

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y**

**BIOQUÍMICA**



**Evaluación del efecto broncodilatador del extracto  
fluido de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena"  
en tráquea aislada de *Cavia porcellus*  
"cobayo". Ayacucho – 2011**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO**

**FARMACÉUTICA**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. BAUTISTA LIVIA, Emma Edith**

**AYACUCHO-PERÚ**

**2012**

## DEDICATORIA

*Quiero dedicarle este trabajo.*

*A Dios que me ha dado la vida y fortaleza para  
terminar este proyecto de investigación.*

*A mis Padres Carlos y Edith por estar ahí  
cuando más los necesité.*

*A mi hermana, cuñado y a mi adorado sobrino  
Luicito por su ayuda y constante cooperación.*

*A mi novio Ovidio por apoyarme y ayudarme  
en los momentos más difíciles, te amo.*

*Emma*

## *AGRADECIMIENTO*

*A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por brindarme la oportunidad de lograr mi profesión.*

*A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y a los Docentes que laboran en ella, por brindarme sus conocimientos y compartir sus experiencias durante mi formación profesional.*

*A mi asesor Q.F. Marco Rolando Arones Jara, por su dedicación y orientación para el desarrollo del presente trabajo.*

*A todas las personas que, de alguna forma contribuyeron con la ejecución de este trabajo de investigación.*

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	MARCO TEÓRICO.....	3
2.1.	Antecedentes.....	3
2.2.	Aspectos botánicos de la <i>Mentha aff. arvensis</i> L. "hierba buena".....	5
2.2.1.	Clasificación Sistemática.....	5
2.2.2.	Características botánicas de la familia Lamiaceae.....	5
2.2.3.	Descripción de la especie <i>Mentha aff. arvensis</i> L. "hierba buena".....	6
2.2.4.	Habitad.....	7
2.2.5.	Usos medicinales.....	7
2.3.	Droga, principios activos y descripción de los Metabolitos Secundarios ...	7
2.3.1.	Aceites Esenciales.....	8
2.3.2.	Saponinas.....	8
2.3.3.	Cumarinas.....	9
2.3.4.	Taninos.....	9
2.3.5.	Alcaloides.....	9
2.3.6.	Triterpenos.....	9
2.4.	Aparato Respiratorio.....	10
2.5.	Acetilcolina.....	12
2.5.1.	Mecanismo de acción de la Acetilcolina.....	12
2.6.	Broncodilatadores.....	13
2.7.	Estimulantes Beta – Adrenérgicos.....	13
2.7.1.	Aspectos farmacológicos de los Beta –Adrenérgicos.....	14
2.7.2.	Mecanismo de acción de los Beta-Adrenérgicos.....	14
2.7.3.	Identificación de los Beta –Adrenérgicos.....	15
2.7.4.	Dosificación y posología de los Beta-Adrenérgicos.....	15
2.8.	Fármacos Anticolinérgicos.....	15
2.8.1.	Aspectos farmacológicos de los Anticolinérgicos.....	16
2.8.2.	Mecanismo de acción de los Anticolinérgicos.....	16
2.8.3.	Indicaciones y contraindicaciones de los Anticolinérgicos.....	16
2.9.	Teofilinas.....	16
2.9.1.	Aspectos farmacológicos de las Teofilinas.....	16
2.9.2.	Mecanismo de acción de las Teofilinas.....	17
2.9.3.	Indicaciones y contraindicaciones de las Teofilinas.....	17
2.10.	Salbutamol.....	17
2.10.1.	Mecanismo de acción del Salbutamol.....	18
2.10.2.	Efectos secundarios del Salbutamol.....	18



2.11.	Metabolitos secundarios y patología del Aparato Respiratorio.....	18
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1.	Ubicación.....	21
3.2.	Materiales.....	22
3.2.1.	Población.....	22
3.2.2.	Muestra.....	22
3.2.3.	Material biológico.....	22
3.3.	Procedimiento experimental.....	22
3.3.1.	Recolección y desecación.....	22
3.3.2.	Molienda.....	22
3.3.3.	Obtención de extractos para Tamizaje Fitoquímico.....	22
3.3.4.	Identificación Fitoquímica.....	23
3.3.5.	Obtención del Extracto Fluido.....	25
3.3.6.	Estudio Farmacológico.....	26
3.4.	Análisis Estadístico.....	28
IV.	RESULTADOS.....	29
V.	DISCUSIÓN.....	36
VI.	CONCLUSIONES.....	40
VII.	RECOMENDACIONES.....	41
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
ANEXOS		

## I. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional es un conjunto de conocimientos y prácticas que tiene como fundamento el saber médico ancestral de la población modificado a lo largo de los siglos por la influencia de la medicina popular, la religión cristiana, etc.; es una práctica que se transmite por la tradición familiar o comunitaria, que tiene sus propios agentes de salud y sus ideas específicas sobre la enfermedad y curación.

Como se sabe las plantas elaboran dos productos químicos: los principios inmediatos y los principios activos, siendo estos últimos los que ejercen la actividad farmacológica.

En nuestro país y específicamente en nuestra región existen muchas plantas medicinales que son utilizadas en el tratamiento de diversas patologías, muchas de ellas carecen de base científica, por ello es necesario realizar estudios y de esta manera contribuir con el uso adecuado de la población.

El empleo de las plantas medicinales atribuidas con efectos broncodilatadores por presentar en su composición diferentes principios activos que son propios de esta actividad como: la manzanilla, culantro de pozo, hierba buena, hinojo, anís, muña, oqe-gora, eucalipto, borraja, hierba buena etc. con

incompleta información científica que lo sustente, han generado su consumo empírico siguiendo en muchos casos la creencia popular.

La *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena", es empleada por su propiedad broncodilatadora y por esta razón se desarrolló el presente trabajo de investigación que estuvo orientado a conocer los principales metabolitos secundarios mediante un tamizaje fitoquímico y corroborar el efecto broncodilatador del extracto fluido de esta especie utilizando la técnica de órganos aislados y que son contrastados con drogas patrones, en este caso la acetilcolina que tiene una acción espasmogénica a nivel de la musculatura lisa.

Este trabajo se desarrolló teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

**Objetivos Generales:**

- Evaluar el efecto broncodilatador del extracto fluido de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" en tráquea aislada de *Cavia porcellus* "cobayo".

**Objetivos Específicos:**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de las hojas de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena".
- Evaluar las respuesta contráctil de la tráquea aislada en *Cavia porcellus* "cobayo" por efecto de la administración del extracto fluido de las hojas de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena".
- Evaluar la respuesta contráctil de la tráquea aislada en *Cavia porcellus* "cobayo" por efecto de la administración de jarabe de Salbutamol 2 mg/ 5 mL.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. ANTECEDENTES**

La medicina tradicional, suele estar presente en los países en vías de desarrollo; la O.M.S. estima que actualmente alrededor de un 80% de los habitantes del planeta recurren a remedios tradicionales, donde las plantas medicinales son fuentes para la obtención de fármacos fitoterapéuticos que mediante transferencias de tecnologías, se evalúe la calidad y eficacia de estas medicinas con la ayuda de técnicas modernas (Chifa, 2001).

De esta forma se busca normalizar la creciente “comercialización de plantas o partes de plantas en su estado natural para su uso terapéutico directo sin el procesamiento químico al que están sometidos los fármacos”, lo que en medicina se denomina fitoterapia (Chifa, 2001).

De todos modos, el 25 por ciento de los fármacos actuales tienen su origen en alguna planta, y es aún mayor el porcentaje de las que tienen un principio activo vegetal: por ejemplo Taxol, el fármaco antioncológico más vendido del mundo, se extrae de la corteza del tejo del pacífico; la aspirina viene de la corteza del sauce y la morfina de las amapolas (Angulo, 1988).

Fernández y col. (2005); realizó el trabajo de investigación "Efecto antiespasmódico de la infusión de *Mentha aff. arvensis L.* sobre el íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo". Ayacucho-2005, en el cuál concluyó que dicho extracto presentaba efecto antiespasmódico frente a la Acetilcolina. Dicho resultado motivo el presente trabajo de investigación, ya que dicho neurotransmisor también se encuentra a nivel del músculo liso bronquial.

Torres y col. (2007); realizó el trabajo "Formulación y evaluación del efecto broncodilatador del jarabe elaborado a base de extracto fluido de *Borago officinalis L.* y aceite esencial de *Eucalyptus globulus Labill.* Ayacucho-2005", en el cuál concluyó que los jarabes elaborados (fórmula Nº 01, 02 y 03) presentan un efecto broncodilatador similar al jarabe salbutamol 2mg/5 mL., al inhibir el espasmo producida por la acetilcolina. Este trabajo permitió establecer que la prueba experimental de tráquea aislada reportaba datos fiables.

Otro trabajo de investigación realizado en nuestra Universidad, en órganos aislados, es la investigación que lleva por título: "Efecto Antiespasmódico de los extractos de *Melissa Officinalis L.* "Toronjil" en íleon aislado con el objetivo de determinar la acción espasmolítica de los extractos acuoso y alcohólico de *Melissa Officinalis L.* "Toronjil" a diferentes concentraciones (dosis): 5% y 15%. Se observó y registro la respuesta contráctil máxima del íleon en presencia de acetilcolina, lo que sirvió de base para calcular los valores relativos en milímetros de respuesta contráctil del órgano a la acetilcolina, en presencia de los extractos acuoso y alcohólico al 5 y 15% y utilizando atropina como fármaco de referencia, donde llegó a determinar el efecto antiespasmódico (Espinoza, 2004).

## 2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS

### 2.2.1. Clasificación sistemática de la *Mentha aff. arvensis* L.

Sistema de clasificación de Cronquist (1988):

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsysda
Sub clase	:	Asteridae
Orden	:	Lamiales
Familia	:	Lamiaceae
Género	:	<i>Mentha</i>
Especie	:	<i>Mentha aff. arvensis</i> L.
Nombre vulgar	:	“hierba buena”.

(Anexo N° 1)

Fuente: Constancia emitida por el Museo de Historia Natural de la UNMSM.

### 2.2.2. Características botánicas de la familia Lamiaceae (Mostacero, 1993).

La Familia Lamiaceae comprende plantas del más variado porte: hierbas (anuales o perennes), lianas, arbustos y pequeños árboles, generalmente con aceites esenciales, aromáticos.

**Tallos y Ramas.-** Cuadrangulares o tetragonos, glabros o pubescentes, los pelos a menudo glandulosos.

**Hojas.-** Opuestas o verticiladas, simples o pinnati-partidas o raramente compuestas, pecioladas o sésiles, sin estipulas, mayormente pinnatinervias.

**Inflorescencias.-** en cimas formando verticilastros de pocas o muchas flores que se reúnen en pseudo espigas o capítulos.

**Flores.-** Solitarias a menudo sésiles en las axilas. Flores hermafroditas, zigomorfas o raramente actinomorfas, con o sin bracteolas, sésiles o pediceladas. Cáliz persistente, generalmente acrescente, imbricado, bilabiado o regular, a veces con 5 - 10 - 13 o 15 costillas (nervios), tomentosos, pubescentes

o glandulosos. Corola gamopétala, 5-lobulada, bilabiada, labio superior plano o cuculado, labio inferior trilobulado. Estambres 3-4 epipétalos, mayormente didínamos, libres (monadelfos en *Coleus*), anteras 2-1, oculares, con dehiscencia longitudinal; lóculos paralelos o divergentes, conectivos a veces muy desarrollados (salvia). Ovario supero, bicarpelar, 4-locular, placentación basal; óvulos 1 por lóculo, anátropos; estilo filiforme, ginobásico o terminal; estigma simple o bifido.

**Fruto.-** Tetraquenio, descompuesto en 4 núculas (muy raramente carnosos), incluso en el cáliz persistente y a veces acrescente.

**Semillas.-** Con endospermo escaso o nulo. La familia comprende unos 200 géneros con 3200 especies esparcidas en las zonas cálidas y templadas del globo, con el centro de la distribución en la región mediterránea; del Perú se conocen 22 géneros entre espontáneos y cultivados. Entre sus géneros figuran el *Rosmarinus* (3 especies), *Salvia* (500- 900 especies), *Satureja* (200 especies), *Stachys* (250-300 especies), *Melissa* (3-4 especies), *Mentha* (25-30 especies), *Mithostachys* (12 especies), *Ocimum* (50-60 especies), *Origanum* (25-30 especies), *Marrubium* (40 especies), *Marsypianthes* (3 especies), *Leonorus* (4 especies), etc.

### **2.2.3. Descripción de la especie *Mentha aff. arvensis* L.**

La *Mentha aff. arvensis* L. es conocida también como "menta japonesa". Es una planta herbácea de 50 a 90 cm de altura. Presenta un tallo cuadrangular, glabro, ramificado y con manchas violetas. Las hojas son opuestas con un pecíolo corto, acuminadas, con la base asimétrica y con los bordes del limbo acerrados. Las inflorescencias son falsas espigas con pequeñas bracteadas. Las flores son de un color violeta y tienen un olor característico fuerte a mentol. Es por ello que están reforzadas aquellas propiedades que son específicamente

atribuidas al aceite y al mentol como las antisépticas, antiespasmódicas y fungicidas (Leal, 1988).

En cuanto a su composición química la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" contiene un aceite esencial, utilizado en su casi totalidad para la extracción de mentol. Existen otros componentes identificados en la esencia como: acetato de mentilo, canfeno, limoneno, cariofileno, valerianato de mentilo, mentona, piperitona, furfurool, alcohol etílico, pineno, etc.(Bandoni, 2000).

#### **2.2.4. Hábitad**

La *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" es una planta nativa de la zona templada norte, naturalizada en Estados Unidos, introducida en Cuba y cultivada en muchos países a 1,500 - 2,700 m.s.n.m. (Leal, 1988).

#### **2.2.5. Usos medicinales**

La infusión o decocción de la planta se usa por vía oral para tratar afecciones digestivas (cólico, indigestión, diarrea dispepsia, flatulencia, gastralgia, náusea, vómito), dismenorrea, dolores, reumatismo y neuralgia.

Tópicamente se usa en cataplasma y compresas para tratar abscesos, piodermis, reumatismo y tumores; en baños para desodorizar los pies, lavar heridas y raspones. La decocción y el jugo de hojas se aplican en cataplasma y baños para cáncer, endurecimientos, tumores y úlceras.

Se le atribuye propiedad analgésica, antiséptica, antiemética, calmante, carminativa, diaforética, digestiva, diurética, emenagoga, espasmolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, febrífuga, hipotensora, sudorífica y vermífuga (Cáceres, 1991).

### **2.3. DROGA, PRINCIPIO ACTIVO Y DESCRIPCIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS (Tyler, 1979)**

La buena calidad de una droga es de importancia fundamental se debe tratar de alcanzar y mantener ese nivel de calidad, siendo los medios más



importantes para cumplir con ese objetivo:

- La recolección de la droga de una fuente natural debe ser correcta, en el momento apropiado y de la manera adecuada.
- La preparación conveniente de la droga recolectada por limpieza, secado y pulverizado.
- La preservación de la droga pura, limpia y seca.

**Droga.-** Es una sustancia simple o compuesta, natural o sintética que puede emplearse en la elaboración de medicamentos, medios de diagnóstico, productos dietéticos, cosméticos u otra forma, que pueden o no modificar la salud de los seres vivos (Cotillo, 1999).

**Principio Activo.-** Es la sustancia química más importante desde el punto de vista farmacológico y la responsable de la acción farmacológica de la droga, por ejemplo la morfina y codeína en el opio (Cotillo, 1999).

### **2.3.1. ACEITES ESENCIALES**

Son sustancias aromáticas, olorosas y volátiles. Se trata de mezclas de moléculas muy diversas, normalmente derivadas del terpeno, pero que también pueden contener alcoholes, fenoles, aldehídos, cetonas, ésteres e incluso nitrógeno y azufre. Se encuentran en cualquier parte del tejido vegetal normalmente se depositan en células especiales, vías o pelos oleaginosos. Se encuentra en un número restringido de familias, pertenecientes a los órdenes de las Magnoliales, Laurales, Lamiales, Rutales y Asterales (Lock, 1994).

### **2.3.2. SAPONINAS**

Son glicósidos de estructura triterpenoide o esteroide, dan soluciones jabonosas amargas, muy solubles en agua, disminuye la tensión superficial de ésta, al agitar la solución acuosa forma espuma abundante y relativamente estable. Posee propiedades hemolíticas (Lock, 1994).

### **2.3.3. CUMARINAS**

A las cumarinas se les atribuye diversas actividades farmacológicas tales como: acción anticoagulante y antibacterial, acción insecticida cabe destacar también aplicaciones de las cumarinas como saborizante y en la perfumería (Limaylla, 1985).

### **2.3.4. TANINOS**

Los taninos son sustancias astringentes que abundan en los vegetales, disueltas en la savia celular. Se encuentran especialmente en la corteza de los árboles, en las hojas y en frutos inmaduros. Su composición química es variable pero poseen una característica común, la de ser astringente y coagular los alcaloides, albuminas y metales pesados. Externamente las decocciones, se emplean para detener hemorragias locales; en inflamaciones de la cavidad bucal, catarros, bronquitis, quemaduras, etc. Internamente son útiles contra la diarrea, enfriamiento intestinal, afecciones vesiculares, y como contraveneno en caso de intoxicación por alcaloide vegetal (Cronquist, 1988).

### **2.3.5. ALCALOIDES**

Son sustancias orgánicas nitrogenadas, con propiedades básicas, de origen vegetal en su mayoría. Poseen una complejidad molecular que causa algunos potentes efectos fisiológicos en el cuerpo. Parece que se forman a partir de aminoácidos; son de naturaleza básica y se unen a radicales ácidos para formar sales. Ej. Morfina, cocaína, atropina, etc. (Cronquist, 1988).

### **2.3.6. TRITERPENOS Y ESTEROIDES**

Son compuestos con un esqueleto carbonado basado en seis unidades de isopreno que derivan biogenéticamente del escualeno, hidrocarburo acíclico de 30 carbonos. Son de estructura relativamente compleja generalmente tetracíclico o pentacíclico con grupos hidroxilos, aldehídos o cetonas y ácido carboxílico. Muchos se encuentran como glicósidos formando las llamadas

saponinas triterpenoides. Los esteroides biogénicamente se relacionan con los triterpenoides. Se clasifican como esteroides, saponinas esferoidales, glicósidos cardiacos, esteroalcaloides y las llamadas hormonas esferoidales (Bruneton, 1991; Lock, 1994 y Cáceres, 1991).

#### **2.4. APARATO RESPIRATORIO**

El aparato respiratorio tiene como función primordial el transporte del aire desde el exterior hasta los alvéolos pulmonares, donde se produce el intercambio gaseoso. Las vías aéreas o tracto respiratorio (nariz, faringe, laringe y bronquios) constituyen a la vez estructuras de conducción y protección, puesto que disponen de mecanismos de defensa para que el aire entrante llegue hasta el delicado tejido alveolar en óptimas condiciones.

Las fosas nasales poseen una mucosa muy vascularizada, lo que facilita el calentamiento del aire inspirado. Dicho aire es también humedecido mediante el contacto con la secreción de la citada mucosa. A su vez, esta secreción, junto a las posibles partículas extrañas, es drenada hasta la faringe mediante el movimiento de los cilios del epitelio. La faringe, a su vez, es la vía de paso del aire, constituyendo la laringe el órgano de fonación (Flores, 1992).

Los bronquios están tapizados por una mucosa, que posee también un epitelio ciliar que se extiende desde la tráquea hasta los bronquiolos. Estos cilios, como los mencionados con anterioridad poseen un movimiento ondulatorio que tienen por objeto arrastrar el moco y las partículas extrañas hacia la faringe, desde donde son deglutidas normalmente. Esta limpieza se ve facilitada por el reflejo de la tos que favorece la expectoración.

Los síntomas más característicos de muchas afecciones respiratorias son la tos, la mucosidad y la expectoración (Rodríguez y Col., 2002).

La tos constituye el síntoma más frecuente en la patología respiratoria y está presente en afecciones comunes como el resfriado, las anginas, la gripe,

etc. El reflejo de la tos nace por irritación de los receptores nerviosos de la mucosa de las vías aéreas o de la pleura. Consiste en una inspiración profunda, seguida de una expiración forzada con la glotis cerrada y, cuando la presión es suficiente, se abre la glotis y se produce una corriente de aire que expulsa el material extraño de las vías aéreas. La tos y el sistema mucociliar son mecanismos de defensa mecánica que se encargan de expulsar violentamente en el caso de la tos o lentamente a través del transporte mucociliar, aquellas secreciones, partículas, gérmenes, etc., que obstruyen o irritan las vías respiratorias (Rodríguez y Col.,2002).

El origen de la tos es muy variado y existen diferentes clasificaciones de los tipos de tos, aunque nosotros solo vamos a diferenciar entre tos seca y tos húmeda. La tos seca se conoce también como no productiva, porque no se acompaña de eliminación de secreciones bronquiales y, en general se recomienda su control con los preparados antitusivos.

La tos productiva es aquella que se acompaña de expectoración más o menos abundante y fluida. Esta tos (húmeda o blanda) no debe ser tratada con antitusivos, porque ello retardaría la eliminación de la secreción. Cuando esa secreción es demasiado escasa o demasiado viscosa para facilitar el drenaje de las vías respiratorias, es el momento en que están indicados los mucolíticos y expectorantes.

La tos será considerada crónica si se produce durante un período superior a 2 - 3 semanas y aguda si dura un tiempo inferior. La duración de la tos puede señalar la causa de la misma. Si se trata de una tos aguda, puede indicar una afección viral o bacteriana; si es crónico un proceso retrofaringeo (Flores, 1992).

## **2.5. ACETILCOLINA**

La acetilcolina se biosintetiza en el citoplasma de las terminaciones axónicas, se almacena en las vesículas, liberándose por estimulación neuronal, se destruye por la acetilcolinesterasa hidrolizándola a ácido acético y colina. Las respuestas fisiológicas a la acetilcolina dependen del lugar en el que actúa en la placa motora terminal e inicia una serie de fenómenos que conducen a la contracción del músculo. La acción de la acetilcolina en los ganglios del sistema autónomo periférico es posiblemente similar, la primera función de la respuesta autónoma postganglionar a la acetilcolina estriba en el mantenimiento de las funciones fisiológicas. La acetilcolina ejerce acción sobre los receptores muscarínicos y en algunos casos sobre los receptores nicotínicos, los receptores muscarínicos están situados en las terminaciones postganglionares autónomas y las acciones que se califican como muscarínicos comprenden: Inhibición cardíaca, vaso dilatación periférica, contracción de la pupila ocular, aumento de la salivación y del flujo de la mayoría de las glándulas secretorias, contracción y acción peristáltica de los tractos gastrointestinal y urinario. Los receptores muscarínicos de la acetilcolina se encuentran en mayor densidad en el músculo liso bronquial, en menor grado en los bronquiolos proximales y está ausente en los distales. Su activación produce broncoconstricción acusada, con signos de tiraje y ruidos respiratorios. Estimulan las células mucosas y serosas de las glándulas de la submucosa, incrementando la secreción de líquido, iones y glucoproteínas en la tráquea y los bronquios (Flores, 1992).

### **2.5.1. Mecanismo de acción de la acetilcolina**

La acetilcolina es hidrolizada rápidamente por la acetilcolinesterasa mediante un proceso sucesivo de acetilación de la enzima, separación de la colina y separación del grupo acetilo. Por definición, los inhibidores de la acetilcolinesterasa interfieren en este proceso al interactuar con la enzima e

inactivarla, pero lo consiguen por mecanismos algo diferentes. De la intensidad con que se fijan a la enzima y de la rapidez con que se revierte espontáneamente dicha fijación dependen de la intensidad y la duración de la acción anticolinesterásica (Flores, 1992).

## **2.6. BRONCODILATADORES**

Los fármacos broncodilatadores son sustancias que relajan la musculatura lisa del árbol respiratorio a través de diferentes mecanismos. Con ello disminuyen la obstrucción de la vía aérea, mejoran las alteraciones de la función pulmonar y alivian las manifestaciones clínicas que ocasiona la reducción de la luz bronquial.

Entre los distintos fármacos broncodilatadores, tenemos: los estimulantes beta-adrenérgicos, sobre todo los que actúan sobre los receptores de tipo beta-2, los anticolinérgicos antimuscarínicos de acción corta y las teofilinas de acción prolongada (Rodríguez y Col., 2002).

## **2.7. ESTIMULANTES BETA-ADRENÉRGICOS**

Conocidos también como simpaticomiméticos o betamiméticos, siguen siendo en la actualidad, los broncodilatadores más usados y eficaces. A partir de la adrenalina, aislada en 1902, se fueron sintetizando nuevas sustancias con propiedades agonistas beta-adrenérgicas, en un intento de conseguir una mayor selectividad en el estímulo de los receptores beta-2 adrenérgicos; Land, pudo subdividir los receptores beta en dos variedades: los beta-1, localizados en el corazón y en el músculo liso intestinal, y los beta-2, situados en el músculo liso bronquial, vascular y en la mucosa uterina. Actualmente, los fármacos más utilizados son el salbutamol y la terbutalina, entre los de acción inmediata, y el salmeterol y el formoterol, entre los de acción sostenida (Rodríguez y Col., 2002).

### **2.7.1. Aspectos farmacológicos de los beta - adrenérgicos**

Algunas sustancias beta-adrenérgicas, como la adrenalina o el isoproterenol, tienen la estructura química de las catecolaminas, son casi inactivas por vía oral, se transforman por la monoaminoxidasa (MAO) y la catecol-orto-metiltransferasa, la duración de su acción es muy corta y se excretan por la orina (Rodríguez y Col., 2002).

### **2.7.2. Mecanismo de acción de los beta - adrenérgicos**

El receptor beta-adrenérgico es una glucoproteína de gran tamaño, que atraviesa la membrana celular y cuyo peso molecular oscila entre 64.000 y 80.000 daltons. El agonista se fija, a través del medio acuoso, en la porción activa del receptor, que se encuentra en el medio lipídico de la membrana. Cuando un agonista ocupa el receptor beta se activa la subunidad alfa de la proteína G, que es una molécula que capta las señales externas que llegan a la membrana celular y las transforma en estímulos para los sistemas efectores. En este caso, la unión del fármaco al receptor pone en marcha una cascada de cambios bioquímicos intracelulares. Estos cambios, llevan a la activación de la adenilciclase en la superficie de la membrana celular, tienen como episodio final la broncodilatación. La adenilciclase induce la formación intracelular de 3,5-adenosín monofosfato cíclico (AMPc), a partir del adenosín trifosfato (ATP). El AMPc actúa como segundo mensajero intracelular y activa la proteína cinasa A. Esta molécula, a su vez, fosforiliza una serie de proteínas intracelulares. En el músculo liso de las vías respiratorias inhibe la fosforilación de la cadena ligera de la miosina y promueve el intercambio del calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) intracelular por el sodio ( $\text{Na}^+$ ) de fuera de la célula, lo que ocasiona una disminución del primero. El AMPc también puede inhibir la liberación del  $\text{Ca}^{2+}$  desde los depósitos intracelulares, favoreciendo así la relajación del músculo liso bronquial y la broncodilatación. Existe, además, otro mecanismo, independiente del AMPc,

para facilitar la broncodilatación. Actúa abriendo los canales de potasio de la membrana del miocito bronquial, como consecuencia directa de la unión del agonista beta-adrenérgico con su correspondiente receptor (Rodríguez y Col.,2002).

### **2.7.3. Indicaciones de los beta - adrenérgicos**

El efecto principal de los estimulantes beta-adrenérgicos es la relajación del músculo liso de la vía aérea. Esta acción se produce con independencia, cuál sea el factor desencadenante de la broncoconstricción (un alergeno, el frío o la inhalación de irritantes inespecíficos). Los agonistas beta-2 adrenérgicos inhalados de acción corta, como el salbutamol o la terbutalina, son los fármacos de elección, por su rapidez de acción, eficacia y elevado índice terapéutico, para conseguir el alivio inmediato del broncospasmo provocado por el ejercicio o cualquier otro estímulo (Rodríguez y Col., 2002).

### **2.7.4. Dosificación y posología de los beta - adrenérgicos**

Los agonistas beta-2 adrenérgicos son fármacos que pueden administrarse por distintas vías. La más habitual, además de eficaz, es la inhalada; la oral, que produce más efectos secundarios, apenas se emplea actualmente. En las agudizaciones graves o en las crisis de broncospasmo puede utilizarse la adrenalina, la terbutalina o el salbutamol por vía subcutánea o, incluso, el salbutamol por vía intravenosa (Rodríguez y Col., 2002).

## **2.8. FÁRMACOS ANTICOLINÉRGICOS**

Los aerosoles de atropina se han usado como broncodilatadores desde finales del siglo XIX. Su limitación más importante esta en relación con el estrecho margen terapéutico de esta sustancia. En la actualidad el anticolinérgico más utilizado es el Bromuro de Ipratropio. El comienzo de su acción es relativamente tardío (entre 15 y 30 minutos). Alcanza la



broncodilatación máxima entre 30 minutos y 3 horas después de su inhalación y su efecto dura entre 4 y 6 horas (Rodríguez y Col., 2001).

### **2.8.1. Aspectos farmacológicos de los anticolinérgicos**

El Bromuro de Ipratropio es un derivado cuaternario de la atropina, cuando se administra por vía inhalatoria, el fármaco que no va al tracto respiratorio y se deglute, apenas se absorbe en el intestino. Las moléculas que pasan a la circulación se eliminan con la orina. La Atropina y el Ipratropio son antagonistas no selectivos de los receptores muscarínicos que bloquean competitivamente la acción de la acetilcolina (Rodríguez y Col., 2001).

### **2.8.2. Mecanismo de acción de los anticolinérgicos**

Los anticolinérgicos bloquean los receptores muscarínicos de las células musculares lisas bronquiales y posiblemente también los de las glándulas submucosas (Rodríguez y Col., 2001).

### **2.8.3. Indicaciones y contraindicaciones de los anticolinérgicos**

En los enfermos asmáticos el Bromuro de Ipratropio tiene menos potencia broncodilatadora que el Salbutamol o el Fenoterol. Sin embargo, es el fármaco de elección en el tratamiento de la Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). En los pacientes con esta enfermedad el Ipratropio mejora la función pulmonar y la calidad de vida, y aumentan la tolerancia al ejercicio, sin que se produzca taquifilaxia cuando su uso se prolonga en el tiempo. El Ipratropio está contraindicado en los enfermos con una hipersensibilidad conocida a la atropina o a los derivados de esta sustancia (Rodríguez y Col., 2002).

## **2.9. TEOFILINAS**

Las Teofilinas o Metilxantinas pueden administrarse por vía oral. Esta característica diferencia a estas sustancias del resto de los broncodilatadores.

### **2.9.1. Aspectos farmacológicos de las Teofilinas**

La Teofilina es una xantina, en concreto la 1,3-dimetilxantina, que se presenta en forma anhidra. Es poco soluble en agua, por lo que debe mezclarse con una base, para constituir la aminofilina, cuando quiere usarse por vía parenteral. Las teofilinas de liberación lenta o retardada tienen que desintegrarse en el estómago antes de que puedan absorberse en el intestino. Alcanzan su concentración plasmática máxima al cabo de 4 a 6 horas (Flores, 1992).

### **2.9.2. Mecanismo de acción de las Teofilinas**

El mecanismo de acción de las teofilinas no se conoce con exactitud. Hasta hace pocos años se creía que actuaban a través de inhibir la fosfodiesterasa, lo que aumentaba los niveles intracelulares de AMP y de GMP cíclico. Este aumento permitiría la relajación del músculo liso bronquial y de los vasos pulmonares e inhibiría la activación de las células inflamatorias. Hoy en día se sabe, que las teofilinas a dosis terapéuticas, sólo inhiben la actividad de la fosfodiesterasa en un 10% a 20%. En el momento actual se están estudiando inhibidores más selectivos de esta enzima con menos efectos secundarios, por lo que es posible que estas nuevas sustancias puedan utilizarse, en breve plazo, como fármacos broncodilatadores (Flores 1992).

### **2.9.3. Indicaciones y contraindicaciones de las Teofilinas**

Las teofilinas, aunque son eficaces en el tratamiento de la EPOC y del asma han quedado relegadas a un segundo plano, como medicación broncodilatadora, por su toxicidad, menores efectos sobre la vía aérea y necesidad de ajustar en cada enfermo la dosis requerida. Pueden emplearse en los casos más graves, cuando el paciente no responde a otros broncodilatadores, al objeto de potenciar su acción terapéutica (Rodríguez y Col., 2002).

## **2.10. SALBUTAMOL**

Son agonistas selectivos de acción corta. Son drogas que se utilizan para aliviar síntomas de asma agudo, severo y para la prevención de asma producidos por el ejercicio. Se utiliza para prevenir y tratar todo tipo de broncoespasmos (Flores, 1992).

Su nombre comercial es Ventolin, también se conoce como *Albuterol*. Tiene las siguientes características: es un agonista beta 2 selectivo: relaja el músculo liso de los bronquios, útero y vasos, acción estimulante sobre el corazón es poca, modifica poco la presión arterial, aumenta el movimiento ciliar, disminuye la liberación de mediadores por los mastocitos.

### **2.10.1. Mecanismo de acción del Salbutamol (Rodríguez y Col., 2001).**

1. Relajación potente del músculo liso bronquial de la vía aérea central y periférica.
2. Disminuyen liberación de histamina y leucotrienos de los mastocitos.
3. Aumentan la depuración mucociliar.
4. Reducen la exudación plasmática.

### **2.10.2. Efectos secundarios del Salbutamol**

Sus efectos secundarios son: nerviosidad, temblores musculares, sudoración, taquicardia, náuseas, vómitos y cefalea. Se considera que los beta-2 selectivos no lo son 100% selectivos en realidad. Los preparados de *salbutamol* se encuentran en aerosol (0.1 mg/dosis), jarabes (2 mg/5mL.) y tabletas (4mg). (Rodríguez y Col., 2001).

## **2.11. METABOLITOS SECUNDARIOS USADOS EN LAS PATOLOGÍAS DEL APARATO RESPIRATORIO (Rodríguez y col. 2002).**

Las plantas con actividad antitusígena actúan mediante variados mecanismos de acción, tanto a nivel central (deprimen el centro reflejo bulbar que controla el reflejo de la tos), como a nivel periférico (actúan como analgésico

o como anestésicos, sobre las terminaciones nerviosas bronquiales que constituyen el inicio del reflejo tusígeno). En este grupo también se incluyen las sustancias demulcentes. Se deben utilizar cuando la tos, por su frecuencia, provoca fatigas sin resultados positivos, cuando es dolorosa y dificulta la vida activa normal, y en mujeres gestantes, a partir de la semana 24 de embarazo, ya que los excesos de tos pueden provocar el parto.

También se pueden usar en la fase inicial de afecciones bacterianas o virales de vías aéreas altas o que causen vómitos.

No deben ser administradas en caso de tos productiva, cuando existe obstrucción bronquial o cuando se trata de una tos demasiado persistente.

Entre las plantas que actúan a nivel central, destacan las que presentan heterósidos cianogénicos, como el laurel cerezo (*Prunus lauro – cerasus L.*) que contiene prunasósido, con propiedades estimulantes respiratorias y antiespasmódicas y los alcaloides de la adormidera (*Papaver somniferum*) destacando la Codeína, por su especificidad y baja toxicidad a dosis terapéutica.

A nivel periférico los mecanismos de acción son muy diversos, se utilizan cuando el origen de la dolencia es la bucofaringea o las vías superiores del árbol bronquial.

Los aceites esenciales son mezclas complejas de sustancias volátiles (olorosas) presente en los vegetales, normalmente líquidas, que presentan una característica: su volatilidad, siendo extraíbles en corriente de vapor de agua. En general son los responsables del olor de las plantas. Químicamente están formados principalmente por terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos) hidrocarburos, alcoholes, cetonas, en ocasiones también contienen derivados del fenilpropano y, más raramente, cumarinas. Entre las principales acciones debidas a la presencia de aceites esenciales cabe destacar: antiséptica, antiespasmódica, expectorante, carminativa y eupéptica, etc. Por ejemplo, el

azuleno es un componente de los aceites esenciales que posee actividad antiinflamatoria y espasmolítica. Las preparaciones que contienen mentol, alcanfor o eucaliptol se usan habitualmente en forma de pomadas para extender el pecho y en todas formas farmacéuticas para ser aplicadas en los orificios nasales y para realizar inhalaciones; sin embargo es necesario tomar en cuenta la dosis ya que tienen efecto tóxico.

Las saponinas, muchas de ellas poseen propiedades hemolíticas. Muchos de los efectos farmacológicos que producen estos compuestos están relacionados con su capacidad para permeabilizar membranas biológicas. Se les ha atribuido además actividad antiviral, citotóxica, espermicida, etc. Clásicamente se han utilizado como antitusivos y expectorantes, antiinflamatorios, analgésicos, venotónicos y antihemorroidales y adaptógenos.

Los mucílagos, poseen una estructura química que corresponde a polisacáridos heterógenos con un alto contenido en galactosa, manosa, glucosa y derivados de osas (principalmente ácidos). Muchas de estas plantas se utilizan como laxantes mecánicos, ya que los mucílagos que contienen al absorber una gran cantidad de agua. Estos compuestos en contacto con el agua se hinchan formando soluciones muy viscosas y geles no adherentes. Algunos de estos mucílagos son capaces de absorber más de cien veces su peso en agua. Estos geles altamente hidratados actúan como demulcentes, disminuyendo la irritación de la faringe y de la mucosa bronquial y calmando la tos.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN

El estudio se llevó a cabo en los Laboratorios del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante el año 2012.

Las muestras de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" fueron recolectadas durante los meses de enero y febrero 2012, en el centro poblado de San José de Viñaca, Distrito de San José de Ticllas, Provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho.

Altitud:	2500 m.s.n.m.
Distancia:	Ayacucho — San José de Viñaca: 23.5Km.
Longitud:	13°05'14"
Latitud:	74°16'37"
Coordenadas:	UTM 578,714-8553, 333

## **3.2. MATERIALES**

### **3.2.1. Población**

Las hojas de la planta de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" de los sembríos del Centro Poblado de San José de Viñaca, Provincia de Huamanga, Departamento de Ayacucho.

### **3.2.2. Muestra**

5 kg. de hojas y tallos, escogidos aleatoriamente.

### **3.2.3. Material biológico**

15 cobayos de ambos sexos con un peso entre 300 y 500 g. en ayunas adquiridos en el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA).

## **3.3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

### **3.3.1. Recolección y desecación**

Se recolectaron las hojas de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena", y las hojas fueron secadas a temperatura ambiente durante cuatro semanas previa limpieza de las mismas, bajo techo con buena ventilación y previamente acondicionado, removiendo el vegetal para evitar la descomposición por un periodo de 15 días. Las hojas desecadas fueron seleccionadas y se sometió a molienda.

### **3.3.2. Molienda**

Una vez secas las hojas de la *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" se sometió a molienda con la ayuda de un mortero luego se pasaron a través de tamices de diferente numeración y por lo tanto de diferente abertura hasta obtener un polvo fino.

### **3.3.3. Obtención de extractos para Tamizaje Fitoquímico**

Se pesó 10 g de de la planta seca y pulverizada y se introdujo en un cartucho de papel de filtro y se sometió a tres extracciones sucesivas utilizando bencina, etanol y agua.

**Extracto bencénico.-** 10 g de planta seca y molida fue sometida a 250 mL. de bencina por 18 horas, obteniéndose un extracto bruto (1.2866g).

**Extracto alcohólico.-** El residuo del cartucho se secó en la estufa a una temperatura de 30 — 40° C, luego se sometió a una segunda extracción con 250 mL. de alcohol etílico de 96° por un periodo de 15 horas, obteniéndose un extracto bruto (1.4863g).

**Extracto acuoso.-** El residuo del cartucho se secó en la estufa a una temperatura de 30 - 40° C, luego se sometió a una tercera extracción con 250 mL. de agua destilada por un periodo de 13 horas, luego el solvente es recuperado utilizando el rotavapor, obteniéndose un extracto bruto (2.9408g).

El tamizaje fitoquímico se realizó con la metodología propuesta por Miranda, M. 1996; basadas en pruebas de coloración y precipitación para la identificación de los principales metabolitos secundarios que contiene en los extractos bencénicos, alcohólicos y acuoso del *Mentha aff. arvensis L.* "hierba buena".

#### 3.3.4. Identificación fitoquímica

- **Ensayo de Dragendorff.-** Esta prueba es para reconocer la presencia de alcaloides, para realizar este ensayo se evaporó en baño de agua el solvente orgánico, luego el residuo se disolvió en 1mL. de ácido clorhídrico al 1% en agua, si el extracto es acuoso agregar una gota de ácido clorhídrico concentrado. Agregar 3 gotas de reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera(+), turbidez definida(++), precipitado(+++).

- **Ensayo de Wagner.-** Se parte igual que en el caso anterior de la solución ácida. Luego se añadió 2 a 3 gotas del reactivo, se clasifican los resultados igual que en el caso anterior.



- **Ensayo de Mayer.**- Se procedió de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida, luego se añadió una pizca de de cloruro de sodio en polvo, se agitó y filtró. Se añadió luego 2 a 3 gotas del reactivo de Mayer, si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++).

- **Ensayo de Baljet.**- Nos permite reconocer compuestos con agrupamiento lactónico, en particular las cumarinas, para ello la muestra se evaporó en baño de agua y se disolvió en la menor cantidad de alcohol. Se adiciona 1 mL. de reactivo y se considera positivo la aparición de de coloración o precipitado rojo.

- **Ensayo de Sudán.** Este ensayo nos permite reconocer compuestos grasos, a una alícuota de la extracción se le añade 1 mL. de una solución diluida en agua del colorante de Sudán III. Se calentó en baño de agua hasta la evaporación del solvente. Es positivo si aparece una película coloreada de rojo.

- **Ensayo de Lieberman Burchard.** Este ensayo nos permite reconocer la presencia de triterpenos y esteroides por poseer ambos un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. Se adiciona 1 mL. de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado en zona. Un ensayo positivo se tiene por cambio rápido de coloración.

Rosado — a azul, muy rápido.

Verde intenso — visible aunque rápido.

Verde oscuro — a negro, al final de la reacción.

- **Ensayo de Bortrager.** Nos permite reconocer la presencia de quinonas, para ello se debe evaporar el solvente y el residuo disolver en 1 mL. de cloroformo. Se adiciona 1 mL. de hidróxido de sodio, de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su separación,

si la fase alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo.

- **Ensayo de Catequinas.-** Se toma de la solución alcohólica una gota con un capilar y se aplica la solución en un papel de filtro, sobre la mancha se aplica una solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz U.V. indica un ensayo positivo.

- **Ensayo de Ninhidrina.-** Permite reconocer aminoácidos libres o de amina en general. Se toma una alícuota del extracto, si el extracto se encuentra en otros solventes orgánicos, se mezcla con 2 mL. de solución al 2% de Ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5 - 10 minutos en baño maría. Es positivo si desarrolla un color azul violáceo.

- **Ensayo de Shinoda.-** Nos permite reconocer la presencia de flavonoides. Si la alícuota se encuentra en alcohol se diluye con 1 mL. de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL. de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo.

- **Ensayo de Kedde.-** Para reconocer glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto de etanol se mezcla con 1 mL. de reactivo y se deja reposar durante 5 - 10 minutos. Un ensayo positivo es cuando se desarrolla una coloración violácea persistente durante 1 - 2 horas.

- **Ensayo de Resinas.-** Para detectar este tipo de compuestos, se adiciona 2 mL. de la solución alcohólica 10 mL. de agua destilada. La aparición de un precipitado indica un ensayo positivo.

- **Ensayo de Fehling.-** Permite reconocer la presencia de azúcares reductores. Para ello la alícuota debe estar en agua, se adiciona 2 mL. del

reactivo y se calienta en baño de agua de 5 a 10 minutos. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.

- **Ensayo de la espuma.**- Este ensayo nos permite reconocer la presencia de saponinas tanto del tipo esterooidal triterpénica, de modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5 a 10 minutos.

Es positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm. de altura, persistente por más de 2 minutos.

### **3.3.5. Obtención del extracto fluido**

500 g de muestra molida de *Mentha aff. arvensis L.* se maceró en alcohol de 70° durante 12 horas. Transcurrido ese tiempo se trasladó a un percolador y se dejó macerar otras 12 horas, después del cual se inició la percolación a razón de 20 a 30 gotas por minutos, así se obtuvo la primera fracción. Se adicionó más alcohol de 70° al percolador, se dejó macerando 12 horas y nuevamente se recolectó el extracto obteniendo la segunda fracción. Se repitió el mismo proceso hasta obtener 4 fracciones. A la primera fracción más concentrada, se adicionó las demás fracciones previa concentración en baño maría a 40°C.

Obtenido el extracto fluido se realizó el control físico – químico evaluando los siguientes parámetros: color, olor, pH, densidad relativa, índice de refracción, sólidos totales, contenido alcohólico y el análisis capilar (Miranda, 2001).

### **3.3.6. Estudio farmacológico**

**a) Procedimiento experimental de la técnica de tráquea aislada de cobayo**

➤ Los animales de experimentación (cuyes peso de 300 a 500g.) fueron llevados al laboratorio y se mantuvo en ayunas durante 24 horas antes del experimento.

- Los animales fueron sacrificados. Luego la tráquea fue diseccionado y es sumergido rápidamente a la solución de Krebs a 37 °C con suministro de oxígeno.
- Se separó cuidadosamente anillo por anillo cortando transversalmente entre los segmentos de cartílago, para obtener varios anillos de músculo traqueal.
- Se unieron cinco anillos con hilo de algodón rápidamente para formar una cadena traqueal, y se les colocó en el baño para órganos aislados que contenía 30 mL. de solución de Krebs a 37°C con suministro de oxígeno.
- Se fijó uno de los extremos del hilo a la aguja inscriptora, la cual estuvo conectada al tambor giratorio del quimógrafo.
- Las respuestas contráctiles obtenidas con esta preparación fueron lentas, para cada dosis es posible esperar unos 15 minutos a 30 minutos por ciclo hasta su completa recuperación y con la droga se dejó actuar durante 5 minutos (Perry, 1968).

La concentración de Acetilcolina usada fue de  $5 \times 10^{-4}$  M, tal como reportó Torres y Col. en el año 2007.

#### **b) Tratamientos**

Se realizaron 5 tratamientos, cada tratamiento con 3 repeticiones:

##### **Tratamiento I (Acetilcolina $5 \times 10^{-4}$ M)**

Se adicionó 0,5 mL. de Acetilcolina  $5 \times 10^{-4}$ M)

##### **Tratamiento II: (Control - jarabe de Salbutamol 2mg/5mL.)**

Se administró 1 mL. de jarabe de salbutamol 2mg/5mL. y luego se le agregó 0,5 mL. de acetilcolina  $5 \times 10^{-4}$ M).

##### **Tratamiento III: Extracto fluido - concentración 10%**

Se administró 3 mL. y luego se le agregó 0,5 mL.de acetilcolina  $5 \times 10^{-4}$ M.

#### **Tratamiento IV: Extracto fluido - concentración 15%**

Se administró 4,5 mL. y luego se le agregó 0,5 mL. de acetilcolina a una concentración de  $5 \times 10^{-4}$ M.

#### **Tratamiento V: Extracto fluido - concentración 20%**

Se administró 6 mL. y luego se le agregó 0,5 mL. de acetilcolina  $5 \times 10^{-4}$ M.

La secuencia conveniente que se usó fue la siguiente:

- Encender el quimógrafo
- Agregar 1 mL. de Acetilcolina  $5 \times 10^{-4}$  M y registrar la respuesta contráctil.
- Enjuagar los anillos traqueales con solución de Krebs a 37°C.
- Adicionar los mililitros de extracto fluido e inmediatamente agregar 1 mL. de Acetilcolina  $5 \times 10^{-4}$  M y registrar la respuesta contráctil.
- Enjuagar los anillos traqueales con solución de Krebs a 37°C.
- Agregar 1 mL. de Acetilcolina  $5 \times 10^{-4}$  M y registrar la respuesta contráctil.
- Seguir la misma secuencia para el Salbutamol 2 mg/ 5 mL.

Para la obtención de datos se midió las respuestas contráctiles en milímetros, registradas en el quimógrafo.

### **3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los valores de la respuesta contráctil (mm) se presentó a gráficas, que representan la variación de la respuesta contráctil en función de los diferentes tratamientos. Para la comparación de las medias de la respuesta contráctil se realizó el análisis de varianza al 95% de nivel confianza, para identificar diferencias estadísticamente de todos los tratamientos. Se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey a un nivel de confianza del 95%, para identificar subgrupos homogéneos.

#### **IV. RESULTADOS**

**Cuadro 1.** Identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto bencénico de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena". Ayacucho -2012

<b>METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
<b>ALCALOIDES</b>		
- Ensayo de Dragendortf	+	
- Ensayo de Hager	+	Formación de una
- Ensayo de Wagner	+	opalescencia
- Ensayo de Mayer	+	
<b>LACTONAS Y CUMARINAS</b>		
- Ensayo de Baljet	++	Formación de una coloración rojiza
<b>TRITERPENOS Y ESTEROIDES</b>		
- Ensayo de Lieberman y Burchard	+	Formación de dos fases: una superior de color verde y otra interior de color rosado que fue oscureciendo
<b>ACEITES Y GRASAS</b>		
- Ensayo de Sudan	+++	Hay formación de una película roja al borde del tubo

**Resultados:**

Escaso=(+)

Bueno=(++)

Excelente=(+++)

Cuadro 2. Identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto alcohólico de *Mentha aff. arvensis L.* "hierba buena". Ayacucho -2012

<b>METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
<b>AZUCARES REDUCTORES</b> - Ensayo de Benedict	+++	Formación de precipitado rojo ladrillo
<b>ALCALOIDES</b> - Ensayo de Dragendorff - Ensayo de Hager - Ensayo de Wagner - Ensayo de Mayer	+ + ++ +	Formación de una opalescencia
<b>TRITERPENOS Y ESTEROIDES</b> - Ensayo de Lieberman y Burchard	+++	Formación de una coloración verde oscuro
<b>LACTONAS Y CUMARINAS</b> - Ensayo de Baljet	+++	Formación de una coloración roja
<b>SAPONINAS</b> - Ensayo de Espuma	++	Formación de espuma
<b>CATEQUINAS</b>	++	Formación de coloración verde carmelita a la luz UV
<b>RESINAS</b>	+++	Formación de precipitado blanco
<b>QUINONAS</b> - Ensayo de Borntrager	+++	La fase amilica es de color rojiza
<b>FENOLES Y TANINOS</b> - Ensayo de FeCl <sub>3</sub>	++	Formación de una coloración oscura
<b>ANTOCIANINAS</b> - Ensayo de Kedde	++	Fase amilica es de color anaranjado
<b>GRASAS Y ACEITES</b> - Ensayo de Sudan	++	Formación de una película roja al borde del tubo

**Resultados:**

Ausente= (-)      Escaso=(+)      Bueno=(++)      Excelente=(+++)



**Cuadro 3.** Identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena". Ayacucho -2012

<b>METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
<b>ALCALOIDES</b>		
- Ensayo de Dragendorff	+	
- Ensayo de Hager	+	Formación de una opalescencia
- Ensayo de Wagner	++	
- Ensayo de Mayer	+	
<b>AZUCARES REDUCTORES</b>		
- Ensayo de Benedict	++	Formación de precipitado rojo ladrillo
- Ensayo de Fehling	+++	
<b>FENOLES Y TANINOS</b>		Formación de una coloración negruzca
- Ensayo de Cloruro Férrico	+++	
<b>FLAVONOIDES</b>		Ligera coloración amarilla en la fase amilica
- Ensayo de Shinoda	+	
<b>SAPONINAS</b>		Formación de espuma
- Ensayo de Espuma	+++	
<b>MUCILAGOS</b>	++	Formación de un gel ligeramente blanco
<b>PRINCIPIOS AMARGOS</b>	++	Es amargo al paladar
<b>GRASAS Y ACEITES</b>	++	Formación de una coloración roja al borde del tubo

**Resultados:**

Escaso=(+)

Bueno=(++)

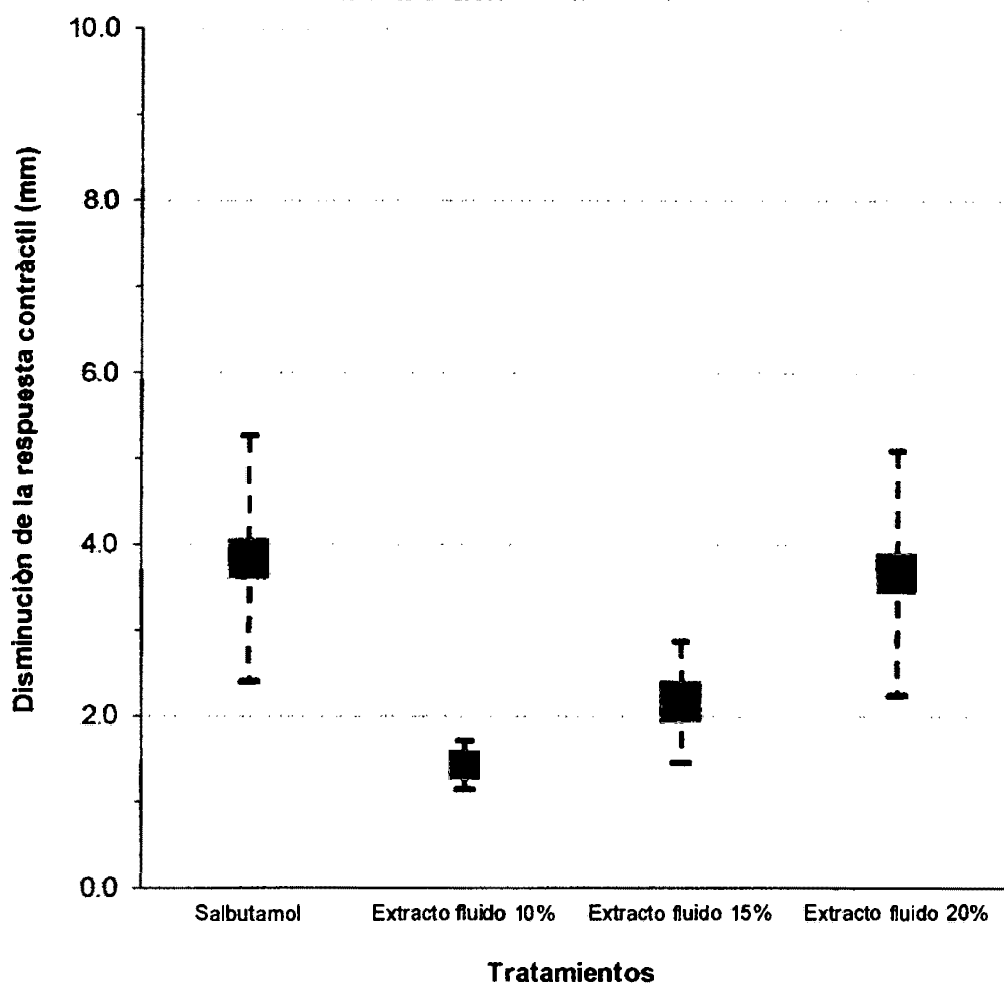
Excelente = (+++)

**Cuadro 4.** Características organolépticas y físico- químicas del extracto fluido de *Mentha aff. arvensis L.* "hierba buena". Ayacucho -2012.

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>ENSAYOS</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>ORGANOLÉPTICAS</b>	Color	Verde oscuro
	Olor	Característico
<b>FÍSICO QUÍMICAS</b>	pH	7.0
	Densidad relativa (g/mL. a 25°C)	0.9769
	Índice de refracción a 20 °C	1.3648
	Sólidos totales(%)	8.31
	Contenido alcohólico(%)	10
	Análisis capilar	Responde

**LEYENDA:**

Responde: Color, vivamente coloreada (verde claro); de alta altura; presentando una franja festonada y una banda con mayor intensidad de color



$p < 0,05$  SIGNIFICATIVO

**Gráfico 1.** Disminución de la respuesta contráctil de la tráquea aislada inducida por acetilcolina y por efecto del extracto fluido de las hojas *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena". Ayacucho - 2012.

**Cuadro 5.** Resultado de la Prueba de Tukey de la disminución de la respuesta contráctil de la tráquea aislada inducida por acetilcolina y por efecto del extracto fluido *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena". Ayacucho - 2012.

Tratamientos	N	Subgrupos para $p = 0.05$	
		1	2
Extracto fluido 10%	3	1,33	
Extracto fluido 15%	3	2,17	
Extracto fluido 20%	3		3,67
Salbutamol	3		3,83
<b>Sig.</b>		0,193	0,968

## V. DISCUSIÓN

A partir de las hojas del *Mentha aff. arvensis L.* se obtuvo tres extractos bencénico, alcohólico y acuoso y se realizó un tamizaje fitoquímico para identificar la presencia de metabolitos secundarios (Miranda, 2001). Resultado de ello, podemos concluir que las hojas de *Mentha aff. arvensis L.* presentan alcaloides, lactonas y cumarinas, triterpenos y esteroides, aceites y grasas, azúcares reductores, saponinas, catequinas, resinas, quinonas, fenoles y taninos, antocianinas, flavonoides, mucílagos y principios amargos, tal como se muestra en los Cuadros 1, 2 y 3.

Cáceres 1991, menciona que la composición química de la "*Hierba buena*" es variable y compleja. El tamizaje fitoquímico demuestra la presencia de alcoholes, ácidos orgánicos, derivados diterpénicos y aceite esencial. El aceite esencial de hojas contiene l- carnova (50 – 70%), l- limoneno (13 – 20%) felandreno,  $\alpha$  – y  $\beta$  – pineno (2 – 5%),  $\alpha$  – pineno, alcohol octílico, acetato de dihidrocarveol y cineol (2 – 4%). El análisis proximal de 100 g de hojas frescas contiene: agua (83 g), proteína (4,8 g), grasa (0,6 g), carbohidratos (10,0 g), fibra (2,0 g), ceniza (1,6 g), calcio (200 mg), fósforo (80 mg), hierro (15,6 mg), caroteno (1,620 ug), tiamina (0,05 mg), fiboflavina (0,08 mg), niacina (0,4 mg).

Los aceites esenciales son mezclas complejas de sustancias volátiles (olorosas) presente en los vegetales, normalmente líquidas, que presentan una característica: su volatilidad, siendo extraíbles en corriente de vapor de agua. En general son los responsables del olor de las plantas. Químicamente están formados principalmente por terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos) hidrocarburos, alcoholes, cetonas, en ocasiones también contienen derivados del fenilpropano y, más raramente, cumarinas. Entre las principales acciones debidas a la presencia de aceites esenciales cabe destacar: antiséptica, antiespasmódica, expectorante, carminativa y eupéptica, etc. Por ejemplo, el azuleno es un componente de los aceites esenciales que posee actividad antiinflamatoria y espasmolítica. Las preparaciones que contienen mentol, alcanfor o eucaliptol se usan habitualmente en forma de pomadas para extender el pecho y en otras formas farmacéuticas para ser aplicadas en los orificios nasales y para realizar inhalaciones; sin embargo es necesario tomar en cuenta la dosis ya que tienen efecto tóxico.

Las saponinas, muchas de ellas poseen propiedades hemolíticas. Muchos de los efectos farmacológicos que producen estos compuestos están relacionados con su capacidad para permeabilizar membranas biológicas. Se les ha atribuido además actividad antiviral, citotóxica, espermicida, etc. Clásicamente se han utilizado como antitusivos y expectorantes, antiinflamatorios, analgésicos, venotónicos y antihemorroidales y adaptógenos.

Los mucílagos, poseen una estructura química que corresponde a polisacáridos heterógenos con un alto contenido en galactosa, manosa, glucosa y derivados de osas (principalmente ácidos). Muchas de estas plantas se utilizan como laxantes mecánicos, ya que los mucílagos que contienen al absorber una gran cantidad de agua. Estos compuestos en contacto con el agua se hinchan formando soluciones muy viscosas y geles no adherentes. Algunos de estos

mucilagos son capaces de absorber más de cien veces su peso en agua. Estos geles altamente hidratados actúan como demulcentes, disminuyendo la irritación de la faringe y de la mucosa bronquial y calmando la tos.

A partir de la hojas de *Mentha aff. arvensis L.* se obtuvo un extracto fluido (Miranda, 2001). Un extracto fluido se definen como preparaciones liquidas de los principios activos contenidos en los vegetales, se utiliza el etanol como disolvente, como preservativo o en ambos fines, de forma tal que cada mililitro de extracto contenga los principios activos que aporte 1g de droga (Miranda, 2001). El extracto obtenido presentó las siguientes características: color verde; olor característico; pH 7,0; densidad relativa 0,9769 g/mL.; índice de refracción 1,3648; sólidos totales 8,31 % y contenido alcohólico 10%, tal como se muestra en el Cuadro 4.

Con el extracto fluido se procedió a evaluar el efecto broncodilatador mediante la técnica "in vivo" de tráquea aislada, usando un baño de órganos aislados. El procedimiento consistió en la preparación de anillos traqueales de cobayo (5 anillos) y se colocó en el baño de órganos aislados que contenía una Solución de Krebs a 37° C y con suministro de oxígeno. En primer lugar se registró en un quimógrafo la respuesta contráctil de la tráquea con la Solución de Krebs, luego con Acetilcolina y con el extracto fluido a concentraciones de 10, 15 y 20% (volumen de extracto fluido en función del volumen de Solución de Krebs (Perry, 1968).

En el Gráfico 1, se muestra la disminución de la respuesta contráctil de la tráquea aislada inducida por acetilcolina y por efecto del extracto fluido de las hojas de "*hierba buena*". El extracto fluido al 20% presentó una disminución de la respuesta contráctil de 3,67 +/- 0,33 mm, siendo estadísticamente mayor ( $p < 0,05$ ) al de los extractos fluidos de 10 y 15% que presentaron una disminución de la respuesta contráctil de 1,43 +/- 0,07 mm y 2,17 +/- 0,17 mm

respectivamente. El Salbutamol 2mg/5mL. presentó una disminución de la respuesta contráctil de 3,83 +/- 0,33 mm.

En el Cuadro 5, se presentan los resultados de la prueba de Tukey, donde se identificaron dos subgrupos homogéneos. El extracto fluido al 10 y 15% presentan valores de disminución estadísticamente similares. El extracto fluido al 20% y el Salbutamol 2mg/5mL., presentan una disminución de la respuesta contráctil estadísticamente similares ( $p > 0,05$ ). Por lo tanto, al disminuir la respuesta contráctil presenta efecto broncodilatador.

El aparato respiratorio tiene como fundamento primordial el transporte del aire desde el exterior hasta los alvéolos pulmonares, donde se produce el intercambio gaseoso. Las vías aéreas o tracto respiratorio (nariz, faringe, laringe y bronquios). Los síntomas más característicos de muchas afecciones respiratorias son la tos, la mucosidad y la expectoración.

Las plantas con actividad antitusígena actúan mediante varios mecanismos de acción, tanto a nivel central (deprimen el centro bulbar que controla el reflejo de la tos), como a nivel periférico (actúan como analgésicos o anestésicos, sobre las terminaciones nerviosa bronquiales que constituyen el inicio del reflejo tusígeno). En este grupo también se incluyen las sustancias demulcentes. Entre las plantas que actúan a nivel central destacan las que presentan heterósidos cianogénéticos, como el laurel cerezo, que contienen prunasósidos, con propiedades estimulantes respiratorias y antiespasmódicas y los alcaloides de la adormidera, destacando la codeína, por su especificidad y baja toxicidad a dosis terapéuticas. A nivel periférico los mecanismos de acción son muy diversos, se utilizan cuando el origen de las dolencias es la bucofaringe ó las vías superiores del árbol bronquial.



## VI. CONCLUSIONES

1. Las hojas de *Mentha aff. arvensis L.* presentan alcaloides, lactonas y cumarinas, triterpenos y esteroides, aceites y grasas, azúcares reductores, saponinas, catequinas, resinas, quinonas, fenoles y taninos, antocianinas, flavonoides, mucílago y principios amargos.
2. El extracto fluido obtenido presentó las siguientes características: color verde; olor característico; pH 7,0; densidad relativa 0,9769 g/mL; índice de refracción 1,3648; sólidos totales 8,31 % y contenido alcohólico 10%.
3. El extracto fluido al 20% presentó una disminución de la respuesta contráctil de 3,67 +/- 0,33 mm, siendo estadísticamente mayor ( $p < 0,05$ ) al de los extractos fluidos de 10 y 15% que presentaron una disminución de la respuesta contráctil de 1,43 +/- 0,07 mm y 2,17 +/- 0,17 mm respectivamente.
4. El Salbutamol 2mg/5mL. presentó una disminución de la respuesta contráctil de 3,83 +/- 0,33 mm, estadísticamente similar al extracto fluido al 20% ( $p > 0,05$ ). Por lo tanto, al disminuir la respuesta contráctil presenta efecto broncodilatador.

## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar formulaciones a base del extracto fluido de *Mentha aff. arvensis* L., por ejemplo jarabes
- Realizar estudios clínicos que demuestren la eficacia terapéutica del jarabe a base de extracto fluido de *Mentha aff. arvensis* L.
- Aprovechar los estudios realizados de las diferentes plantas medicinales, elaborar formas farmacéuticas que estén en nuestro alcance y así dar una alternativa de uso, a bajo costo para la población Ayacuchana.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Angulo, P.** (1988). Plantas Medicinales y Medicamento Vegetal. Primer Symposium de Plantas Medicinales y Medicamento Vegetal en el Perú.
2. **Bandoni, A.** (2000). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Ciencia y Tecnología para el desarrollo (CYTED) Edit. Universidad Nacional de la Plata - Argentina.
3. **Bruneton, J.** (1991). Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Edit. Acribia S.A. Zaragoza – España.
4. **Cáceres, A.** (1991). Plantas de uso medicinal en Guatemala. Universidad de San Carlos. Guatemala.
5. **Chifa, C.** (2001). Plantas de uso en Medicina Vernácula del Centro del Chaco Argentino. Miscelánea 117. Fundación Miguel Lillo. Tucumán, Argentina.
6. **Cronquist, A.** (1988). "La evolución y clasificación de las angiospermas".
7. **Cornejo, V.** (1983). Las plantas y sus utilidades. Dirección Universitaria de investigación, Departamento académico de Ciencias Biológicas. U.N.S.C.H. Ayacucho – Perú.
8. **Cotillo, P.** (1999). "Métodos Farmacológicos en la Investigación de Productos Vegetales". Publicado por el CONCYTEC.
9. **Espinoza P.** (2004). Efecto antiespasmódico de los extractos de *Melissa officinalis* L. "toronjil" Ayacucho- 2004 Tesis Químico Farmacéutico. UNSCH. Ayacucho -Perú.
10. **Evans, E.** (1991). Farmacognosia. Edit. Interamericana Mc Graw-Hill. México.
11. **Farmacopea Española** (2002). Segunda edición.

12. **Fernández y col.** (2005). Efecto antiespasmódico de la infusión de *Mentha aff. arvensis* L. "Hierba buena", sobre el íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo" Ayacucho - 2005
13. **Flores, J.** (1992). Farmacología Humana 2<sup>da</sup> Edición. Edit. Científicas y Técnicas S.A. México.
14. **Guerra – Pérez.** (1980). Métodos de farmacología experimental, Edit. Hispanoamericana – México.
15. **Hall y Col.** (2002). Plantas Medicinales. Centro nacional de información de medicamentos (CIMED). Facultad de Farmacia de la universidad de Costa Rica. Volumen II.
16. **Helman, J.** (1982). Farmacotécnica teoría y práctica. Edit. Continental S.A. Primera edición. México. Tomo VI.
17. **Leal, I.** (1988). Estandarización de la *Mentha aff. Arvensis* L. medicamento herbario con actividad antihistamínica; revista Cubana. La Habana - Cuba.
18. **Lock, O.** (1994). Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Pontificia de la Universidad Católica del Perú, segunda edición, Lima – Perú.
19. **Limaylla, A.** (1985). Química de los productos Naturales. Tomo I. UNSCH. Ayacucho – Perú.
20. **Miranda, M.** (2001). Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad de la Habana Instituto Farmacia y Alimentos. Habana – Cuba.
21. **Mostacero, J.** (1993). Taxonomía de Fanerógamas del Perú. Primera Edición. CONCYTEC.

22. **Núñez y Col.** (2004). Efecto del extracto acuoso liofilizado de *Boerhavia erecta* L. sobre la anafilaxia pasiva cutánea, espasmo bronquial, musculatura lisa intestinal y tonicidad bronquial, Centro de investigación y desarrollo de medicamentos (CIDEM) Habana-Cuba.
23. **Perry, M.** (1968). Pharmacological experiments on isolated preparations. Department of Pharmacology University of Edinburgh. E. & S. Livingstone LTD – London.
24. **Remington, J.** (1998). Farmacia práctica. Editorial Médica Panamericana. 17ava edición. Argentina. Tomo II.
25. **Rodríguez y Col.** (2002). Revisiones y actualizaciones: Enfermedades respiratorias. Fármacos broncodilatadores. Servicio de Neumología Hospital Clínico San Carlos. Universidad Complutense. Madrid.
26. **Trillo, F.** (1993). Tratado de Farmacia Galénica. Edit. Luzán S.A. Primera edición. España.
27. **Tyler,** (1979). Farmacognosia 2da. Edic. Edit. El Ateneo, Buenos Aires – Argentina.
28. **Torres y Col.,** (2007). Formulación y evaluación del efecto broncodilatador del jarabe elaborado a base de extracto fluido de *Borago officinalis* L. y aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. Ayacucho-2005.
29. Centro de Farmacovigilancia de Navarra - navarra.es  
URL:<http://www.cfnavarra.es/bif/txt/14/141tabla5.html>
30. Especies vegetales exóticas. Plantas de origen Europeo u otras regiones.  
URL:<http://www.herbotecnia.com.ar/exotica.html><http://www.herbotecnia.com.ar/exotica.html>

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
*MUSEO DE HISTORIA NATURAL*

---

### CONSTANCIA N° 074-USM-2005

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (raíz, tallo y hojas) recibida de la Srta. EMMA EDITH BAUTISTA LIVIA, egresada de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga - Ayacucho, ha sido estudiada y clasificada como: *Mentha aff. arvensis* L., y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION:** MAGNOLIOPHYTA

**CLASE:** MAGNOLIOPSIDA

**SUBCLASE:** ASTERIDAE

**ORDEN:** LAMIALES

**FAMILIA:** LAMIACEAE

**GENERO:** *Mentha*

**ESPECIE:** *Mentha aff. arvensis* L.

Nombre vulgar : "Hierba buena"  
Determinada por : Mg. Joaquina Albán Castillo.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 25 Mayo de 2005

JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

## ANEXO 2

**Cuadro 6.** Resultados descriptivos de la disminución de la respuesta contráctil de la tráquea aislada inducida por acetilcolina y por efecto del extracto fluido de las hojas *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena". Ayacucho - 2012.

Tratamientos	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Salbutamol	3	3,83	0,58	0,33	2,40	5,27	3,50	4,50
Extracto fluido 10%	3	1,43	0,12	0,07	1,15	1,72	1,30	1,50
Extracto fluido 15%	3	2,17	0,29	0,17	1,45	2,88	2,00	2,50
Extracto fluido 20%	3	3,67	0,58	0,33	2,23	5,10	3,00	4,00
<b>Total</b>	12	2,75	1,16	0,33	2,01	3,49	1,00	4,50

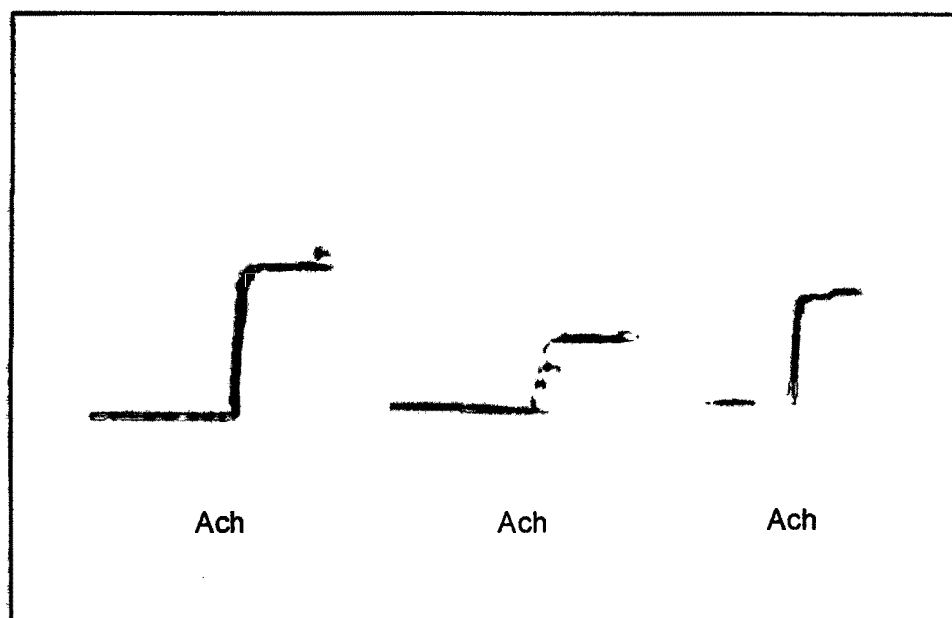


### ANEXO 3

**Cuadro 7.** Disminución de la respuesta contráctil de la tráquea aislada inducida por acetilcolina y por efecto del extracto fluido de las hojas *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena". Ayacucho - 2012.

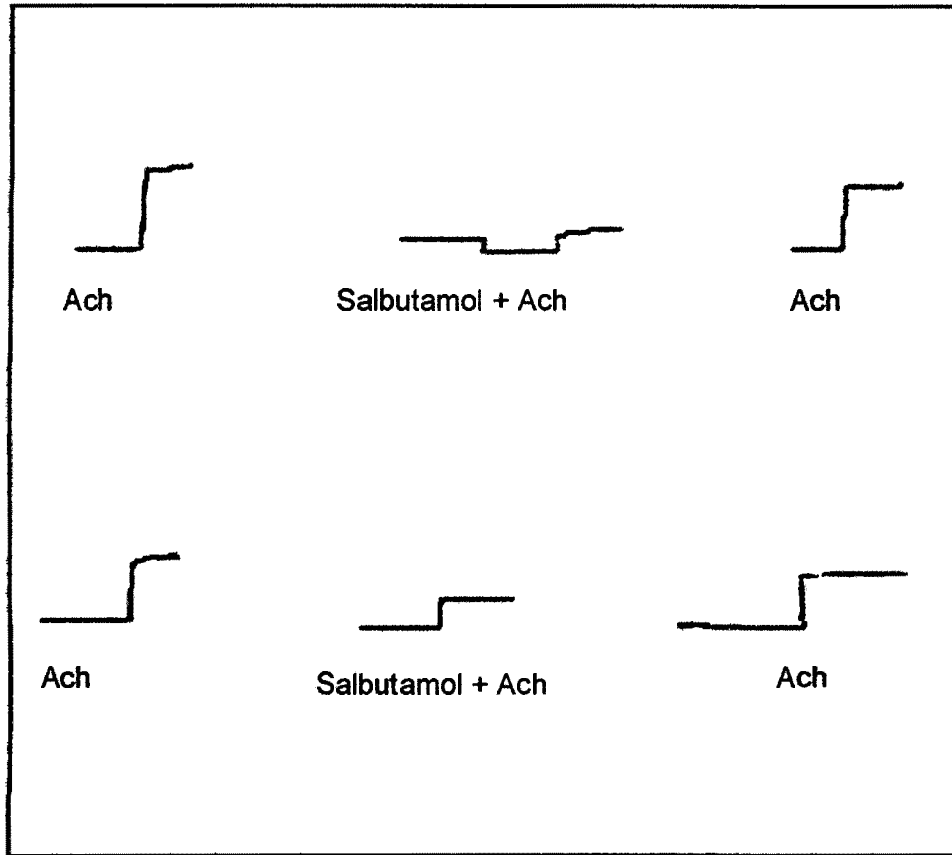
<b>Tratamiento</b>	<b>Suma de cuadrado</b>	<b>Df</b>	<b>Media de cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
<b>Entre grupos</b>	12,256	3	4,085	21,408	$3,53 \times 10^{-4}$
<b>Dentro de grupos</b>	1,527	8	0,191		
<b>Total</b>	13,783	11			

## ANEXO4



**Figura 1.** Respuestas contráctiles de la Acetilcolina a una concentración de  $5 \times 10^{-4} \text{M}$  en cadena de tráquea aislada de cobayo. Ayacucho-2012.

**ANEXO5**



**Figura 2.** Respuestas contráctiles del jarabe de Salbutamol 2mg/5 mL. frente a la Acetilcolina en cadena de tráquea aislada de cobayo. Ayacucho-2012.

**ANEXO6**



**FOTOGRAFÍA N° 1: Vista fotográfica de las hojas y flores de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena". Ayacucho -2012.**

## ANEXO 7



**FOTOGRAFÍA N° 2: Proceso de percolación de *Mentha aff. arvensis* L. "hierba buena" en los Laboratorios del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho – 2012.**

## **ANEXO8**



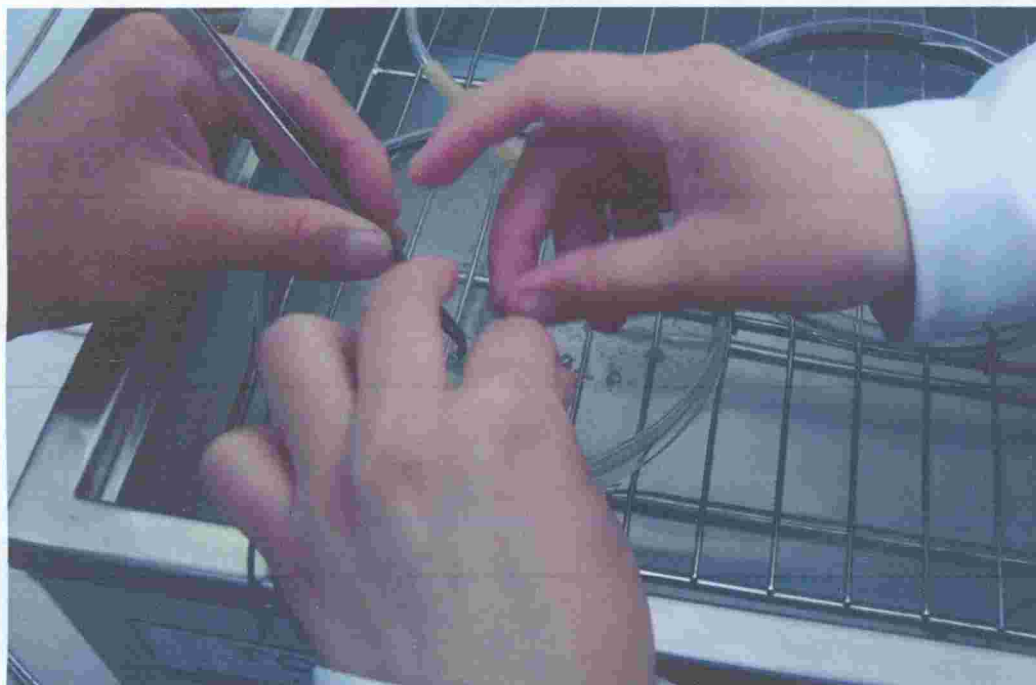
**FOTOGRAFÍA Nº 3: Equipo de Termostato, quimógrafo, baño maría y otros materiales usados en el experimento de “tráquea aislada de cobayo”. Ayacucho - 2012**

## **ANEXO9**



**FOTOGRAFÍA N° 4: Anillos de tráquea de cobayo presentes en la solución de Krebs a 37°C y su respectiva oxigenación. Ayacucho - 2012**

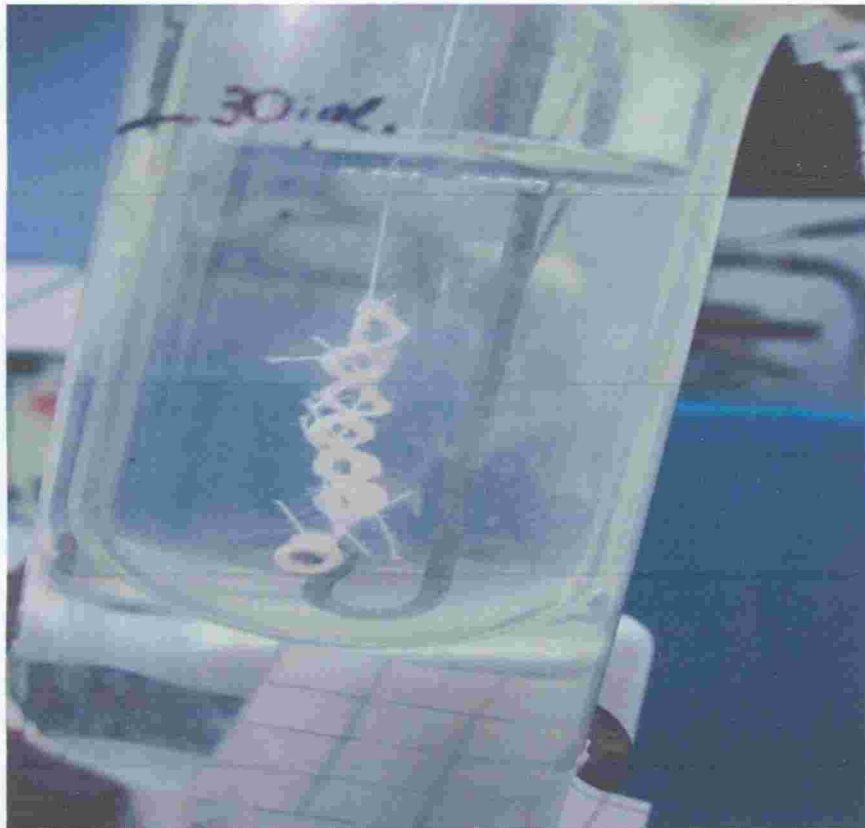
## **ANEXO10**



**FOTOGRAFÍA N° 5: Proceso de unión de los anillos de la tráquea de cobayo ayudados con un hilo y pinzas, en condiciones dadas en laboratorio. Ayacucho – 2012.**



**ANEXO11**



**FOTOGRAFÍA N° 6: Cadena de 6 anillos colocado en baño de Órganos. Ayacucho – 2012.**