	2	4	↑
39-PVN	4	6	3	↓
21-FPW	6	6	4	↓
15-CCHP	6	4	5	↓
29-MCE	5	6	3	↓
47-VNN	2	2		
13-CHCHE	6	4	5	↓
5-AQR	5	4	6	↑
37-OARM	3	3	6	↑

Control	Mar	May	Nov	
14-CCHV	1	5	3	↓
20-FY	1	6	6	↑
24-HQV	1	5	2	↓
26-MCGI	6	2	5	↓
8-CHNY	4	6	5	↑
38-PME	5	5	4	↓
36-OAJL			2	↑
22-HHJN	5	2	5	=
4-AQN	3	5	6	↑
28-MPO	6	5	6	=
12-CHAE	6	5	5	↓
2-ACO	6	6	6	=
42-QMS	3	5	3	=
10-CHQC	5	6	3	↓
43M-QCHM	3	5	3	=
19M-FVSA	3		4	↑
30-MAMA	5	5	3	↓
44-QMB	6	6	4	↓
40-PVY	2	6	5	↑

I. OBJETIVOS

II. INTRODUCCION

III. ANTECEDENTES

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V. CONCLUSIONES

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

VII. BIBLIOGRAFIA

VIII. ANEXOS