

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN

DETERMINACION DE NIVELES PLASMATICOS  
DE ALFA ASARONA

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
QUE PRESENTA:  
MARIA EUGENIA SANCHEZ RAMIREZ

Cuatitlán Izcalli, Estado de México

1985



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE

MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTITLAN

DETERMINACION DE NIVELES PLASMATI -

- COS DE ALFAASARONA

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE : QUIMICO FARMACEUTICO BIOLGO

1985

QUE PRESENTA : MARIA EUGENIA SANCHEZ RAMIREZ.

Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE

MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTITLAN

DETERMINACION DE NIVELES PLASMATI -

- COS DE ALFA ASARONA

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE : QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1985

Cuautitlán Izcalli, Estado de México

M.C. Edilberto Pérez Montoya  
Director Externo

M.C. Vicente Alonso Pérez  
Director Interno.

ESTE TRABAJO ES PARTE DEL PROYECTO : " SINTESIS, FARMACOLO  
-GIA Y TOXICOLOGIA DE ASARONA " , APOYADO POR EL CONSEJO DEL  
SISTEMA NACIONAL DE EDUCACION TECNOLOGICA ( COSNET ) DE LA SE  
-CRETARIA DE EDUCACION PUBLICA, Y FUE REALIZADO EN EL DEPARTA-  
-MENTO DE FARMACIA DE LA ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLOGI-  
-CAS BAJO LA DIRECCION DE M.C. EDILBERTO PEREZ MONTOYA Y M.C.  
VICENTE ALONSO PEREZ, A QUIENES HAGO PATENTE MI AGRADECIMIENTO.

# I N D I C E

	PÁGINAS
INTRODUCCION	1 - 5
MATERIAL Y METODOS	6 - 8
RESULTADOS:	9 - 31
TABLAS	9 - 23
GRAFICAS	24- 31
DISCUSION DE RESULTADOS	32- 34
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFIA	36- 39

## INTRODUCCION

Alfa asarona es extraída de la raíz de Asarum european Linn Aristolochiaceae por destilación con agua; también encontrada en los aceites etéreos de A. europeum, y A. arifolium Linn, Aristolochiaceae y en Acorus calamus Linn, Araceae y de Guatteria gaumeri perteneciente a la familia Anonaceae, conocida en el sureste de México como Elemuy y el extracto como Yumel ( 1,2,3), usado principalmente en Yucatán. Se utiliza la corteza y la hoja en forma de extracto alcohólico; otros nombres utilizados son: Ek le muy, Elemuy box ( en lengua maya).

Martínez (4) describe : es un árbol de 10 a 15 metros de altura de corteza negra con hojas oval lanceoladas, verde oscuras de 9 a 11 cm de largo, con un peciolo de 8 mm., las flores son solitarias, blancas como de 2 cm de diametro, con frutitos de olor desagradable.

Gaumer la recomienda ( Martínez po.cit.) para los cálculos de vejiga 1 a 6 gotas cada 3 horas, durante algunas semanas. Usada también para cálculos biliares (5), además de actividad hipocolesterolemiantes ( 5,6,7) e hipolipemiantes (8).

De la planta se ha logrado aislar e identificar sus principios activos, encontrandose que uno de sus componenetes de mayor proporción es 2,4,5, trimetoxipropenil benceno ó alfa asarona (9) que posee acción hipocolesterolemiantes. Su fórmula condensada es  $C_{12}H_{10}O_3$  con un peso molecular de 208.2 su porcentaje de carbono es de 69.2% , hidrógeno 7.74% , y oxígeno 23.04% , es un sólido blanco, prácticamente insoluble en agua, soluble en alcohol, eter, ácido acético glacial, tetracloruro de carbono, cloroformo, éter de petroleo.

Se conocen 2 isómeros alfa y beta asarona, alfa asarona posee sus hidrógenos de la cadena alquílica en posición trans, mientras que la forma beta se encuentran en posición cis.

Otra planta que contiene alfa asarona es Acorus calamus Linn que se encuentra en la India pertenece a la familia Araceae, y se utiliza en el tratamiento de parálisis, raquitismo ( 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16). Sin embargo ésta planta contiene beta asarona, la cual es cancerígena, y de posible uso como insecticida ( 17). Alfa y beta asarona han sido separadas e identificadas ( 18, 19, 20, 21).

Guatteria gaumeri ( Annonaceae) no contiene beta asarona, está constituida por alfa asarona, asaraldehído y otros propilbencenos ( trans - isolemicina y trans- isomiristicina) encontrados como componentes minoritarios ( 9).

El primero en realizar la síntesis de alfa asarona fue Gatterman (22) y después Seshadri (23). Los estudios farmacológicos y toxicológicos de alfa asarona han sido realizados por Mandoki ( 6) encontrando que tanto en ratas que recibieron dosis de 60 mg/kg día, vía intraperitoneal, durante 28 días, como las que recibieron el fármaco durante 7 días, a dosis de 300 mg/kg día se observaron descensos en la concentración de colesterol en suero.

El valor de la DL50 de la fracción volátil obtenida por destilación a vapor de las raíces y rizomas de una variedad hindú de cálamo en ratas por vía intraperitoneal, fue de 221 mg/kg (24), y Yuco reporta (25) un valor de 154.5 mg/kg de cálamo administrado intraperitonealmente a ratón, y 22 mg/kg de alfa asarona, 184 mg/kg de beta asarona.

Estudios realizados por Jenner ( 26) con oleo de cálamo variedad hindú muestra un valor de DL50 de 777 mg/kg en ratos por vía oral.

El index Merck reporta una DL50 para alfa asarona administrada intraperitonealmente en cobayos de 275 mg/kg.

Sharma y Dandiya ( 28) reportó 300 mg/kg para alfa asarona y 122mg/kg para beta asarona administrada intraperitonealmente a ratas.



Oswald et. al ( 27) demostró que la administración intraperitoneal y roal de alfa y beta asarona en ratas machos produce ex--  
-creción de substancias básicas positivas nihidrina en cuanto que los animales tratados con el óleo no la excretan. Los autores sugieren que los compuestos excretados semejan anfetaminas ó fenili  
-isopropilaminas substituidas y que probablemente necesitan de una doble ligadura en la cadena lateral durante la formación cuyo ren-  
-dimiento es mayor para el isomero trans que para el cis.

En " vitro " estudios biofarmacéuticos pueden llevarse a ca-  
-bo usando procedimientos analíticos como son los de absorción vi-  
-sible, ultravioleta, potenciométricos, titulométricos y gravimé-  
-tricos, los cuáles son descritos en la U.S.P.. Sin embargo en los estudios farmacocinéticos de drogas administradas a hombres ó ani-  
-males en principios activos ó formulaciones farmacéuticas se usa sangre, orina /ó concentraciones en tejido de las drogas y requie-  
-ren métodos específicos y sensibles para su determinación.

Para la alfa asarona no se encuentra reportado ningún método para su determinación.

Los fluidos biológicos más accesibles son sangre, saliva orina, -  
- todos éstos fluidos son utilizados para el ensayo de droga, las -  
-determinaciones en plasma ó en suero pueden dar una muy buena cor-  
-relación entre las concentraciones de droga y sus efectos, ya que la respuesta de la droga es determinada por la cuantificación de droga ( ó farmaco) fijada a los sitios de acción, puesto que la -  
-concentración de droga en plasma ó suero puede ser medida, es im-  
-portante saber si hay cambios en ésta concentración y si éstos -  
-reflejan cambios en la cantidad de droga en éstos sitios activos.

Los efectos farmacológicos no tienen relación con los niveles de droga en suero ó plasma, cuando la acción de la droga es media-  
-da a través de un producto metabólico, numerosos agenetes tera-  
-péuticos han sido descubiertos por el estudios de ésta relación (29).

Otros fármacos ( drogas ) que actúan no reversiblemente, la cuantificación de un agente activo unido a receptor no está relacionada a un estado estable en la concentración plasmática.

Para fármacos con un pequeño volumen de distribución es fácil apreciar que la concentración de droga en plasma es representativa de la cantidad de fármaco en el organismo. Muchas drogas tienen un gran volumen de distribución y para tales compuestos intentar relacionar efectos con niveles plasmáticos son vistos con excepticismo, porque así solo un poco de droga es disponible en plasma comparada con los tejidos. El nivel en los tejidos viene a ser considerado más importante para el efecto farmacológico que los niveles plasmáticos, sin embargo éstos estudios son difíciles de llevar a cabo.

Los resultados obtenidos usando suero ó plasma son generalmente idénticos ( 30 ) sin embargo al utilizar plasma los anticoagulantes pueden interferir en la cuantificación de droga ( ejemplo: fluoride inhibe la colinesterasa sérica la cual causa " in vitro " degradación de algunas drogas como la cocaína, ácido acetil salicílico).

La diferencia principal entre suero y plasma es que el plasma contiene entre 2 y 3 g/l de fibrinógeno y el suero contiene enzimas como son la alcalina, fosfatasa ácida, deshidrogenasa y transaminasa.

La recolección de sangre no debe hacerse en tubos de plástico ya que puede liberar sustancias, las cuales pueden interferir en el ensayo. La composición del plasma y suero varían considerablemente en condiciones patofisiológicas como hiperlipidemia, h**ib**ilirubinemia. Cuando se está determinando el rango terapéutico, concentraciones de droga en suero ( individuales ) se considera solo la concentración de droga total, pero la variabilidad interindividual de la unión de droga a proteína puede ser grande en estados patológicos.

La correlación entre niveles de droga ( fármaco) total y res-puesta se deterioran en condiciones donde varía el enlace a pro-teína, sin embargo en condiciones normales las variaciones inter-individuales en enlace a proteínas parece ser pequeño ( 31,32,33).

El procedimiento para analizar la muestra debe ser tan simple como sea posible. Interferencias de substratos endógenos necesitan ser removidos antes del análisis ésto es importante también para - proteger el aparato analítico de contaminación de lípidos, prote-ínas, y partículas insolubles. Cuando éstos factores han sido op-timizados el método de extracción debe tener una adecuada sensi-tividad y un apropiado rango de concentración, baja interferencia sí el blanco tiene lectura ésto debe ser pequeña si se usa ultra-violeta, y además adecuada especificidad y reproducibilidad.

En la práctica si la recuperación e menor de 75 % la reprodu-cibilidad no es aceptable, pero eso depende de las razones por - las cuáles haya pérdida. Si es debido a la absorción, evaporación ó mezclado inadecuado etc., la recuperación puede ser variable pe-ro si es debido al bajo coeficiente de partición puede ser consi-derado aceptable (34), debido a que es un error constante.

La recuperación debe ser determinada a varias concentraciones ya que puede variar y no ser la adecuada.

La mayoría de las sustancias endógenas y muchas drogas no ab-sorben en el rango del visible pero si en U.V. por ejemplo el sue-ro que contien muchos componetes que son normalmente amarillo - pálido, pero sin embargo absorben fuertemente en U.V. a longitudes de onda menores de 300 nm. ( 35).

Para muchos compuestos la intensidad de absorción es propor-cional a la concentración del compuesto en solución sobre algún rango específico ( ley de Lambert y Beer). Esto es de gran utili-dad para la cuantificación de sustancias.

### OBJETIVO

El objetivo de éste trabajo es obtener un método analítico confiable y reproducible que nos permita ver los niveles plasmático de alfa asarona en conejo asimismo obtener el curso temporal de fármaco.

- a) Determinar el rango de concentraciones en donde la alfa asarona sigue la ley de Lambert y Beer.
- b) Encontrar el mejor solvente para la recuperación de alfa asarona del suero así como las concentraciones recuperables.
- c) Obtener el valor de la constante de eliminación y el tiempo de vida media.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

MATERIAL: Centrifuga Damon /IEC division

Vortex Mixer s/p cat 68223

Espectrofotómetro Varian DMS 90 U.V. y visible

Material de vidrio

Jeringas

MATERIAL BIOLÓGICO: Suero de humano

Conejos Nueva Zelanda I.P.N. ( hembras)

REACTIVOS: Eter Baker Analyzed' Reactivo

Metanol Baker Analyzed ' Reactivo

Acetato de Etilo Baker Analyzed ' Reactivo

Cloroformo Baker Analyzed ' Reactivo

n-Hexano Baker Analyzed ' Reactivo

Acido sulfúrico concentrado Baker Analyzed ' Reactivo'

Cloroformo Baker Analyzed ' Reactivo Espectrofotométrico

Alfa Asarona.

M E T O D O S :

Se hicieron diluciones ( $10^{-2}$ M.  $10^{-6}$ M.) de alfa asarona extraída de la planta Guatteria gaumeri, en diferentes solventes como son: éter, metanol, acetato de etilo, cloroformo, en los cuales se reporta que es soluble la alfa asarona, Se buscó un máximo de absorbancia en un rango de longitud de onda de 380 a 200nm. leyendo una sola concentración ( $1 \times 10^{-4}$ M.) en los 4 solventes.

METODO PARA CUANTIFICAR ALFA ASARONA EN SUERO.

- I En un tubo se colocan 0.5 ml de suero, 20,30,40,50,70,80,100 microlitros de alfa asarona en metanol  $1.3 \times 10^{-3}$ M., 5 ml de cloroformo, agitar 30 segundos ( vortex), centrifugar 5 minutos.
- II Igual que el método I pero se agregan 50 microlitros de ácido sulfúrico concentrado antes de hacer la extracción con cloroformo.
- III Extracción de alfa asarona del suero con tetracloruro de carbono, siguiendo el método I
- IV Extracción de alfa asarona del suero con n- hexano, siguiendo el método I.
- V Extracción de alfa asarona del suero con n- hexano, utilizando 3 ml de n- hexano y haciendo 2 extracciones.

Se realizaron blancos para cada método.

DETERMINACION DE LOS NIVELES PLASMATICOS DE ALFA ASARONA EN CONEJO

Se toman muestras a diferentes tiempos 0,0.5,1,2,3,4,5,8,10, y24 horas por punción cardiaca , la muestra 0 se realiza una curva

estandar adicionando 15,30,40,50 100 microlitros de alfa asarona en metanol ( 0.208 mg/ml). Con las demás muestras se sigue el método V. Las vías de administración y las dosis se muestran en el siguiente cuadro.

CONEJO	DOSIS ( mg/kg)	VIA DE ADMINISTRACION
I	25	SUBCUTANEA
II	100	ORAL EN ACEITE DE MAIZ
IIIA	100	SUBCUTANEA
IIIB	100	SUBCUTANEA
IIIC	100	SUBCUTANEA
IV A	25	ORAL EN CAPSULA
IV B	25	ORAL EN CAPSULA
V A	0.3026	INTRAVENOSA
V B	0.3026	INTRAVENOSA
V C	0.3026	INTRAVENOSA
V D	0.3026	INTRAVENOSA
V E	0.3026	INTRAVENOSA
V F	0.3026	INTRAVENOSA
V G	0.3026	INTRAVENOSA
V H	0.3026	INTRAVENOSA

R E S U L T A D O S

TABLA # 1

Datos para la curva de calibración de alfa asarona en n- hexano.

Moles/l adicionados de alfa asarona	Absorbancias ( D.E.) *	Ecuación de regresión
1X10 <sup>-6</sup>	0.006 (± 0.003)	
2	0.021 (± 0.021)	
4	0.033 (± 0.002)	
6	0.050 (± 0.001)	
8	0.067 (± 0.001)	y= 0.0042192+7409.63 x
1X10 <sup>-5</sup>	0.083 (± 0.002)	
2	0.148 (± 0.003)	r <sup>2</sup> = 0.9998 , n= 11
4	0.298 (± 0.003)	
6	0.450 (± 0.007)	( Gráfica # 1)
8	0.599 (± 0.009)	
1X10 <sup>-4</sup>	0.744 (± 0.004)	

\* La curva de calibración se llevo a cabo 3 veces y se presentan los promedios de éstas con su desviación estandar.



TABLA # 2

Datos de la curva de calibración para la determinación de alfa asarona en suero.

Moles / l adicionados de alfa asarona	Absorbancia (D.E.) *	Ecuación de regresión	
En plasma			
$3.2708 \times 10^{-6}$	0.016 ( $\pm 0.005$ )	$y = -0.014487 + 8850.24 x$ $r^2 = 0.9988$ , n= 6 ( Gráfica # 2)	
$6.5410 \times 10^{-6}$	0.040 ( $\pm 0.005$ )		
$8.7220 \times 10^{-6}$	0.062 ( $\pm 0.004$ )		
$1.0902 \times 10^{-5}$	0.082 ( $\pm 0.010$ )		
$2.1800 \times 10^{-5}$	0.184 ( $\pm 0.028$ )		
$3.2708 \times 10^{-5}$	0.271 ( $\pm 0.002$ )		
En plasma mg/ml	mg/ml recuperados (D.E.)	Porcentaje de recuperación	Ecuación de regresión
$6.0898 \times 10^{-4}$	$5.0266 \times 10^{-4}$ ( $\pm 1.5 \times 10^{-4}$ )	82.54	$y = 3.675 \times 10^{-4} + 1.204 x$ $r^2 = 0.9986$ , n= 6 (Gráfica # 3)
$1.3618 \times 10^{-3}$	$1.1608 \times 10^{-3}$ ( $\pm 1.7 \times 10^{-4}$ )	85.24	
$1.8618 \times 10^{-3}$	$1.7970 \times 10^{-3}$ ( $\pm 1.3 \times 10^{-4}$ )	98.95	
$2.2697 \times 10^{-3}$	$2.3752 \times 10^{-3}$ ( $\pm 2.5 \times 10^{-4}$ )	104.64	
$4.5387 \times 10^{-3}$	$5.2656 \times 10^{-3}$ ( $\pm 8.7 \times 10^{-4}$ )	116.01	
$6.8098 \times 10^{-3}$	$7.7455 \times 10^{-3}$ ( $\pm 6.8 \times 10^{-4}$ )	113.74	
	Promedio	108.18	
	(+ D.E.)	(+12.84)	

\* La curva de calibración para la determinación de alfa asarona en suero se llevo a cabo 5 veces, y se presentan sus promedios y sus desviaciones estandar.

TABLA # 3

Datos para las curvas estandar de alfa asarona en suero de conejo.

Conejo	mg/ml adicionados	nm. Absorbancia	Ecuación
I	$6.810 \times 10^{-4}$	0.011	$y = -0.00804 + 32.22 x$ $r^2 = 0.9978$ , n= 6
	$1.362 \times 10^{-3}$	0.033	
	$1.816 \times 10^{-3}$	0.056	
	$2.270 \times 10^{-3}$	0.065	
	$4.540 \times 10^{-3}$	0.141	
	$6.810 \times 10^{-3}$	0.209	
	Blanco	0.008	
II	$6.810 \times 10^{-4}$	0.020	$y = -0.00558 + 39.78 x$ $r^2 = 0.9952$ , n= 6
	$1.362 \times 10^{-3}$	0.049	
	$1.816 \times 10^{-3}$	0.072	
	$2.270 \times 10^{-3}$	0.086	
	$4.540 \times 10^{-3}$	0.164	
	$6.810 \times 10^{-3}$	0.271	
	Blanco	0.001	
III A	$6.810 \times 10^{-4}$	0.026	$y = -0.0001744 + 39.82 x$ $r^2 = 0.9964$ , n= 6
	$1.362 \times 10^{-3}$	0.048	
	$1.816 \times 10^{-3}$	0.082	
	$2.270 \times 10^{-3}$	0.086	
	$4.540 \times 10^{-3}$	0.181	
	$6.810 \times 10^{-3}$	0.270	
	Blanco	0.000	
III B	$1.388 \times 10^{-4}$	0.006	$y = 0.007901 + 36.43 x$ $r^2 = 0.9376$ , n= 6
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.013	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.017	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.022	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.042	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.051	
	Blanco	0.001	

Cont. TABLA # 3

Conejo	mg/ml adicionados	Absorbancia	Ecuación
III C	$1.388 \times 10^{-4}$	0.003	$y = -0.002 + 40.09 x$ $r^2 = 0.9870, n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.009	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.019	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.024	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.036	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.056	
	Blanco	0.003	
IV A	$1.388 \times 10^{-4}$	0.002	$y = -0.004143 + 40.24 x$ $r^2 = 0.99918, n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.007	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.015	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.024	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.037	
	$2.776 \times 10^{-3}$	0.108	
	Blanco	0.000	
IV B	$1.388 \times 10^{-4}$	0.001	$y = -0.003612 + 31.22x$ $r^2 = 0.9950, n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.004	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.013	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.018	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.027	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.041	
	Blanco	0.000	
V A	$1.388 \times 10^{-4}$	0.004	$y = -7.57 \times 10^{-5} + 29.39x$ $r^2 = 0.995, n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.007	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.015	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.020	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.029	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.041	
	Blanco	0.000	
V B	$1.388 \times 10^{-4}$	0.004	$y = -7.57 \times 10^{-5} + 29.39 x$ $r^2 = 0.995, n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.007	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.015	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.020	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.029	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.042	
	Blanco	0.001	

Cont. Tabla # 3

Conejo	Adicionados mg/ml	Absorbancia	Ecuación
V C	$1.388 \times 10^{-4}$	0.003	$y = -1.4 \times 10^{-5} + 27.16 x$ $r^2 = 0.995$ , $n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.005	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.012	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.016	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.027	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.037	
	Blanco	0.000	
V D	$1.388 \times 10^{-4}$	0.006	$y = 0.005 + 30.18 x$ $r^2 = 0.960$ , $n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.016	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.022	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.025	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.034	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.049	
	Blanco	0.004	
V E	$1.388 \times 10^{-4}$	0.004	$y = -7.57 \times 10^{-5} + 29.39 x$ $r^2 = 0.995$ , $n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.007	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.015	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.020	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.029	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.042	
	Blanco	0.000	
V F	$1.388 \times 10^{-4}$	0.004	$y = -7.57 \times 10^{-5} + 29.39 x$ $r^2 = 0.995$ , $n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.007	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.015	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.020	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.029	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.042	
	Blanco	0.000	
V G	$1.388 \times 10^{-4}$	0.004	$y = -7.57 \times 10^{-5} + 29.39 x$ $r^2 = 0.995$ , $n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.007	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.015	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.020	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.029	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.042	
	Blanco	0.001	

Cont. TABLA # 3

Conejo	mg/ml Adicionados	Absorbancia	Ecuación
V H	$1.388 \times 10^{-4}$	0.004	$y = -7.57 \times 10^{-5} + 29.39x$ $r^2 = 0.995, n = 6$
	$2.429 \times 10^{-4}$	0.007	
	$5.205 \times 10^{-4}$	0.015	
	$6.940 \times 10^{-4}$	0.020	
	$1.041 \times 10^{-3}$	0.029	
	$1.388 \times 10^{-3}$	0.042	
	Blanco	0.001	

TABLA # 4

Concentraciones correspondientes a la administración  
Subcutanea, Conejo I

Muestra	Tiempo (hr)	Concentración * ( mg/ml)
1	0.5	$2.8056 \times 10^{-4}$
2	1	$5.5985 \times 10^{-4}$
3	2	$2.1114 \times 10^{-3}$
4	3	$4.0469 \times 10^{-4}$
5	5	$2.8056 \times 10^{-4}$
6	8	$2.8056 \times 10^{-4}$
7	10	$5.2882 \times 10^{-4}$
8	24	---

\* Concentraciones correspondientes al Conejo I. Gráfica # 4

TABLA # 5

Concentraciones correspondientes a la administración  
Subcutanea.

---

Conejo III A

Muestra	Tiempo ( hr)	Concentración(mg/ml)
1	0.5	$1.300 \times 10^{-5}$
2	1	$1.134 \times 10^{-4}$
3	2	$1.385 \times 10^{-4}$
4	3.5	$0.381 \times 10^{-4}$
5	5	$4.65 \times 10^{-4}$
6	8	$1.300 \times 10^{-5}$
7	10	---
8	24	---

---

Conejo III B

1	0.5	$1.744 \times 10^{-4}$
2	1	$1.197 \times 10^{-3}$
3	2.5	$4.167 \times 10^{-4}$
4	3.5	$2.013 \times 10^{-4}$
5	5	M U R I O

---

Conejo III C

1	0.5	$3.092 \times 10^{-4}$
2	1	$3.340 \times 10^{-4}$
3	2	$3.890 \times 10^{-4}$
4	3.5	$4.089 \times 10^{-4}$
5	5	$4.588 \times 10^{-4}$
6	8	$8.474 \times 10^{-4}$

---

---

TABLA # 6

Promedios de las concentraciones correspondientes a la administración subcutanea.

Muestra	Tiempo ( hr)	Concentración(mg/ml) (D.E.)*
1	0.5	$1.655 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0001$ )
2	1	$5.4836 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0004$ )
3	2	$2.6375 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0001$ )
4	2.5	$4.1677 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0000$ )
5	3.5	$2.1623 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0001$ )
6	5	$4.1900 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.000003$ )
7	8	$4.887 \times 10^{-7}$ ( $\pm 0.003$ )

\* Promedios de las concentraciones correspondientes a los cone--jos III A, III B, IIIC , con su desviación estandar.

Gráfica # 5



TABLA # 7

Concentraciones correspondientes a la administración por vía oral en capsula.

---

Conejo IV A		
Muestra	Tiempo ( hr)	Concentración ( mg/ml)
1	0.5	$1.0173 \times 10^{-4}$
2	1	$1.3489 \times 10^{-4}$
3	2	$3.833 \times 10^{-4}$
4	3.5	$1.0173 \times 10^{-4}$
5	5	$3.502 \times 10^{-4}$
6	8.5	$1.3489 \times 10^{-4}$
7	10	$1.0173 \times 10^{-4}$
8	23	$1.0173 \times 10^{-4}$
9	24	$1.0173 \times 10^{-4}$

---

Conejo IV B		
1	0.5	---
2	1	---
3	2	$1.0589 \times 10^{-4}$
4	3.5	$3.6212 \times 10^{-4}$
5	5	$7.3862 \times 10^{-5}$
6	8	---
7	8.5	---
8	10	---
9	23	---
10	24	---

---

Gráfica # 6 '

TABLA # 8

Promedios de las concentraciones correspondientes a la administración por vía oral en capsula

Muestra	Tiempo ( hr)	Concentración (mg/ml) (D.E.)*
1	0.5	$1.0173 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0000$ )
2	1	$1.3489 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0000$ )
3	2	$2.4459 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0001$ )
4	3.5	$2.3192 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0001$ )
5	5	$2.1203 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0001$ )
6	8.5	$1.3489 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0000$ )
7	10	$1.0173 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0000$ )
8	23	$1.0173 \times 10^{-4}$ ( $\pm 0.0000$ )

\* Promedios de las concentraciones correspondientes a los conejos IV A, y IV B, con su desviación estandar.

Gráfica # 6

TABLA # 9 Concentraciones de la Vía intravenosa.

Muestra	Tiempo (hr)	Concentración (ug/ml)	Ke1 (hr <sup>-1</sup> )	T <sub>1/2</sub> (hr)
V A 1	0.5	0.3686		
2	1	0.3411		
3	2	0.3139		
4	3.5	0.2731		
5	5	0.2187	0.1105	6.271
Ecuación: $y = -0.9444 + (-0.1105) x$ $r^2 = 0.9876$ , $n = 5$				
V B 1	0.25	0.2066		
2	0.5	0.1726		
3	0.75	0.1726		
4	1	0.1726		
5	1.3	0.1726		
6	2	0.1386		
7	3	0.1046		
8	4	0.1046		
9	5	0.0706		
10	7.2	0.0706	0.1648	4.205
Ecuación: $y = -1.6275 + (-0.1648) x$ $r^2 = 0.9238$ , $n = 10$				
V C 1	0.25	0.1918		
2	0.5	0.1550		
3	1	0.1366		
4 ( )	1.75	0.0998		
5 ( )	3	0.0814		
6	4 ( )	0.1366		
7	5 ( )	0.0998	0.3000	2.31
Ecuación: $y = -1.6739 + (-0.3000) x$ $r^2 = 0.9428$ , $n = 7$				

( ) Datos no tomados en cuenta para la determinación del coeficiente de correlación.

Cont. TABLA # 9 .

	Muestras	Tiempo	Concentración	Kel	T1/2
V D	1	0.25	0.09117		
	2	0.5	0.06242		
	3	1	0.05859		
	4	1.5 (0)	0.01273		
	5	2	0.04583		
	6	3	0.04583		
	7	4	0.02547	0.2677	2.5
Ecuación : $y = -2.4926 + (-0.2677) x$				$r^2 = 0.8717$	$n = 7$
V E	1	0.25	0.1727		
	2	0.5	0.1386		
	3	0.75	0.0692		
	4	2	0.0692		
	5	2.75 (0)	0.0366		
	6	3.75	0.0366		
	7	4.75	0.0366		
	8	6.75	0.0182	0.3523	1.96
Ecuación : $y = -1.8913 + (-0.3523) x$				$r^2 = 0.8728$	$n = 8$
V F	1	0.25	0.1373		
	2	0.5	0.3427		
	3	0.75	0.1033		
	4	2	0.0690		
	5	2.5	0.0690		
	6	3.5	0.0520		
	7	4.5	0.0350	0.2988	2.319
Ecuación : $y = -1.4848 + (-0.2988) x$				$r^2 = 0.9797$	$n = 7$
V G	1	0.25	0.1386		
	2	0.5	0.1046		
	3	0.75	0.1046		
	4	1 (0)	0.0706		
	5	1.5	0.1033		
	6	2 (0)	0.0693		
	7	3	0.0523		
	8	4	0.0353		
	9	5	0.0183	0.3868	1.791
Ecuación : $y = -1.8934 + (-0.3868) x$				$r^2 = 0.9613$	$n = 9$

Cont. Tabla # 9

Muestra	Tiempo	Concentración	Kel	T 1/2
V H	1	0.25	0.1033	
	2	0.5	0.0863	
	3	0.75	0.0693	
	4	1	0.0523	
	5	1.5	0.0353	
	6	2	0.0353	
	7	3	0.0183	
	8	4	0.0183	0.4828 1.435

Ecuación:  $y = -2.3452 + (-0.4828) x$        $r^2 = 0.91136, n = 8$

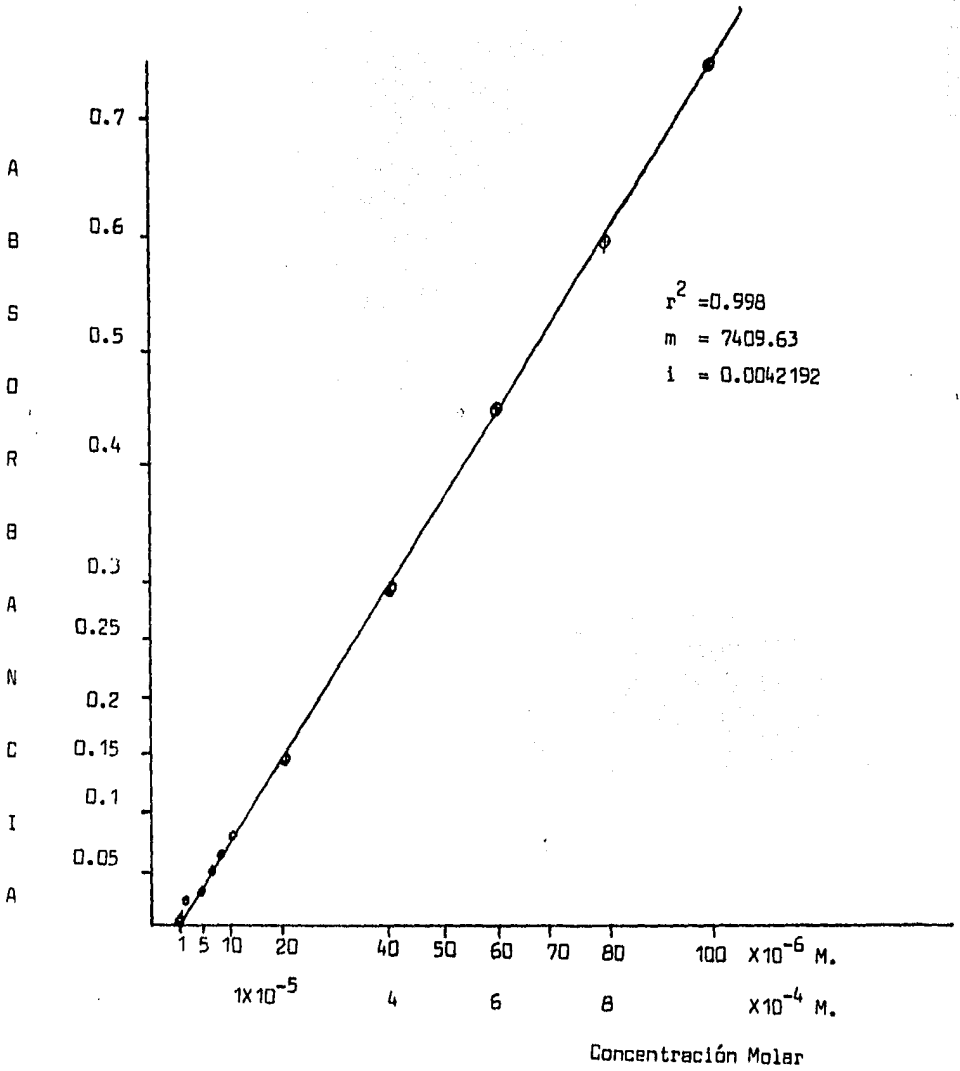
TABLA # 10

Muestra	Tiempo ( hr)	Concentración (mg/ml) (D.E.)*	Kel hr <sup>-1</sup>	T <sub>1/2</sub> hr
1	0.25	0.1384 ( <u>±</u> 0.058)		
2	0.75	0.1038 ( <u>±</u> 0.037)		
3	1.5	0.0693 ( <u>±</u> 0.034)		
4	2.5	0.0690 ( <u>±</u> 0.000)		
5	3	0.0604 ( <u>±</u> 0.029)		
6	3.5	0.0520 ( <u>±</u> 0.000)		
7	3.75	0.0366 ( <u>±</u> 0.000)		
8	4.75	0.0366 ( <u>±</u> 0.000)		
9	5	0.0171 ( <u>±</u> 0.001)		
10	6.75	0.01829( <u>±</u> 0.000)	0.3197	2.16
Ecuación: $y = -1.9879 + (-0.3197) x$			$r^2 = 0.9015, n = 10$	

\* Promedios de las concentraciones correspondientes a los conejos VA,VB,VC,VD,VE,VF,VG,y VH, con su desviación estándar. Gráfica # 7.

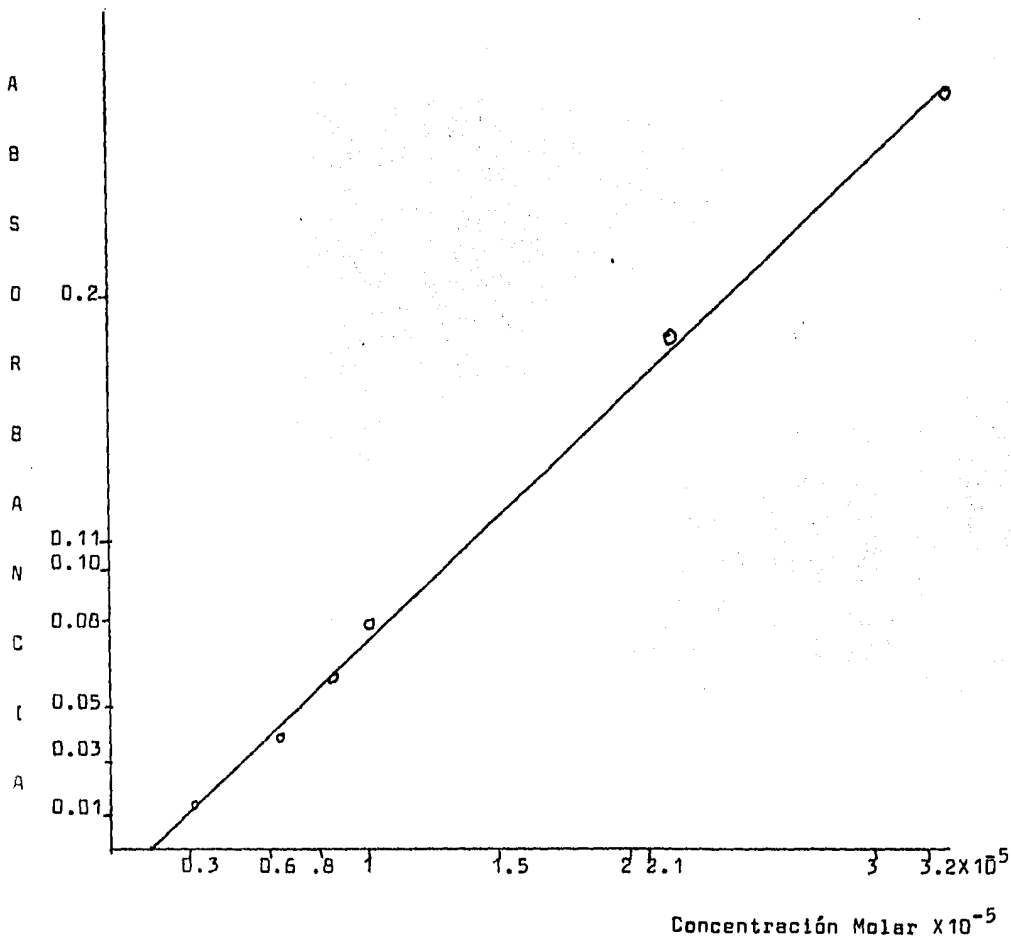
Gráfica # 1

Gráfica de calibración de alfa asarona en n- hexano.



Gráfica # 2

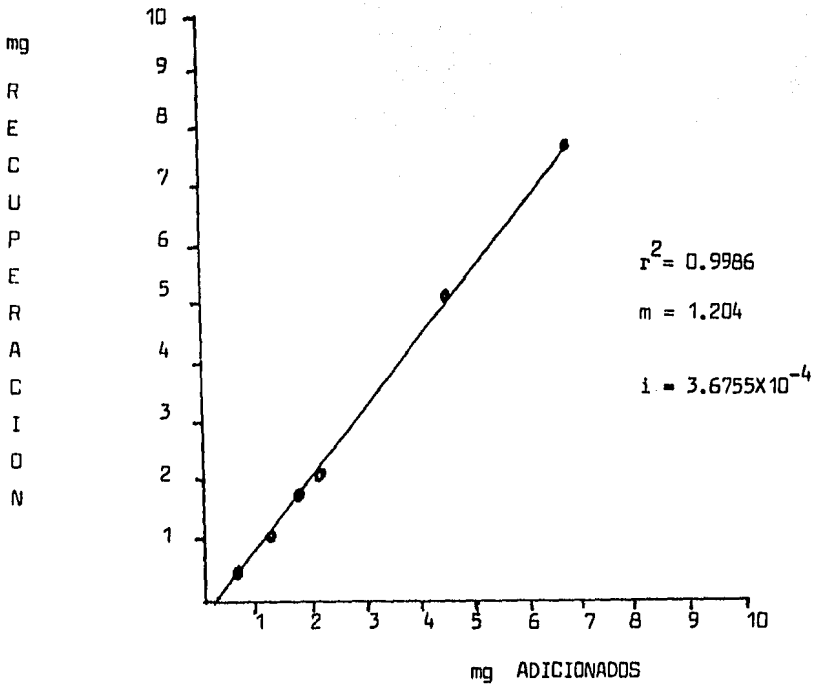
Gráfica de calibración para la determinación de alfa asarona en suero



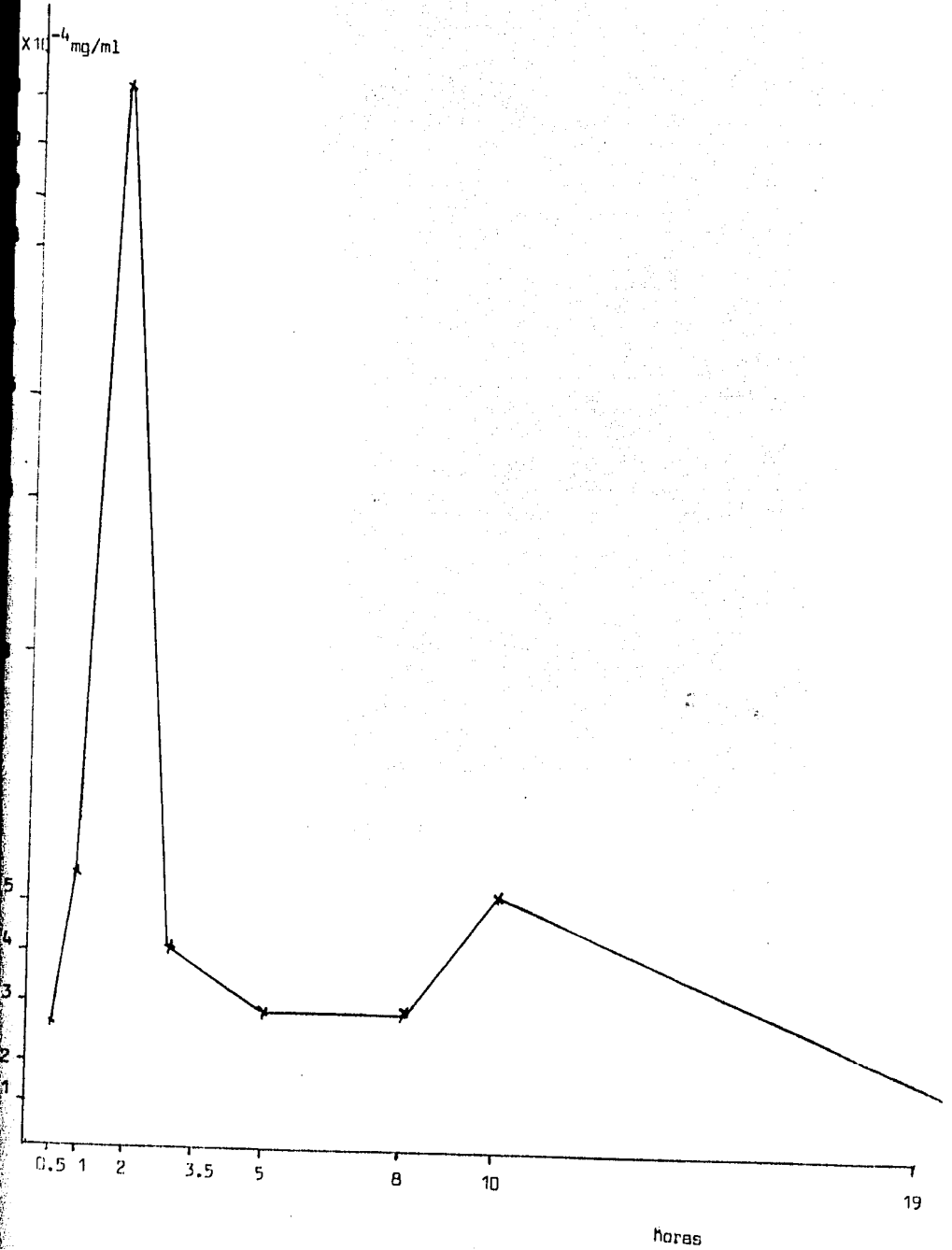


Gráfica # 3

Gráfica de calibración para la recuperación de alfa asarona en suero

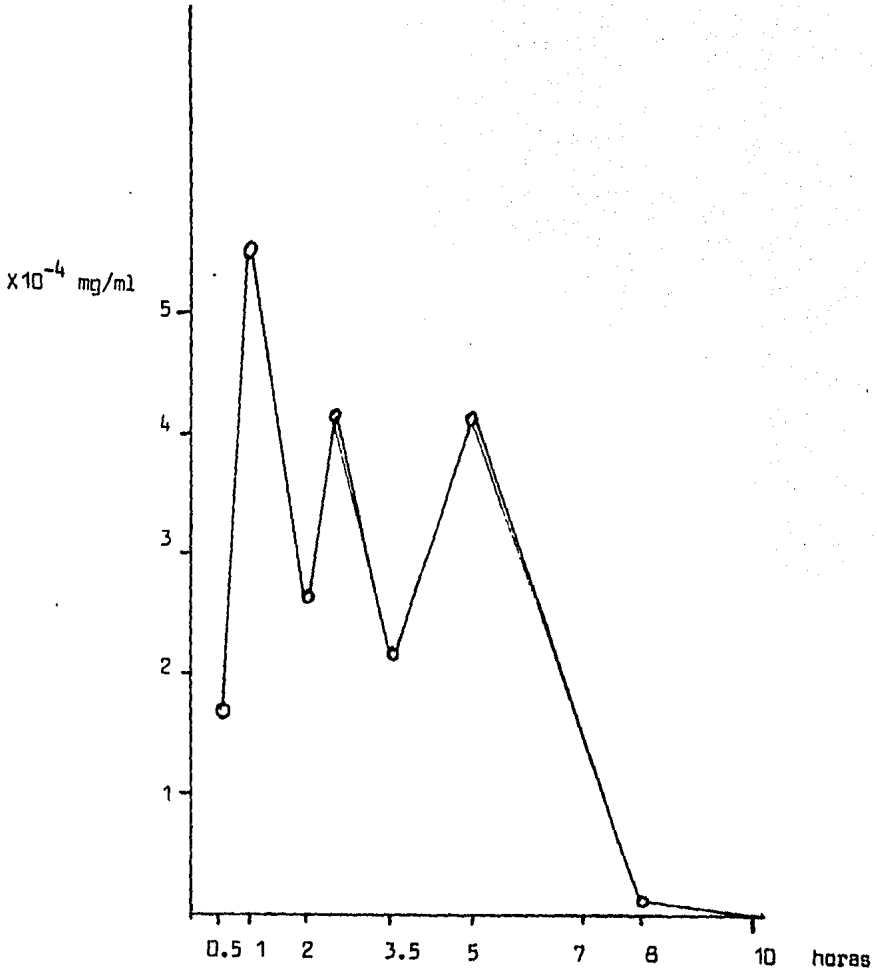


Grafica # 4 Administración Subcutanea Conejo I

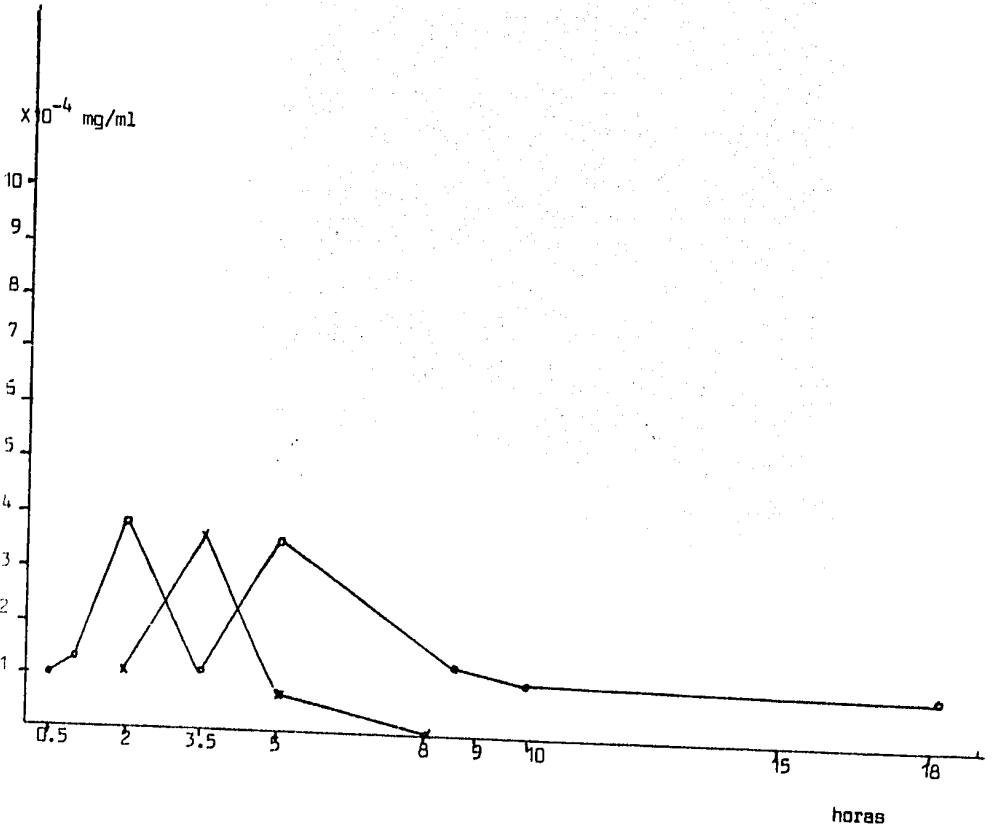


Gráfica # 5

Conejos IIIA , IIIB, IIIC Vía subcutanea.

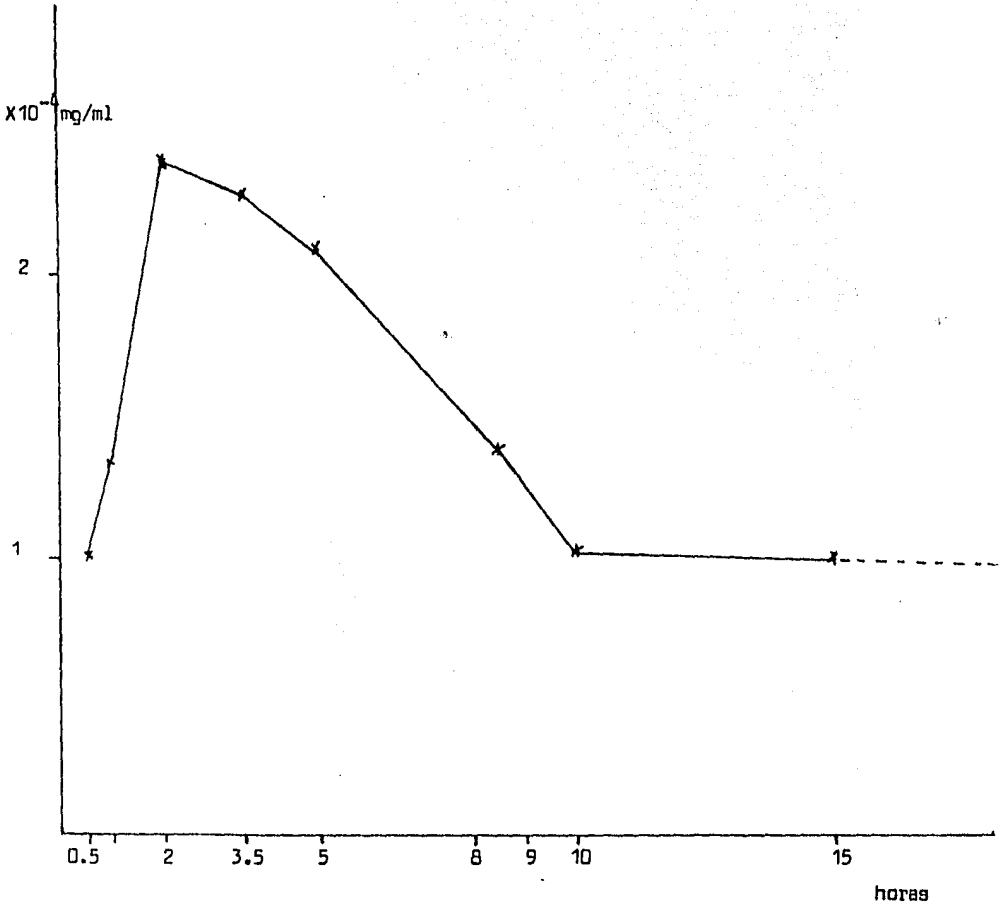


Gráfica # 6 '  
Conejos IVA IVB Vía oral ( capsula)



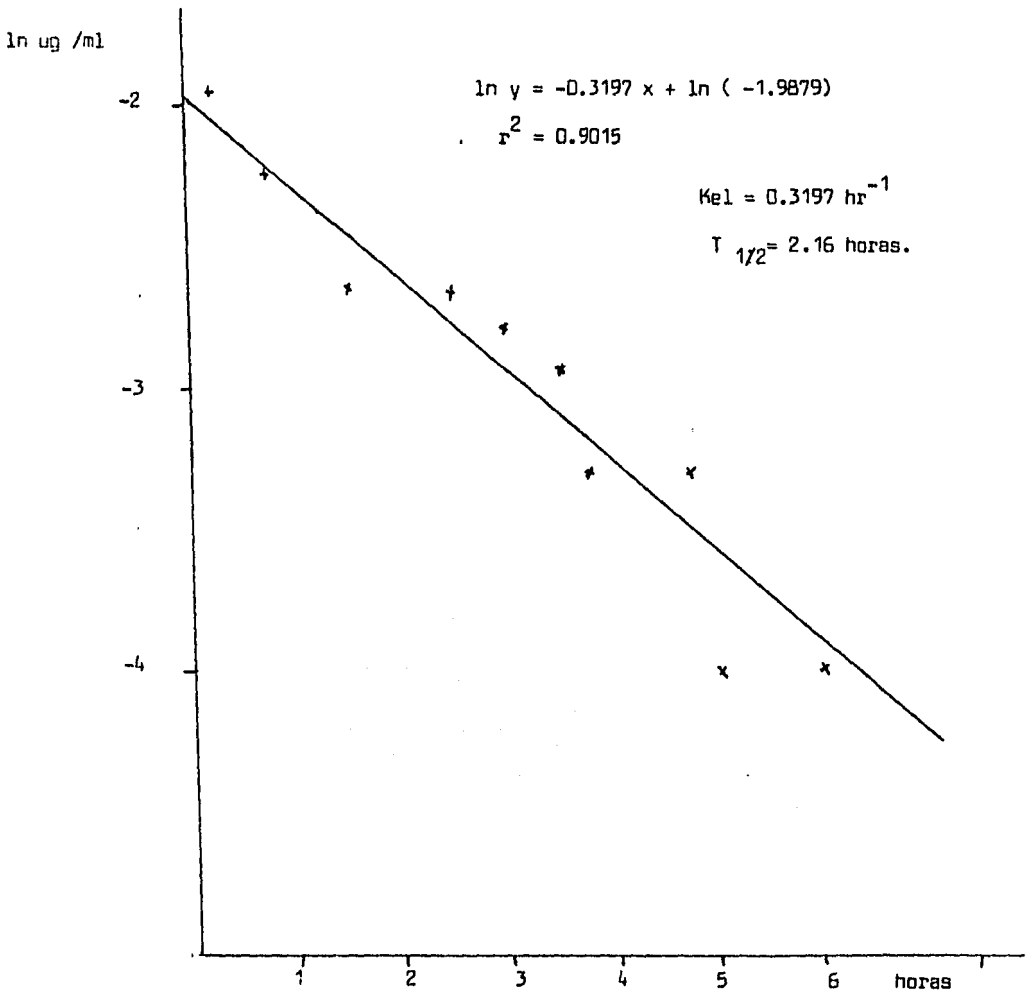
Gráfica # 6

Conejos IVA, IVB Promedios Vía oral en cápsula



Gráfica # 7

Gráfica de calibración para la determinación de alfa asarona en suero administrada por vía intravenosa a 8 conejos ( promedio.).



## DISCUSION DE RESULTADOS

Se hicieron diluciones ( $10^{-2}$ M a  $10^{-6}$ M.) de alfa asarona extraída de la planta Guatteria gaumeri, en diferentes solventes - éter, metanol, acetato de etilo, cloroformo, buscando su longitud de onda máxima, para cada uno, sin embargo las lecturas no corresponden a los de una línea recta, se escoge uno de los solventes para realizar concentraciones intermedias, y se encuentra que de  $1 \times 10^{-6}$ M a  $1 \times 10^{-4}$ M. en cloroformo presenta una línea recta con un coeficiente de regresión de 0.9968.

Se hicieron concentraciones más bajas  $1 \times 10^{-7}$ M. a  $1 \times 10^{-6}$ M. sin embargo no se ve ninguna correlación, se pensó que había interferencia en el solvente, por lo que se utilizó cloroformo grado espectro, no observándose ninguna correlación. Se utilizó alfa asarona sintetizada en el laboratorio y se hicieron concentraciones de  $1.92 \times 10^{-8}$ M. a  $9.60 \times 10^{-6}$ M. en cloroformo grado espectro encontrándose una buena correlación (0.99) . Por lo tanto entre las concentraciones  $1 \times 10^{-6}$ M. a  $1 \times 10^{-4}$ M. podemos detectar alfa asarona extraída de la planta, en cloroformo grado reactivo, pero a concentraciones más pequeñas hay interferencias y no sigue la ley de Beer.

Para la cuantificación de alfa asarona en suero, se realizó el método I, sin embargo no tenemos una buena correlación y el porcentaje de recuperación es bajo, el blanco presenta una lectura muy alta, lo que quiere decir que tenemos mucha interferencia.

Se realiza el método II en el cuál se añade ácido sulfúrico concentrado, pensando en que podría disminuir la interferencia precipitando proteínas, la interferencia disminuye pero el coeficiente de correlación y el porcentaje recuperado también.

En el método III, la extracción de alfa asarona en suero con tetracloruro de carbono, el porcentaje recuperado es muy pequeño.

Los blancos realizados con n- hexano dan lecturas pequeñas por lo que se decidió realizar el método IV, haciendo una extracción con n- hexano, los resultados fueron un coeficiente de correlación muy alto ( 0.9998), sin embargo el porcentaje de recuperación es bajo, por lo que se decidió tomar un menor volumen y hacer 2 extracciones para aumentar el porcentaje de recuperación teniendo un coeficiente de correlación bueno, blancos con lecturas pequeñas y un porcentaje de recuperación alto, los resultados de la curva de calibración en n- hexano se presentan en la TABLA # 1, y los datos de la curva de calibración para la determinación de alfa asarona en suero, y de la linealidad del método se presentan en la TABLA # 2.

Debido a que no se ha determinado la forma farmacéutica adecuada para la alfa asarona se hicieron estudios preliminares por vía oral en aceite de maíz, en donde se observa que la alfa asarona no se absorbe.

Por vía subcutánea en aceite de maíz ( conejos I y III). podemos observar la absorción hasta un pico máximo y después empieza la eliminación hasta las 23 horas donde se mantiene constante, sin embargo éste es el promedio de los 2 experimentos y viéndolos por separado en la Gráfica # 6' podemos ver que su absorción tampoco es homogénea y uno de los factores que pudieron influir es el tamaño de partícula y que no se tiene una formulación adecuada de la alfa asarona en cápsula.

Por lo cual se utilizó vía intravenosa, alfa asarona en solución salina fisiológica, la dosis utilizada es pequeña debida a su baja solubilidad en agua (36). Las curvas estándar de todos los conejos se presentan en la TABLA # 3 .

En una administración intravenosa (rápida) no hay absorción y su distribución en el organismo es rápida, la farmacocinética puede describirse como un simple proceso de transferencia entre -



dos compartimientos; cantidad de fármaco eliminado por las diferentes rutas. La velocidad de eliminación del fármaco correspondiente a una cinética de primer orden (administración intravenosa rápida), ya que es función de la concentración del medicamento en el volumen total del compartimiento. Por lo que tenemos la siguiente ecuación:  $\ln C = K_{el} T + \ln C_0$ ; C concentración del fármaco en sangre,  $K_{el}$  constante de eliminación, T tiempo,  $C_0$  concentración inicial, el tiempo de vida media  $T_{1/2} = 0.693/k_{el}$ .

Los resultados obtenidos del promedio de los ocho experimentos llevados a cabo por vía intravenosa se presentan en la TABLA # 10, y son un coeficiente de correlación alto (0.9015), y una constante de eliminación de  $0.3197 \text{ hor}^{-1}$  con un tiempo de vida media de 2.16 horas.

C O N C L U S I O N E S

- 1.- Alfa asarona sigue la ley de Lambert y Beer en concentraciones  $1 \times 10^{-6}$  M. a  $1 \times 10^{-4}$  M. en Cloroformo, Tetracloruro de carbono, n- Hexano.
- 2.- El mejor solvente para recuperar alfa asarona del suero es el n- Hexano
- 3.- Las concentraciones recuperables del suero con n-Hexano son desde  $1.388 \times 10^{-4}$  mg/ml (  $6.66 \times 10^{-7}$  M.)
- 4.- Por vía oral en aceite de maíz no se absorbe.
- 5.- La alfa asarona sigue una cinética de primer orden por vía intravenosa, su constante de eliminación es de  $0.3197 \text{ horas}^{-1}$ , y su vida media es de 2.16 horas.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Herbario. Anonaceae Guatteria gaumeri  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas I.P.N.
- 2.- Ruiz V.L. .: Acción del Extracto Guatteria gaumeri,  
Sobre los niveles de colesterolemia Tesis 1459 ( antes  
1165) E.N.C.B. Páginas 5 y 6.
- 3.- Usos de las Plantas Medicinales de México.  
Monografías Científicas II I.M.E.P.L.A.M.  
1976 pag 23.
- 4.- Martínez, M. : Plantas Medicinales de México.  
5ª Edición Botas de México 1969 pag 43.
- 5.- Farmacopea Homeopática.  
Dr. Luis G. de Legorreta.  
1959 páginas 260 y 261.
- 6.- Mandoki J.J.C., Krum- Heller.  
"Aislamiento de la aserrona de la corteza de Guatteria  
gaumeri ( Elemuy) y el estudio de su acción hipocolester-  
olemiantes. IV Congreso Nacional de Farmacología Mérida Yu-  
catán.
- 7.- Sánchez R. J., Lerdo de T.: "Acción hipocolesterolemiantes  
de Guatteria gaumeri". Medicina Tradicional 9, 20- 22 1960.
- 8.- Sánchez R. J., Lerdo de T.: "Acción hipolipemiantes de  
Guatteria gaumeri en un paciente con hiperlipemia Tipo IIb  
Medicina Tradicional 9, 22- 24, 1980.
- 9.- Enrique R. G., M. A. Chavéz and F. Jaúregui.: "Propenyl--  
benzenes from Guatteria gaumeri". Phytochemistry 19, 2020  
- 2024 , 1980.

- 10.- Opdyke, D.L.T. : Calamus oil.. *Food Cosmet. Toxicol*, 5  
623- 626 1977.
- 11.- Gracza, L.: "Light Stability of Transoasarone and related compounds". *Deutsche, Apotheke- Seitung* 121, 2541-  
- 2544. 1981.
- 12.- Menon, M.K. Danduja P.C. : Mechanism of tranquilizing action of asarone from *Acorus calamus* Linn. *J. Pharm. Pharmacol*, 19, 170- 175 1967.
- 13.- Murty, B.S., R.M. Baxter.: "New Compound: Structural Analogs Related to Asarone and Mexcaline ".*J. Pharm. Sci.* 59, 7 1042- 1043, 1970.
- 14.- Rost. L.C. Bos.: "Biosystematic Investigations with *Acorus L.* *Planta Médica* 36, 350- 361 1979.
- 15.- Schaeberg P., and F. Paris.: *Guía de las plantas medicinales Omega pag*; 275-276, 1979.
- 16.- Stahl., E. and K. Keller.: "Zur Klasifizierung Handelsüblicher Kalmusdrogen". *Planta Médica* 43, 128-140, 1981.
- 17.- Taylor, J.M. et. al.: " 2,4,5, trimetoxipropenylbenzene ( alfa asarone)". *Chem. and. engineering News* 16, 24 1979.
- 18.- Baxter, R.m.c. G.L. Kandel.: "Cis Trans isomers of asarone their liquid- gas., chromatographic behavior and that of certain other propenylphenolethers". *Can. J. of Chem*, 40, 154-157. 1962.
- 19.- Gracza, Lajos.: In vitro Study of the expectorant effects of phenylpropane derivatives of Hazel worth. *Planta Médica* 42 J. (2) 155- 159 1981.

- 20.- Herbario. Annonaceae. Guatteria gaumeri.: Escuela Nacional de Ciencias Biológicas I.P.N.
- 21.- Patra A. and Mitra, A. K.: "Constituents of Acorus calamus; structure of acorus Carbon 13 NMR. spectra de Cis Trans asarone+. J. of Nat. Prod. 44, 668-669, 1981.
- 22.- Gatterman. L. an K. Eggers.: "Sinthese des asarons". Berichte der Deutsche Chemischen 32, 289-291, 1899.
- 23.- Seshadri, T. R. and Thiruvengadam T.R.: "A nes Synthese of Asarone". Pro. In. Acad. of Sci 32 A 110 113 1950.
- 24.- Dandiga P.C. and Menon M.K.: "Action of asarone on behavior stress and hiperpyresis and its interaction with the control stimulants". J. Phar. exp. 145, 42- 46 1964.
- 25.- Yuco Yobiku E.: "Oleo de cáalamo" Aspectos toxicológicos e seu contrle en bebidas alcóolicas. Trabalho a presentado a facultade de Ciencias Farmaceuticas da Universidad de Sao Paulo Brzil para obtencao do título de Mestre en Ciencias dos Alimentos 1980.
- 26.- Jenner P.M.: Food Flavouring and compounds of related structure. Food. Cosmet. Toxicol. London 2, 327-43, 1964.
- 27.- Oswald E. O. : Metabolism of Naturally occurring propenyl-benzene derivatives. Chromatographic separation of ninhydrin-positive material of rat urine. J. Chrom. Amsterdam 45, 437- 45 1969.
- 28.- Sharma J.D. Dandija P.C. : "Studies on Acorus calamus Pharmacological actions of asarone and beta asarone in cardiovascular system and smooth muscule". In. R. Med. Res. 50, (1) 61-65 1962.
- 29.- Absortion and Distribution of drugs. : Brodie B.B. Ed Binns T. B. Baltimore Williams & Wilkins 1964, Pag: 199.

- 30.- Metabolism and Pharmacokinetics.  
Wolfgang Sadeé, Geertruida C.M. Beslen  
A. Willey Interscience Publication  
John Willy & Sons 1980 pag 33.
- 31.- Borga O., Azarnoff D.L. Phlym Forshell. G.  
Plasma Protein Binding of tricyclic antidepressant in man  
Biochem. Pharm. 18, 2135- 2143 1969.
- 32.- Lund., L. Lunde, Rane P.K.M. Borga, Sjöquist F.  
Plasma protein binding plasma concentration and effects  
of diphenylhydantoin in man.  
An. N.Y. Acad. Sci., 179, 723-728 1971.
- 33.- Alexanderson, B. & Borga O.  
Interindividual difference in plasma protein binding nor-  
triptylíne in man a twin study.  
Europ. J. Clin. Pharm. 4 , 196- 200 1972
- 34.- Methodological developments in Biochemistry  
Assay of drugs and others trace compound in Biological  
Fluids. Vol.5.  
Eric Reid.  
Editor Worth Holland Publishing Company.  
Amsterdam, New York Oxford 1975.  
pag: 108- 112.
- 35.- Drug Level Monitorin Analytical Techniques. Metabolism and  
Pharmacokinetics.: Wolfgang Sadeé, Geertruida C.M. Beslen.  
A. Willey- Interscience Publication  
John Willey & Sons. 1980. Pag; 73- 74.
- 36.- The Merck Index.  
9<sup>a</sup> Edición 1976.  
Pag 846 ( 847).