

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**



Efecto sedante del extracto hidroalcohólico del rizoma
de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" en
ratones albinos, Ayacucho 2010.

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

PRESENTADO POR

Bach. PRADO HUAMACCTO, LUCAS

AYACUCHO - PERÚ

2011

A DIOS:

Por colocar generosamente su sabiduría y su amor a mi alcance para poder salir al mundo en busca de mis sueños. Porque éste es un trabajo totalmente tuyo, por permítirme servir de instrumento de tu obra en el mundo.

A MIS PADRES:

Espíritu Prado Tupia y Luzmila Huamaccto Rodríguez, por ser los seres especiales que Dios eligió para mi formación. Por enseñarme el valor de las pequeñas cosas y que la excelencia está en los detalles. Gracias porque siempre han creído en mí y por su amor incondicional.

A MIS HERMANOS:

Claudia, Victoria y Jorge Luis, por poner el toque de sabor a cada día y hacer de cada momento una experiencia única.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales, al servicio de la sociedad.

A los profesores de la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a mis profesores de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por sembrar y fertilizar la semilla del conocimiento, gracias por sus enseñanzas y orientaciones.

A mi asesor Mg. Q.F. Enrique Aguilar Felices, catedrático de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, por contribuir en la investigación; realizando un trabajo ético y responsable con el emblema de servicio y por su valiosa colaboración en la realización de este trabajo que hoy me permitirá presentarme como un profesional con alto grado de responsabilidad para con mi país y con el mundo.

INDICE	Pag.
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEORICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Perezia coeruleascens Wedd</i> “mancharisqa”	4
2.3. Sedante	9
III. MATERIALES Y METODOS	12
3.1. Ubicación	12
3.2. Población y muestra	12
3.3. Métodos para la obtención de datos	13
3.4. Tamizaje fitoquímico	14
3.5. Métodos farmacológicos para determinar la actividad sedante	14
3.6. Diseño experimental	20
3.7. Análisis de datos	20
V. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	30
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	38
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	

Efecto sedante del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Perezia coerulescens* Wedd “mancharisqa” en ratones albinos, Ayacucho 2010.

AUTOR: Bach. Lucas Prado Huamaccto

ASESOR: Mg. Q.F. Enrique Aguilar Felices

RESUMEN

Este trabajo de investigación se orienta a la generación de conocimientos farmacognósticos y farmacológicos de la flora medicinal de nuestra región. El propósito primordial es estudiar la actividad farmacológica y luego identificar los metabolitos secundarios que posee la “mancharisqa” a partir de los cuales se pueden desarrollar productos medicinales de origen natural. Al mismo tiempo contribuir al estudio etnobotánico y de la medicina tradicional.

Perezia coerulescens Weed “mancharisqa” pertenece a la familia de las asteraceae, están distribuidas en el Perú generalmente en la zona alto andina; en las vertientes occidentales y orientales entre 3000 a 4700 m.s.n.m.

Se trabajó con tres concentraciones de 100, 300 y 500 mg/kg de peso utilizando como fármaco referencial en todas las pruebas el diazepam a 15 mg/kg de peso. Se evaluó el efecto de esta planta en ratones albinos, los cuales fueron probados en los test de la placa agujereada, Rota Rod, chimenea y la prueba de natación forzada para evaluar su efecto sedante. El análisis fitoquímico demostró la presencia de azúcares reductores, triterpenos y/o esteroides, saponinas, fenoles y taninos, alcaloides, catequinas y resinas.

Los resultados para el extracto hidroalcohólico muestran una actividad sedante, en el test de la placa agujereada ($p < 0.005$) con disminución del número de agujeros explorados, número de empinamientos, número de veces de autolimpieza y número de cruzamientos entre los cuadros demarcados. En el test de Rota Rod ($p < 0.005$) con disturbios de coordinación y disminución de los reflejos de equilibrio. Para el test de la Chimenea ($p < 0.005$) con disminución del equilibrio y coordinación y para la prueba de natación forzada ($p < 0.005$) con inmovilidad del ratón. A la luz de estos resultados se encuentra justificación al uso etnobotánico sedante de esta especie y destaca el potencial de *Perezia coerulescens* Wedd “mancharisqa” como fuente natural de posibles compuestos con aplicación terapéutica.

Palabras clave: Efecto sedante, *Perezia coerulescens*.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido desde la antigüedad un recurso al alcance del ser humano para su alimentación y curación de sus enfermedades; éstas últimas, llamadas plantas medicinales, eran veneradas por las virtudes que se les había reconocido, transmitiéndose sus virtudes de generación en generación; nadie buscaba el saber porqué o cómo actuaban, pero era un hecho incontestable y que parecía mágico (Lock, 1994).

Las plantas son una fuente importante de productos naturales biológicamente activos, muchos de los cuales además constituyen modelos para la síntesis de un gran número de fármacos. Estos compuestos de la naturaleza revelan ser de una gran diversidad en términos de propiedades biológicas, estructura química y de propiedades físico-químicas. Se estima que, el 15% o menos de la flora mundial han sido evaluadas química o biológicamente. Las plantas medicinales típicamente contienen una mezcla de diferentes compuestos químicos que pueden actuar individualmente, aditivamente o sinérgicamente para mejorar la salud. Existen alternativas naturales como sedantes. Ninguna de las plantas medicinales produce las reacciones adversas que se observan con los

psicofármacos sedativos, ansiolíticos o hipnóticos. Hoy en día el mundo globalizado nos exige investigar y descubrir las propiedades y usos de nuestros recursos naturales olvidados, los cuales a pesar de que sus actividades farmacológicas no han sido rigurosamente demostradas, tienen gran demanda.

Con la preocupación de revalorizar y contribuir al uso de nuevas fuentes naturales y como alternativa en vez de usar productos sintéticos. Se plantea el presente trabajo de investigación titulado: **Efecto sedante del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Perezia coerulescens Wedd* “mancharisqa” en ratones albinos, Ayacucho 2010.** para promover su conservación y uso racional, sobre la información de la población rural como sedante del sistema nervioso central, aliviar el dolor de cabeza, disminuir problemas de insomnio, alteraciones nerviosas, convulsiones, dolor después del parto, bajar la presión alta, antiespasmódico, uso en estados de ansiedad y tensión nerviosa. Provoca sedación gracias a que atenúan la hiperexcitabilidad nerviosa, sin provocar somnolencia residual y sin riesgo de crear dependencia. Que ambulatoriamente se comercializa en mercados de la ciudad y para saber las razones de su uso popular. Para lo cual planteamos los siguientes objetivos:

- Determinar el efecto sedante de rizomas de *Perezia coerulescens Wedd* “mancharisqa”.
- Determinar los metabolitos secundarios presentes, mediante el tamizaje fitoquímico del rizoma de *Perezia coerulescens Wedd* “mancharisqa”
- Comparar los resultados obtenidos del extracto alcohólico del rizoma *Perezia coerulescens Wedd* “mancharisqa” con un estándar.
- Determinar la concentración de mayor efecto sedante del rizoma de *Perezia coerulescens Wedd* “mancharisqa”

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

Por siglos las plantas medicinales han sido uno de los pilares de la medicina tradicional, como tratamiento de diversas enfermedades. Debido a que la medicina herbácea está muy arraigada en la población y al gran interés que ha despertado en la actualidad el uso de productos naturales, se hace necesario garantizar la inocuidad de su uso y de los productos derivados de ella. A menudo se afirma que las plantas por su origen natural no son tóxicas, tampoco se puede generalizar y afirmar que sí lo son, ya que la actividad de cada planta depende y está relacionada de los constituyentes químicos que contienen y en la medida que podamos conocer más estos constituyentes tendremos la posibilidad de ampliar su utilización, a partir de éstos encontrar nuevos agentes terapéuticos o simplemente dar la voz de alerta de lo peligroso que resultarían.

Como decía Paracelso: “todo tóxico puede ser un remedio y un remedio puede ser un tóxico, todo depende de la dosis”, de esto se puede deducir que no existen plantas tóxicas, sino un uso indebido de ellas. La *Perezia coerulescens* Wedd llamado tradicionalmente “mancharisqa” que significa “asustado” es utilizada por los campesinos para tranquilizar las tensiones nerviosas y el susto;

por tener propiedades sedantes que se produce por la administración de una infusión de los rizomas. Las especies de *Perezia* en el Perú, están distribuidas generalmente en la zona alto andina de las vertientes occidentales y orientales, entre los 3000 y 4700 m. s. n. m., principalmente en la puna del centro y sur (Romero, 2005). Brack (1999) sostiene que esta especie está presente en la sierra en la comunidad puna o jalca entre 3500 a 4500 m.s.n.m. Ciertas especies están ampliamente difundidas, extendiéndose hasta Bolivia: la *Perezia coerulescens* prefiere el césped constituidas por plantas almohadilladas (Aldave, 1988) o también crece entremezcladas con el pajonal o estepa de gramíneas, teniendo como límite inferior de su distribución aproximadamente a los 3800 m.s.n.m. y el límite superior los 4600 m.s.n.m. (Tovar, 2001).

Parece que la mayor concentración de especies está en las vertientes orientales del centro del departamento de Huancavelica, donde se ha encontrado 6 especies: *Perezia multiflora*, *Perezia coerulescens*, *Perezia pygmaea*, *Perezia weberbaueri*, *Perezia cirsiifolia* y *Perezia conaicaensis* (Universidad Nacional Agraria la Molina. 1994).

2.2. *Perezia coerulescens* Wedd “mancharisqa”

2.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La clasificación taxonómica de *Perezia coerulescens* Wedd “mancharisqa” se realizó de acuerdo a la clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchior. Fue certificada por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

DIVISIÓN : ANTOPHYTA (ANGIOSPERMAE)

CLASE : DICOTILEDONEAE

SUB CLASE : METACLAMIDEAS

ORDEN : CAMPANULALES

FAMILIA : ASTERACEAE

GÉNERO : *Perezia*

ESPECIE : *Perezia coerulescens Wedd*

N.V. : "mancharisqa" "sutuma" "valeriana" (Anexo N° 01).

Según Brack (1999) se le conoce como intipasapran, contrayerva, sotoma, sutuma, valeriana. Y por los pobladores de Niñobamba del distrito de Paras de la Provincia de Cangallo del departamento de Ayacucho, esta especie es conocida como clavel huayta o china valeriana.

2.2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es una hierba acaule o subacaule, perenne, rizomatosa, rizoma mas o menos oblicuo, subcónico, truncado. Hojas arrosetadas, ligeramente coriáceas a veces, pecioladas; limbo de 20-38 mm de largo por 9-12 mm de ancho, pinnatilobado con 6-11 pares de lóbulo aovado-redondeados o aovados, de borde ligeramente sinuoso-denticulado o mas o menos entero, ciliado, los cilios de mas de 1 mm de largo, cóncavos en el haz cuando secos, haz y envés glabrescentes o a veces ligeramente pubescentes. Pecíolo de 6-27 mm de largo por 4-6 mm de ancho, acintado, alado, membranáceo-transparente hacia la base y bordes, 3-5 nerviado, siendo los 3 centrales mas visibles. Hojitas caulinares de 13-19 mm de largo por 3-5 mm de ancho en la parte superior, mas o menos lanceolado, dentado-espinoso en la parte superior, haz y envés glabrescentes. Capítulos terminales solitarios sobre tallos floríferos cortos (hasta 30 mm de largo), de 1-4 en cada roseta. Involucro acampanado de 20-22 mm de largo por 10-12 mm de diámetro; brácteas involucrales dispuestas en 5-6 series, mas o menos elíptico-lanceoladas o lineal-lanceolada de ápice ligeramente pubescentes por encima de la mitad en el envés, 3-nerviadas, las brácteas exteriores gradualmente menores, las dos primeras series de 12-15 mm de largo por 3,5-5,8 mm de

ancho ablongo-lanceoladas, conspicuamente dentado-espinosas hacia la mitad o tercio superior, los dientes desiguales, con cilios análogos al de las hojas, 3-nerviadas, los nervios ramificados en la mitad superior, haz glabrescente o ligeramente pubescentes en la parte superior, envés glabrescente o ligeramente pubescente algo más el haz, los pelos cortos. Receptáculo plano, glabro. Flores (18-25 flores) isomorfas de desigual desarrollo. Corola de color azul-violáceo generalmente, raras veces blanquecino, de 20-25 mm de largo; tubo de 12-16 mm de largo por 2,1 mm de diámetro en la parte superior, interiormente glabro, exteriormente ligeramente pubescente o a veces glabro, los pelitos cortos, inconspicuos; labio externo de 7,8-9,2 mm de largo por 2-4 mm de ancho, plano o ligeramente acanalado en el haz, glabro por ambas caras; labio interno bipartido, enroscado. Anteras de 5,8-7 mm de largo, de ápice negruzco, brillante, cola de 3-3,3 mm de largo de 10-15 mm de largo, glabro, (6-10 mm soldado al tubo de la corola). Estilo filiforme de 13-16 mm de largo, glabro; ramas de 1-1,3 mm de largo, divergentes, ligeramente achatadas, ápice truncado y papiloso. Aquenio de 2-3 mm de largo por 1-1,3 mm de ancho cilindráceo-acampado, hispido-pubescente, los pelos blanquecinos, ascendentes, con 6-9 costillas. Pappus uniseriado con numerosos pelos finamente denticulados, los más grandes de 15 mm de largo (Romero, 2005).

2.2.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Las especies del género *Perezia*, constituido por la Perezona llamada también ácido pipitzaico que están cristalizadas en las hojitas anaranjadas con un punto de fusión de 102 a 103 °C. La perezona es una quinona de la serie sesquiterpénica que se encuentran en las rizomas de las especies del género *Perezia*: *P. adnata* (Walls, col., 1965.), *P. alamani* (García, col., 1965.), *P.*

coerulescens Wedd (Ángeles, col., 1984), *P. Cuernavaca* (Walls, col., 1965), *P. hebeclada* (García, col., 1965), *P. multiflora*, *P. runcinata* (Gibaja, 1998).

Así mismo se ha reportado que los ésteres de hidroxiperezona monoisovalerato y el curquinol monoisovalerato, podrían ser los responsables del olor característico, semejante a la especie del género valeriana (Enriquez, col., 1980).

En cuanto a *Perezia coerulescens* Wedd que crecen en forma silvestre en las zonas alto andinas; las rizomas contienen dos compuestos químicos: los triterpenos acetato de β -amirina y acetato de γ -taraxasterilo; las cumarinas: 8-hidroxipereflorina, pereflorina b y 3, 4,8-trimetoxi-5-formilcumarina (Gibaja, 1998).

Lock de Ugaz (1994), aisló a partir de las raíces secas y molidas de *Perezia coerulescens* Wedd triterpenos, utilizando técnicas cromatográficas y elucidó su estructura mediante pruebas espectrales, determinando que son triterpenos derivados del núcleo de la amirina, acetato de β - amirina y acetato de γ - taraxasterol. También encontrando cumarinas: la pereflorina b (que son agujas cristalinas de color amarillo pálido), 3, 4, 8,-trimetoxi-5-formil-2H-1-benzopiran-2-ona (que son agujas cristalinas de color amarillo pálido) y 8-hidroxipereflorina (agujas incoloras).

2.2.4. ESTUDIOS BIOLÓGICOS

La perezona y la hidroxiperezona aislados de *Perezia Cuernavaca* y *Perezia hebeclada* fueron utilizados sobre la motilidad intestinal en experimentos con animales. Donde hidroxiperezona es un principio laxante presente en el género *Perezia* (Enriquez, col., 1980).

Perezona in vitro en músculo liso intestinal de la rata relaja el tono basal del músculo liso, interrumpe la actividad espontánea y también bloquea la respuesta

contráctil inducida por acetilcolina. A pequeñas dosis de perezona da respuesta contráctil (Xaviera, col., 2000).

La perezona por su naturaleza química muestra características de participar en reacciones redox en los sistemas biológicos (Carabez, col., 1988).

2.2.3. USOS TRADICIONALES

En nuestro medio andino, las rizomas son utilizadas por sus propiedades sedantes, dolores de cabeza, convulsiones, dolores después del parto, para bajar la presión alta, como antiespasmódico de preferencia los rizomas, chancado y macerado en aguardiente de caña o cocimiento y se toma en ayunas antes de dormir. (Romero, 2005).

Usos como diurético, sudorífero, dolores de estómago, afecciones nerviosas, afecciones cardíacas, antídoto contra venenos que son utilizados los rizomas en polvo (Brack, 1999).

También son utilizados para expulsar los gases; se utiliza en infusión de los rizomas en la bebida. Como sedante, en desequilibrios emocionales, ansiedad, histeria, estrés, inestabilidad, palpitaciones del corazón, todo esto en infusión de los rizomas en bebida (Gibaja, 1998).

De esta especie se aprovecha sus rizomas lo que implica la extracción, ocasionando la muerte de la planta, sin reparar que su propagación es espontánea no habiendo un aprovechamiento y/o manejo adecuado como también ocurre en otros lugares (Martínez, col., 2000; Alarcón y Mena, 1994; Köhler, col., 2005; Muñoz, 1987; Conner, 2001; Morales, 1996; Miraldi, col., 2001). Esta especie tiene un alto grado de extractivismo, ya que para las familias que se dedican a la comercialización de plantas medicinales en los mercados y ferias de la región significa un ingreso económico.

2.3. SEDANTE

Un sedante disminuye la actividad motora, modera la excitación y tranquiliza en general a la persona que lo recibe (Goodman, 2006).

Desde hace mucho tiempo el hombre ha empleado bebidas alcohólicas, derivados del opio o extractos de diferentes hierbas para inducir un estado de inconsciencia, los sedantes pertenecen a un grupo de sustancias que deprimen el sistema nervioso central de una manera no selectiva y, dependiendo de la dosis (Goodman, 2006), producen calma o somnolencia (sedación), sueño (hipnosis farmacológica), también produce depresión de las funciones respiratoria y cardíaca. (Brailowsky, 1995).

Una droga sedante disminuye la actividad, modera la excitación y calma al que la recibe. Una droga hipnótica produce somnolencia y facilita el inicio y el mantenimiento de un estado de sueño parecido al normal (Brailowsky, 1995).

2.3.1. SEDANTES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Entre los sedantes existen una cantidad de compuestos con propiedades sedantes e hipnóticas. Así tenemos las sales inorgánicas (bromuro), los derivados del cloral (hidratos de cloral), los alcoholes acetilénicos (etclorvinol), éteres cíclicos (paraldehído), los éteres alcohólicos del ácido carbámico (etinamato), los éteres glicólicos del ácido carbámico (meprobamato), los diureidos (barbitúricos), los derivados de la piperidinadiona (glutetimida), las quinazolonas disustituidas (metaqualona) y ciertas alquilaminas terciarias aromáticas como los antihistamínicos (difenhidramina) y los parasimpaticolíticos (escopolamina) muestran pronunciados efectos sedantes e hipnóticos (Remington, 1998).

2.3.2. BENZODIACEPINAS

Son sustancias activas con efecto sedante, hipnótico, deprimen el sistema nervioso central (SNC), de manera dependiente de la dosis, con producción progresiva de sedación, sueño, pérdida del conocimiento, anestesia quirúrgica, coma y depresión letal de la respiración y función cardiovascular. (Goodman, 2006; Katzung, 2001), se han fabricado aproximadamente 2000 benzodiazepinas, comercializándose más de 40; sin embargo, muchas de ellas no muestran diferencias significativas en sus espectros farmacológicos, a pesar de ser producidas con distintas indicaciones. (Alarcón, Col., 1980).

2.3.3. EFECTO FARMACOLÓGICO DE LAS BENZODIACEPINAS

La mayor parte de las benzodiazepinas producen ansiólisis, sedación, hipnosis, efectos anticonvulsivantes y miorelajante central. Las diferencias entre ellas no son sustanciales, pero a la vista de su eficacia relativa para algunos de estos efectos y de sus propiedades cinéticas, algunas pueden tener una indicación más clara en una determinada circunstancia clínica. (Flórez, col., 1998).

2.3.4. MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS BENZODIACEPINAS

La acción molecular de las benzodiazepinas se basa en dos hechos fundamentales: facilitan la transmisión fisiológica de carácter inhibitor mediada por ácido gamma amino butírico (GABA) y se fijan en el SNC a sitios específicos con una afinidad que guarda estrecha relación con su potencia ansiolítica. Además, estudios electrofisiológicos demostraron que las benzodiazepinas facilitan la transmisión mediada por GABA, mediante una acción sinérgica ejercida a nivel postsináptico. Del conjunto de los datos electrofisiológicos y autorradiográficos se puede concluir que las benzodiazepinas: a) se fijan de manera específica a sitios estrechamente vinculados con las sinapsis GABA y b) interactúan con un sitio específico localizado en el complejo molecular del

receptor GABA; como resultado de esta interacción sobreviene una modulación alostérica en el complejo que permite una mayor influencia del GABA sobre su sitio específico de interacción, aumentando la probabilidad de abertura del canal del Cl⁻ en respuesta al GABA (Flórez, col., 1998).

2.3.5. EFECTOS ADVERSOS

Las benzodiazepinas vía oral produce: somnolencia, sensación de ebriedad, incoordinación motora. En ocasiones, excitación, euforia, ataxia, hipotensión; rara vez, inhibición de la médula ósea, erupciones cutáneas, compromiso hepático.

Por vía intravenosa: inhibición de la respiración, hipotensión arterial, paro cardíaco (raro), trombosis venosa en el punto de inyección. (Fattorusso y Ritter 2001).

2.3.6. DIAZEPAM

Es una Benzodiazepina indicada para el alivio sintomático de la tensión, sedación y la ansiedad, la abstinencia alcohólica aguda, el tratamiento coadyuvante en los espasmos de la musculatura esquelética, y preferida por muchos clínicos para el manejo del estado epiléptico.

En preoperatoria está indicado por su capacidad de aliviar la ansiedad, sedar y provocar ligera anestesia y amnesia anterógrada. Es bien absorbido después de dosis orales únicas e induce un rápido comienzo de los efectos clínicos. Inicialmente, estos efectos pueden ser transitorios, debido a la excesiva distribución tisular. Una vez que se completa la distribución, la eliminación es lenta. (Remington, 1995).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El estudio se desarrolló en los laboratorios de Farmacognosia Jack Harrison Thiel y Toxicología Rubén Gil, de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga, ubicada en la provincia de Huamanga, a una altitud de 2750 m.s.n.m. durante los meses de agosto y setiembre del 2010.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1. POBLACIÓN

Perezia coerulescens Wedd “mancharisqa” recolectadas en los meses de abril a junio del 2010 en la zona de Niñobamba del distrito de Paras de la provincia de Cangallo, departamento de Ayacucho.

3.2.2. MUESTRA

Un kilogramo de rizomas de *Perezia coerulescens Wedd* “mancharisqa”

3.2.3. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 160 ratones albinos machos *Mus músculus* cepas Balb/c/CNPB, peso entre 20 a 30 gramos de un mes y medio de edad. Procedentes del Bioterio

del Instituto Nacional de Salud, ubicado en el distrito de Chorrillos de la ciudad de Lima, alimentados con ratorina peletizada, con agua *ad libitum*. Adquiridos con una semana de anticipación para su ambientación en el Bioterio de los Laboratorios de Farmacia y Bioquímica.

3.3. MÉTODOS PARA LA OBTENCIÓN DE DATOS

3.3.1. RECOLECCIÓN

Se recolectaron plantas fisiológicamente maduras, sanas y vigorosas, se trató en lo posible de extraer la planta entera sin malograr las rizomas, que es lo que se utiliza. Para la recolección de muestras, se emplearon: pico, bolsas de polietileno, libreta de campo y altímetro.

3.3.2. DESECACIÓN

La muestra de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" procedentes de Niñobamba, debidamente lavadas, se secaron en la sombra por 30 días; a temperatura ambiente ventilada y extendidos sobre papel periódico. Una pequeña fracción sirvió para la identificación taxonómica; que fue certificado por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 01).

3.3.3. MOLIENDA Y ALMACENAMIENTO

Los rizomas secos fueron molidos en un mortero, obteniéndose un producto de partículas homogéneas lista para las pruebas preliminares y la preparación del extracto hidroalcohólico al 80%.

3.3.4. CONCENTRACIÓN Y SECADO

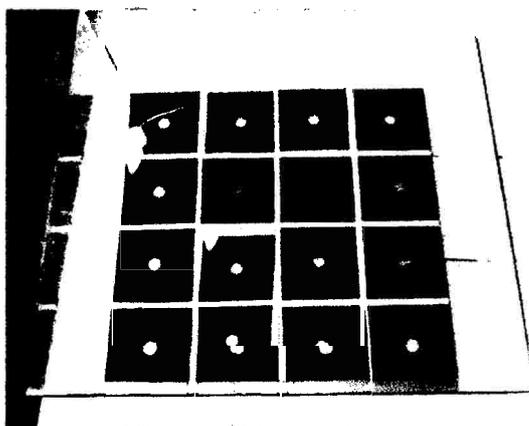
La concentración fue realizada en rotavapor Buchi R -3000 a 80 °C y 90% de revolución. Para conseguir un residuo seco se utilizo una estufa Memmert modelo 600 a 40 °C por 72 horas, el extracto resultante fue utilizado para estudios farmacológicos.

3.4. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Para la detección de los metabolitos secundarios de los rizomas de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" se utilizaron muestras secas y pulverizadas, lo que se sometió a extracción con alcohol de 80 % por 14 días, y se utilizaron las técnicas descritas por Lock de Ugaz (1994).

3.5. MÉTODOS FARMACOLÓGICOS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD SEDANTE

3.5.1. TEST DE LA PLACA AGUJERADA (José y Monteiro, 2001)



FOTOGRAFÍA N° 01. Observación del comportamiento del ratón en el equipo de la placa agujerada. Ayacucho 2010.

FUNDAMENTO

La prueba de la placa agujerada, mide la actividad de un ratón en una situación libre. Se realizó en una tabla cuadrada con 16 agujeros en donde el ratón pasa periódicamente la cabeza dentro de los agujeros, se determinó el número de agujeros explorados durante 5 minutos. El test permitió apreciar la curiosidad, la actividad exploradora, por lo cual estos efectos permiten seguir la reacción de exploración, comportamiento y curiosidad del ratón. La administración de un inhibidor del sistema nervioso central provocó disminución de la curiosidad, exploración.

PROCEDIMIENTO

Se trabajaron con 25 ratones albinos machos con un peso de 20 a 30 gramos, asignando 5 ratones por cada lote experimental. Al lote control se le administró cloruro de sodio 0.9 % con una dosis de 100 mg/kg, al lote referencia se le administró diazepam en dosis de 15 mg/kg de peso 1 hora antes del experimento, al tercer lote se administró 100 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa", al cuarto lote se administró 300 mg/kg de peso del extracto y al quinto lote se administró 500 mg/kg de peso del extracto, siempre una hora antes de iniciar las observaciones. A todos ellos se les administró por vía oral. Se colocó delicadamente al ratón en el centro de la tabla. El número de agujeros explorados son contados y anotados al término de cada minuto durante 5 minutos; no se tomó en cuenta el paso del ratón por el agujero sin exploración, la exploración de los bordes de la tabla, ni la introducción de la cabeza en el mismo agujero varias veces. Se anotó el número de agujeros explorados por minuto y el número total durante los 5 minutos.

3.5.2. TEST DE ROTA ROD (José y Monteiro, 2001)



FOTOGRAFÍA N° 02. Observación del comportamiento de los ratones en el equipo de Rota Rod. Ayacucho 2010.

FUNDAMENTO

La prueba de Rota Rod, evalúa los reflejos de equilibrio y coordinación en ratones. La administración de un inhibidor del Sistema Nervios Central provoca disturbios de coordinación y caída del animal.

PROCEDIMIENTO

Se trabajaron con 25 ratones albinos machos con un peso de 20 a 30 gramos, asignando 5 ratones por lote experimental.

Al lote control se le administró Cloruro de sodio 0.9 % con una dosis de 100 mg/kg, al lote referencia se le administró diazepam en dosis de 15 mg/kg de peso 30 minutos antes del experimento, al tercer lote se administró 100 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa", al cuarto lote de administró 300 mg/kg de peso del extracto y al quinto lote se administró 500 mg/kg de peso del extracto, media hora antes de iniciar las observaciones. A todos ellos se administró vía oral. Se verifico con anterioridad que los ratones sean capaces de mantenerse indefinidamente sobre el eje que gira, fueron entrenados consecutivamente, observándose durante dos minutos; los ratones que no lograron mantenerse se descartaron del test. Consistió en mantener a un ratón en posición en un eje que gira a 16 rpm durante 3 minutos. Las mediciones se realizaron a los 30 minutos, 1 y 2 horas. Se midió el número de ratones que se cayeron en 3 minutos

3.5.3. TEST DE LA CHIMENEA (Roca, 2005)

FUNDAMENTO

La prueba de la Chimenea permite apreciar las funciones de equilibrio y tono muscular. La administración de un inhibidor del sistema nervioso central (diazepam) provoca disminución de equilibrio y coordinación.



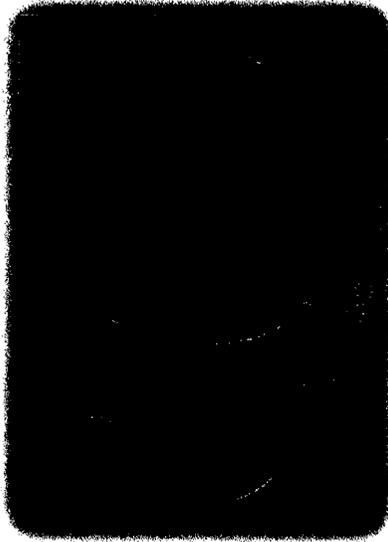
FOTOGRAFÍA N° 03. Observación del comportamiento del ratón en el equipo de chimenea. Ayacucho 2010.

PROCEDIMIENTO

Se trabajaron con 25 ratones albinos machos con un peso de 20 a 30 gramos, asignando 5 ratones por lote experimental.

Al lote control se le administró Cloruro de sodio 0.9 % con una dosis de 100 mg/kg, al lote referencia se le administró diazepam en dosis de 15 mg/kg de peso 30 minutos antes del experimento, al tercer lote se administró 100 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa", al cuarto lote se administró 300 mg/kg de peso del extracto y al quinto lote se administró 500 mg/kg de peso del extracto, media hora antes de iniciar las observaciones. A todos ellos se administró vía oral. Al tubo se colocó en posición horizontal, luego se introdujo por la boca del tubo al ratón con la cabeza hacia delante, empujándolo con una varilla de vidrio, hasta que llegue al otro extremo; se colocó el tubo en posición vertical e inmediatamente el ratón intentó subir en retroceso. Se anotó el tiempo de subida hasta la marca de 20 cm de la base del tubo. Las mediciones se realizaron a los 30 minutos, 1 y 2 horas.

3.5.4. PRUEBA DE NATACIÓN FORZADA (Flores, col., 2005)



FOTOGRAFÍA N° 04. Observación del comportamiento del ratón en el equipo de nado forzado. Ayacucho 2010.

FUNDAMENTO

El modelo del nado forzado, uno de los más ampliamente utilizados, por su valor predictivo, ya que posee una alta capacidad para detectar actividad, ansiolítica y sedante en un gran número de sustancias.

PROCEDIMIENTO

o Los animales fueron transportados 60 minutos antes de la sesión de habituación.

Los animales fueron identificados y clasificados aleatoriamente.

o Se realizó una sesión de prueba que consistió en forzar a los animales a nadar, en una piscina cilíndrica, durante 15 minutos.

o Al término de la sesión los ratones fueron retirados del cilindro y secados para finalmente retornar a sus jaulas.

o Posteriormente se realizó la administración de los tratamientos, según corresponda.

Se trabajó con 25 ratones albinos machos con un peso de 20 a 30 gramos, se asignaron 5 ratones por cada lote experimental.

Al lote control se le administró Cloruro de sodio 0.9 % con una dosis de 100 mg/kg, al lote referencia se le administró diazepam en dosis de 15 mg/kg de peso 1 hora antes del experimento, al tercer lote se administró 100 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa", al cuarto lote se administró 300 mg/kg de peso del extracto y al quinto lote se administró 500 mg/kg de peso del extracto, siempre una hora antes de iniciar las observaciones.

- Se administró los tratamientos vía oral.
- Una hora más tarde los animales fueron sometidos a sesión de prueba donde estos fueron forzados a nadar por un periodo de 5 minutos.
- La evaluación en la sesión de prueba, fueron basados en la observación de los movimientos orientados a escapar, inicialmente, seguidos de una postura de inmovilidad causada por la desesperanza.
- Se evaluó la frecuencia y duración de los siguientes comportamientos.

→ Inmovilidad: ausencia de la actividad, más que la necesaria para mantener la cabeza fuera del agua.

Se midió el tiempo de inmovilidad durante 5 minutos.

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para determinar la actividad sedante en ratones, se utilizó extracto hidroalcohólico de rizomas de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa"

Se trabajaron con 160 ratones, con 60 ratones se realizó la prueba piloto y selección para realizar las respectivas pruebas, y con 100 ratones se realizó el experimento final, de la cuales se formaron 5 grupos de 25 ratones, por cada prueba, cada muestra fueron ordenadas de la siguiente forma.

- Grupo N° 1 Control- Cloruro de sodio 0.9%
- Grupo N° 2 Referencia - Diazepam 15 mg/kg
- Grupo N° 3 Extracto hidroalcohólico 100 mg/kg
- Grupo N° 4 Extracto hidroalcohólico 300 mg/kg
- Grupo N° 5 Extracto hidroalcohólico 500 mg/kg

Se trabajaron con 25 ratones albinos machos con un peso de 20 a 30 gramos, asignando 5 ratones por lote experimental.

3.7. ANÁLISIS DE DATOS

Se calculó la media, desviación estándar y se representaron en gráficos, la diferencia entre los tratamientos fueron evaluados utilizando la prueba de ANOVA, TUKEY con 95% de confianza.

IV. RESULTADOS

CUADRO N° 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de rizoma de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" Ayacucho 2010.

METABOLITOS	REACCIONES DE IDENTIFICACIÓN	RESULTADOS	COLORACIÓN Y PRECIPITACIÓN
Azúcares reductores	Ensayo de Benedict	++	pp. anaranjado
Triterpenos y/o Esteroides	Lieberman	+	Rojo
Saponina	Prueba de espuma	++	Espuma
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	++	Verde oscuro
Aminoácidos-aminas	Ninhidrina	+++	-
Quinonas	Borntrager	-	-
Flavonoides	Shinoda	-	-
Glicosidos-cardiotónicos	Kedde	-	-
Alcaloides	Dragendorff	++	Anaranjado
	Mayer	+	Blanco
	Wagner	++	Marrón
Catequinas	Luz ultra violeta	++	Mancha verde
Resinas	Alcohol	+	Precipitado

(+++): Abundante

(++): Poco abundante

(+): Presente

(-): Ausente

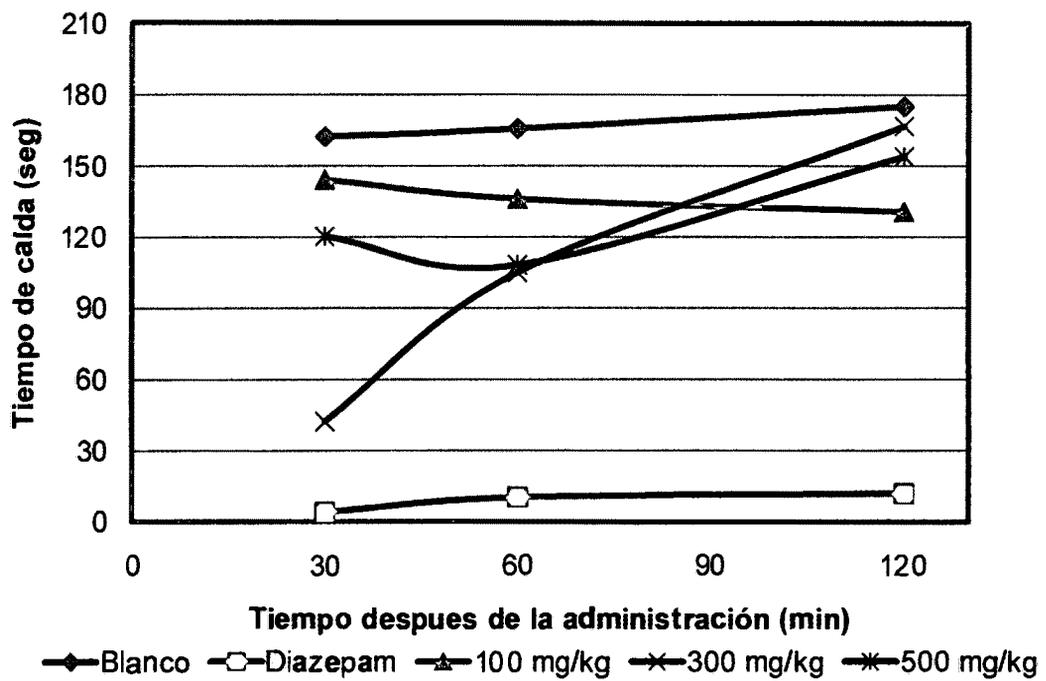


GRÁFICO N° 01. Tiempo de caída del ratón en Rota Rod por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* "mancharisqa" Ayacucho 2010.

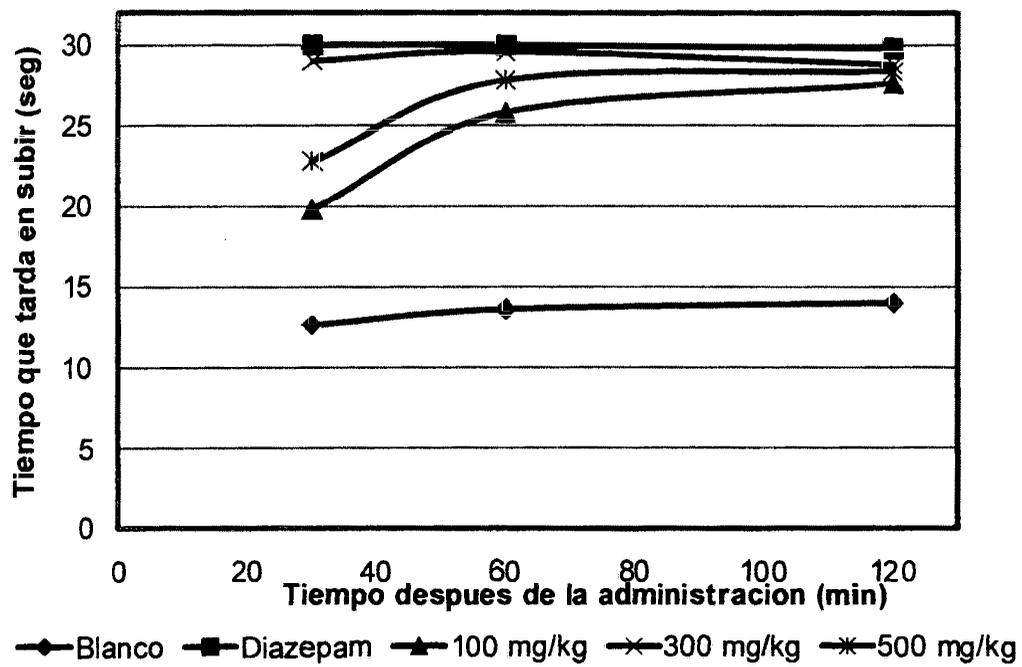


GRÁFICO N° 02. Tiempo de ascenso en la chimenea por el efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd*"mancharisqa" Ayacucho 2010.

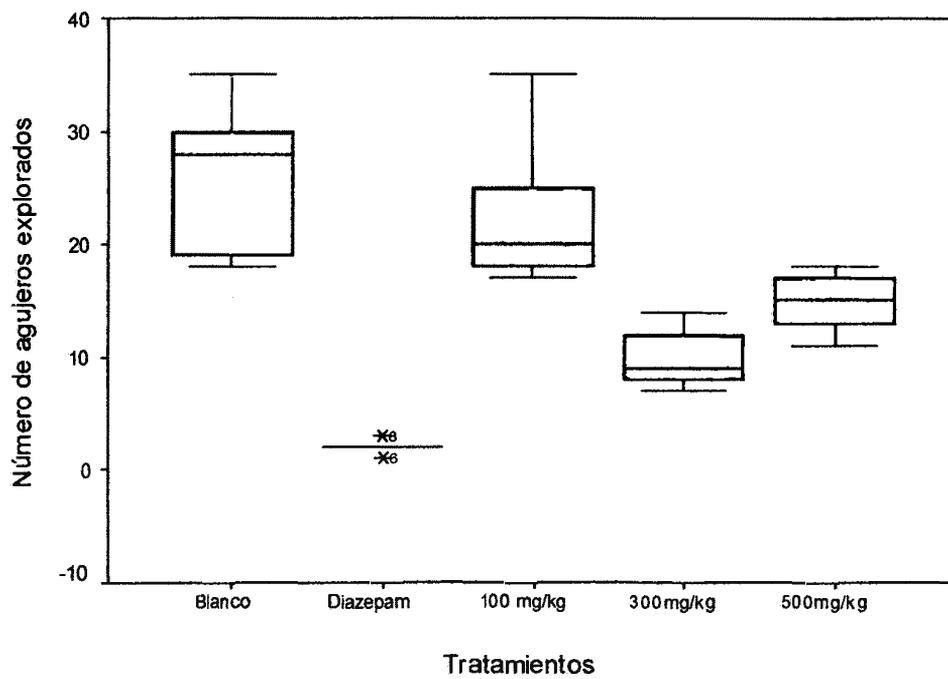


GRÁFICO N° 03. Variación del número de agujeros explorados por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" Ayacucho 2010.

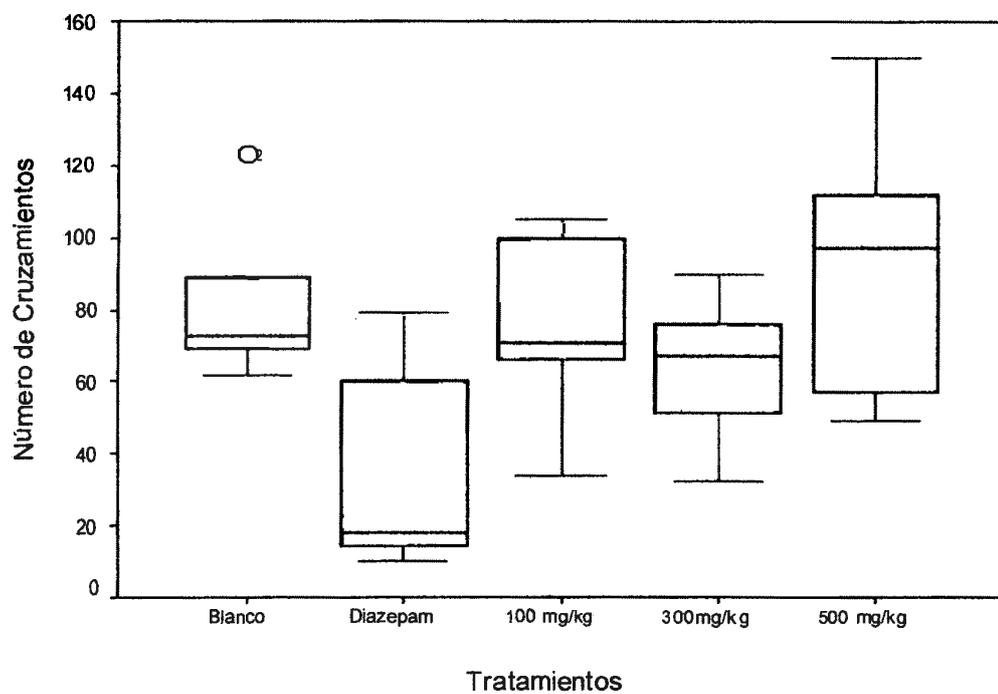


GRÁFICO N° 04. Variación del número de cruzamientos entre los cuadros demarcados por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" Ayacucho 2010.

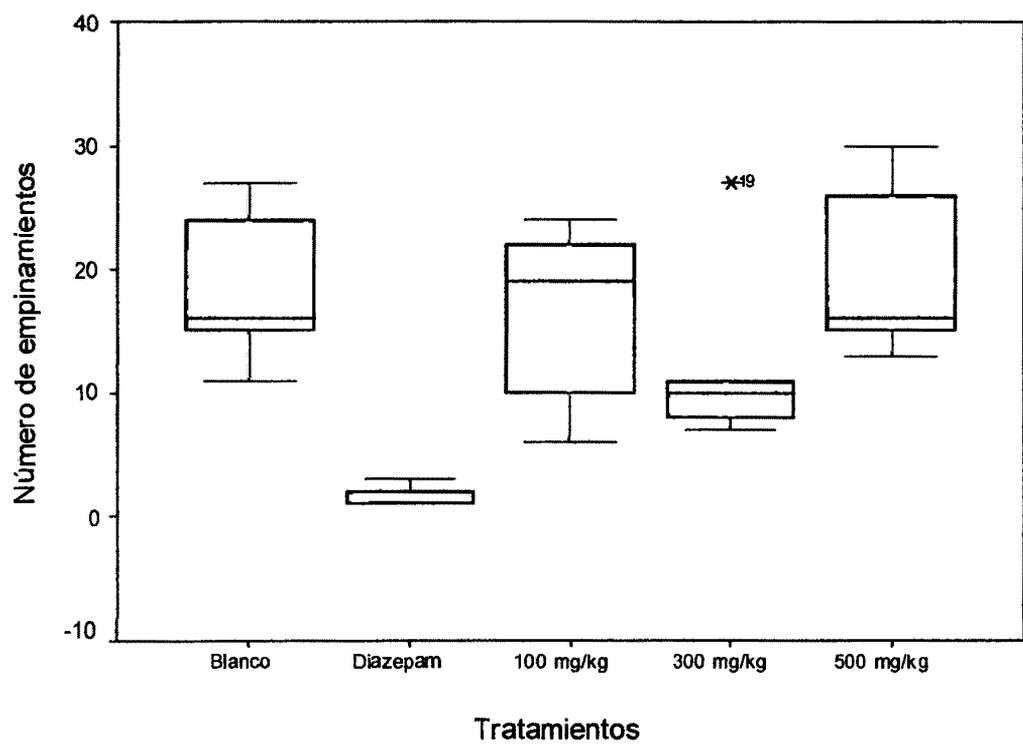


GRÁFICO N° 05. Variación del número de empinamientos por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" Ayacucho 2010.

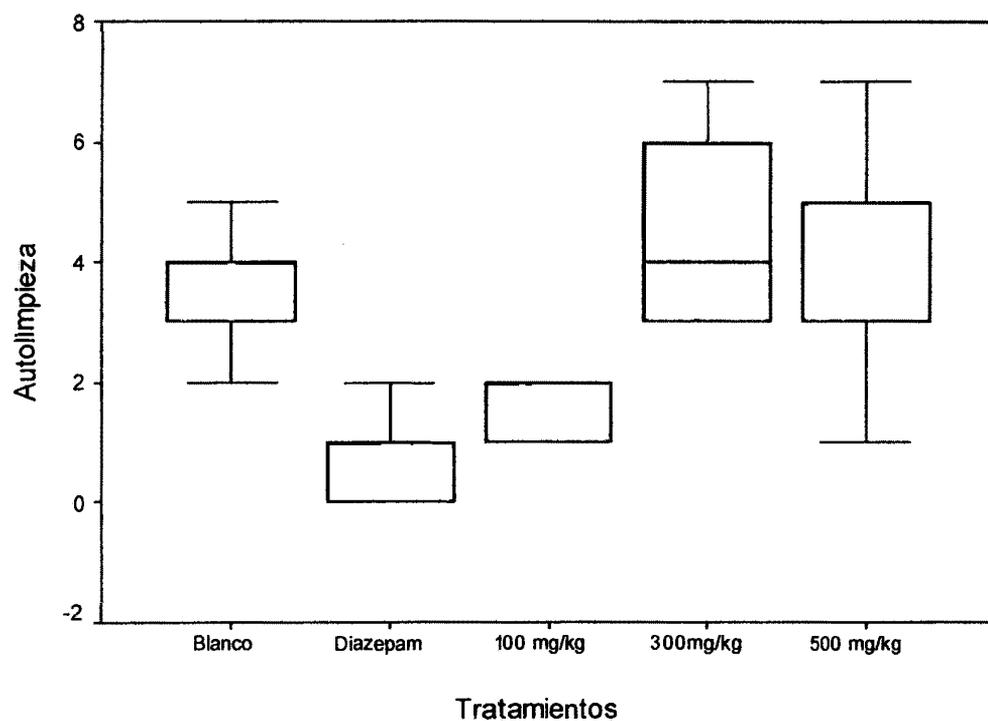


GRÁFICO N° 06. Variación del número de veces de autolimpieza por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" Ayacucho 2010.

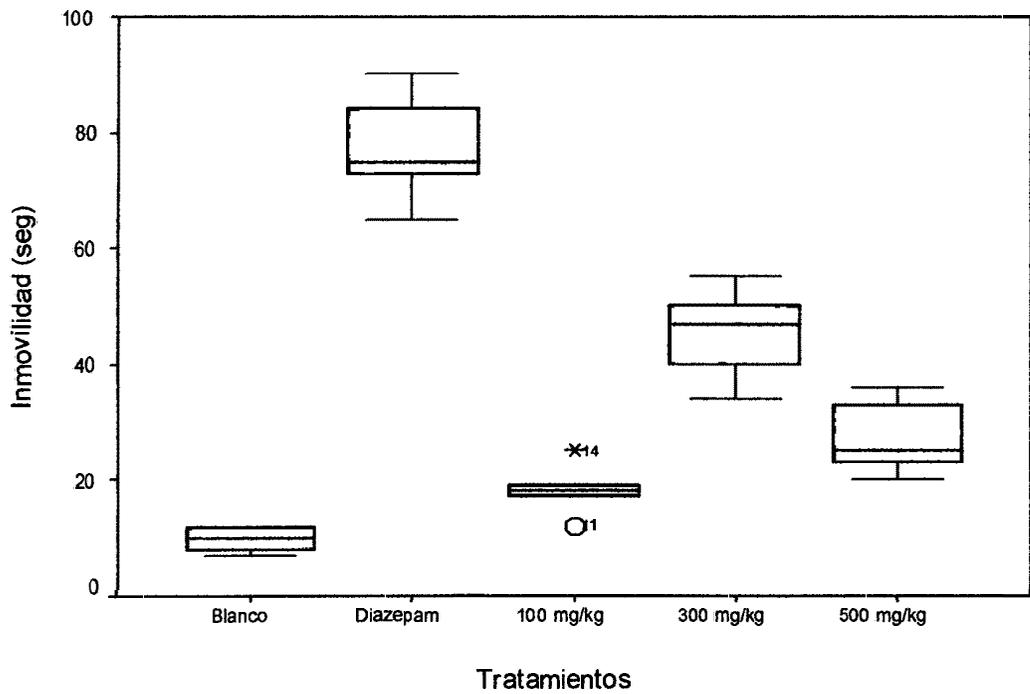


GRÁFICO N° 07. Tiempo de inmovilidad en nado forzado por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" Ayacucho 2010.

V. DISCUSIÓN

La realización de investigaciones hechas en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga con respecto a las plantas medicinales van teniendo importancia científica que corrobora el conocimiento popular, los resultados que se obtienen en este trabajo contribuye al conocimiento terapéutico del rizoma de *Perezia coerulescens* Wedd “mancharisqa” como agente sedante. No se ha encontrado trabajos específicos de actividad sedante de la especie en mención, pero si existen trabajos relacionados al estudio fitoquímico.

Validar una planta medicinal de uso tradicional o popular es, en el sentido estricto del término, comprobar los beneficios de su uso en la especie humana, es decir, garantizar que el agente fitoterapéutico sea seguro y eficaz.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, contribuye al conocimiento terapéutico y será una fuente de consulta que permitirá impulsar la investigación y servir para la complementación y orientación de trabajos futuros.

Se obtuvo el extracto hidroalcohólico de las rizomas de *Perezia coerulescens* Wedd “mancharisqa” realizándose el tamizaje fitoquímico. En el cuadro N° 01 se detalla los metabolitos secundarios encontrados en el extracto de rizomas de

Perezia coerulescens Wedd "mancharisqa" como: azúcares reductores, triterpenos y/o esteroides, saponinas, fenoles y taninos, alcaloides, catequinas, y resinas.

Según los estudios realizados en la Universidad Nacional Agraria La Molina, se reporta, la composición química y partes que se usan de seis especies, entre ellas *Perezia coerulescens*, cuyos componentes fitoquímicos encontrados fueron: Alcaloides, taninos, triterpenos y/o esteroides azúcares reductores, catequinas y principios amargos. Utilizando el método de Lock de Ugaz (1994).

También se puede citar a Romero (2005) en su trabajo Análisis fitoquímico y actividad farmacológica de *Perezia pinnatifida* "Valeriana" y *Perezia coerulescens* "Mancharisqa" en estado silvestre y cultivado, donde trabaja con especies recolectados en la localidad de Apacheta a una altitud de 4746 m.s.n.m. a 4800 m.s.n.m. reportando la existencia de metabolitos secundarios como: triterpenos y/o esteroides, lactonas y/o cumarinas, azúcares reductores, flavonoides y/o taninos, catequinas y resinas.

En el gráfico N° 01. Se observó en el test de Rota Rod, el tiempo que tardan en caer versus el tiempo transcurrido después de la administración observando los resultados de la prueba de Rota Rod, donde se muestra; valores promedio en ratones tratados a dosis de 300 mg/kg de peso, presentan inhibición del equilibrio y la coordinación durante los primeros 30 minutos de experimento; a 60 minutos de haber administrado el extracto, la actividad ha disminuido, a 120 minutos se observa resultados semejantes al grupo control.

Los ratones tratados con el fármaco control, se mantiene sobre el Rota Rod durante el tiempo de observación en mayor tiempo, mientras el grupo tratado con el diazepam a dosis de 15 mg/kg de peso, se mantiene sobre el Rota Rod por periodos cortos de tiempo, demostrando que el diazepam es un depresor del sistema nervioso central y el Rota Rod sirve para evaluar dicha actividad.

Para el análisis de este test se empleó, análisis de varianza al comparar con $p < 0.005$ existiendo diferencias significativas.

La administración previa de un inhibidor del sistema nervioso central, provoca disturbios de coordinación, produciendo la caída del ratón. Ello permite el estudio de los reflejos de equilibrio y coordinación de los animales bajo estudio. La administración de extractos que produce una inhibición del sistema nervioso central provocando cambios de coordinación produciendo la caída del ratón (Saravia, 2004). El diazepam produce relajación de la musculatura esquelética en estados distónicos, discinéticos, hipertónicos y espásticos. La acción mio-relajante ejerce sobre el sistema nervioso central (no en la placa motriz ni en el músculo) a varios niveles (Flores, 2005).

En el gráfico N° 02. Se observó en el test de la chimenea se trabajó el tiempo de subida versus el tiempo transcurrido después de la administración, los tratamientos con 300 mg/kg de peso, se asemeja al grupo del diazepam, muestran actividad durante los primeros 30, 60 y a 120 minutos con una disminución del efecto después de la administración. Con 500 mg/kg de peso se manifiesta leve disminución del tiempo de ascenso que pasado los 60 minutos disminuye el tiempo de ascenso y a 100 mg/kg en menor grado.

Se muestra que a medida que pasa el tiempo se produce disminución de la actividad motora, después de 30 minutos se manifiesta disminución de la movilidad del animal de laboratorio a dosis de 500 y 100 mg/kg respectivamente.

El grupo tratado con cloruro de sodio, el tiempo de ascenso es rápido a diferencia del grupo tratados con el diazepam el tiempo de ascenso es mayor.

Esta test evalúa las alteraciones en las funciones del equilibrio y el tono muscular. Para el análisis de este test se empleo un análisis de varianza. Los tratamientos mostraron actividad significativa estadísticamente al comparar,

$p < 0.005$. Esto indica que *Perezia coerulescens Wedd* “mancharisqa” tiene actividad sedante, deprimiendo el sistema nervioso central. En los animales tratados se manifiesta con tranquilidad y disminución de la movilidad.

Según la teoría de ocupación de receptores es posible asociar una ocupación creciente de los receptores con la acción progresiva, y esta progresión se inicia con la actividad ansiolítica, avanza hacia el efecto anticonvulsivante y sedante, y culmina con el efecto miorrelajante (Flórez, col., 1997).

La relajación musculo esquelético es característica del efecto de las benzodiazepinas, que no llega nunca a la parálisis, se realiza, a diferencia de la relajación muscular producida por los curarizantes. A nivel del sistema nervioso central, donde disminuyen los estímulos que llegan a la motoneuronas del asta anterior, sin afectar significativamente la eficiencia del nervio periférico o del propio musculo estriado (Velázquez, 1996).

La diferencia entre la dosis requerida para alterar la función motora varía en amplitud entre las benzodiazepinas depende de la especie y el método experimental y la dosis administrada (Goodman, 2006).

En el gráfico N° 03. Se observó en la prueba de la placa agujereada que a 300 mg/kg de peso se observa la disminución de la conducta exploratoria, seguido a 500 mg/kg de peso en menor grado. El grupo de diazepam disminuye el número de exploración de los agujeros. En tanto el grupo de ratones tratados con cloruro de sodio no disminuye su capacidad de exploración. Mostrando los primeros indicios de la actividad sedante al aumentar el estado de calma y somnolencia de los ratones.

Gráfico N° 04. Se observó en el test de la placa agujereada, en el número de cruzamientos entre los cuadrados demarcados existe disminución de la capacidad de movilizarse a dosis de 300 mg/kg de peso seguido de 100 mg/kg

de peso y por último de 500 mg/kg, al realizar comparación con el blanco no existe una diferencia notoria, en cuanto al grupo de los animales tratados con diazepam nos muestra que existe una disminución de la capacidad del animal de movilizarse. Para el análisis de este test se empleó un análisis de varianza.

Los tratamientos mostraron actividad significativa estadísticamente al comparar, $p < 0.005$.

Gráfico N° 05. Se observó en el test de la placa agujereada de la disminución del número de empinamientos a dosis de 300 mg/kg de peso muestra que se asemeja al grupo tratado con el diazepam, en cuando a los tratamientos a dosis de 100 mg/kg y 500 mg/kg se asemeja al grupos de ratones tratados con el blanco, un número menor en la actividad de empinamientos nos demuestra la disminución de la actividad exploradora, los ratones por su naturaleza siempre se comportan exploradores en lugares donde no es familiar. Para el análisis de este test se empleo un análisis de varianza. Los tratamientos mostraron actividad significativa estadísticamente al comparar $p < 0.005$.

En el gráfico N° 06. Se observó en el test de la placa agujereada, asociados a autolimpieza a dosis de 100 mg/kg de peso nos muestra un mayor número de veces de autolimpieza que se asemeja al grupo del diazepam y de 300 y 500 mg/kg de peso se asemeja al grupo tratados con cloruros de sodio, se realiza en menor frecuencia.

Para el análisis de este test se empleo un análisis de varianza. Los tratamientos mostraron actividad significativa estadísticamente al comparar $p < 0.005$. El test de la placa agujereada, nos permite apreciar el nivel de curiosidad, la actividad exploratoria, por la cual estos efectos permiten seguir la reacción de exploración, comportamiento y curiosidad (José y Monteiro, 2001).

Se observar la variación del tiempo de sedación con respecto al tiempo de tratamiento con diferentes concentraciones del extracto. La cual evalúa el nivel de curiosidad y la reacción exploratoria del ratón. En los tratamientos realizados del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" a dosis de 300 y 500 mg/kg de peso este ultimo muestra una disminución en su capacidad de explorar, y su comportamiento disminuye asemejándose al grupo de tratados con diazepam. Mostrando los primeros indicios de actividad sedante al aumentar el estado de calma y somnolencia de los ratones. Muestran actividad sedante durante los primeros 30 minutos después de la administración. Este efecto no permanece a lo largo del tiempo.

Además los ratones colocados en un ambiente no familiar manifiestan comportamiento explorador diferente de las benzodiazepinas (Goodman, 2006).

Existen trabajos realizados en la Universidad de San Carlos de Guatemala, donde se evalúa la actividad hipnótico-sedante de *Passiflora edulis* en este estudio se indica que la infusión de la planta da positivo al test de la placa agujereada. Y el investigador únicamente utilizó estadística descriptiva para analizar los resultados, de esta manera a dosis de 750 mg/kg la curiosidad se disminuye un 16.7 %, a dosis de 1000 mg/kg disminuye la curiosidad en 47.5 % pero no se puede determinar si es significativo estadísticamente (Pourgholami, 1999).

En el gráfico N° 07. Se observó en el test de nado forzado que a dosis de 300 mg/kg de peso muestra un aumento del tiempo de inmovilidad, seguido de 500 mg/kg de peso, que se asemejan al grupo referencia. Los animales tratados con el diazepam permanecen tranquilos en la piscina, por periodos prolongados, en tanto el grupo de animales tratados con cloruro de sodio se mantienen intranquilos, buscando la forma de salir. Para el análisis de esta test se empleo

un análisis de varianza. Los tratamientos mostraron actividad significativa estadísticamente al comparar $p < 0.005$.

Rodríguez y Contreras (2000), reportan la presencia de factores que pueden modificar la conducta de inmovilidad de los animales forzados a nadar como la secreción de sustancias de alarma liberados por el animal. Lo cual aumenta la conducta de inmovilidad en animales forzados a nadar en el agua donde anteriormente nado otro animal.

Los animales empleados en cada experimento tienden a aprender a mayor número de repeticiones expuestos.

Los efectos de sedación, hipnosis, disminución de la ansiedad, relajación muscular, amnesia anterógrada y actividad anticonvulsiva son los efectos más relevantes que producen las benzodiazepinas por sus acciones sobre el sistema nervioso central (Goodman, 2006). Los efectos de sedación, ansiolítico e incoordinación motora producidos por el extracto de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" podría asemejarse al de las benzodiazepinas y podrían deberse a un mecanismo común. Ya que se comporta de la misma forma que el animal en estudio. Aunque este último no ha sido corroborado.

Tras la recolección de las pruebas experimentales detalladas anteriormente y su análisis, podemos concluir que *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" podría es una planta medicinal cuyos efectos farmacológicos se manifiestan de manera fehaciente y el uso popular como ansiolítico, sedante tiene un sustento demostrable. Con respecto a los componentes, todavía no se ha encontrado aquel que sea el responsable total de la respuesta observada.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico obtenidos de rizomas de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" fue de color marrón claro con olor y sabor suigeneris y tiene efecto sedante a dosis ensayadas en ratones albinos.
2. Los rizomas de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" presentan: azúcares reductores, triterpenos y/o esteroides, saponinas, fenoles y taninos, alcaloides, catequinas y resinas.
3. El extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" tiene menor efecto sedante que el diazepam.
4. *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" tiene efecto sedante a dosis de 300 mg/kg y 100 mg/kg de peso, mostrando su mejor actividad farmacológica.

VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar el principio activo responsable de la actividad sedante de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa"
2. Continuar con los estudios terapéuticos y comprobar las propiedades farmacológicas atribuidas a la especie.
3. Realizar estudios de toxicidad del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa"
4. Trabajar en su formulación de producto fitoterapéutico de los rizomas de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" para consumo humano.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aldave, A. y Mostacero, J.** 1988. *Botánica Farmacéutica*. Editorial Libertad E.I.R.L. Primera Edición. Trujillo – Perú.
2. **Alarcón, R. y Mena, P.** 1994. *Etnobotánica, valoración económica y comercialización de recursos florísticos silvestres en el alto Napo-Ecuador*. *Revista Ecol. Apl.* Vol. 4 N° 1 y 2, pp. 9-16.
3. **Alarcón, R.** 1986. *“Psiquiatría” primera edición*. Editorial Médica Panamericana. Argentina.
4. **Ángeles, R., Lock, O., Salkeld, C. y Joseph, P.** 1984. *Phytochemistry*. Disponible en URL: [http // sisbib. UNMSM. edu. Pe / bibvirtualdata / libros/química/pigmentos/archivos%20PDF/benzoquinonas. pdf.](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/libros/química/pigmentos/archivos%20PDF/benzoquinonas.pdf) (Acceso setiembre del 2010).
5. **Alvarado, J.** 1999. *Manual de Farmacología*, segunda edición, Lima Perú.
6. **Baños, J. y Farré, M.** 2002. *“Principios de Farmacología Clínica”*. Editorial Masson. Primera edición. Barcelona España.
7. **Brack, A.** 1999. *Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú*. Editorial Programa de las Naciones Unidas Para el Desarrollo (PNUD). Cusco – Perú.
8. **Brailowsky, S.** 1995. *Las Sustancias De Los Sueños: Neuropsico Farmacología*. Editorial Fondo de la cultura económica. Primera edición. México.
9. **Carabez, A. Sandoval, F.** 1988. *The action of the sesquiterpenic benzoquinone, perezone on electron transport in biological membranes*. *Arch BiochemBiophys*.
10. **Conner, M.** 2001. *Economic botany*. In: *Plants in our world*. McGraw-Hill Companies. 3^{ra} edition.
11. **Enciclopedia De Plantas Medicinales.** 2003. *Propiedades y usos*. Editorial AFA Editores Importados S.A. Primera Edición. Lima – Perú.
12. **Enriquez, R., Ortega, J. y Lozoya, X.** 1980. *Active componentes in Pereziaroots*. *J. Ethnopharmacol.* México. Disponible en: PubMed. Dec; 2(4):389-93.
13. **Del Rio, J. y Almendra, J.** 2000. *Farmacología básica*. Editorial Síntesis. Primera edición. España
14. **Fattorusso, V. y Ritter, O.** 2001. *Vademécum Clínico Del Diagnostico Al Tratamiento*. Editorial El Ateneo. Novena edición. España.

15. **Flores, C., Cervantes, C. y Munares, G.** 2005. Modelos animales de enfermedad, ensayos farmacológicos en vivo. Primera edición, editorial Biblioteca Nacional del Perú. Lima Perú.
16. **Flórez, J., Armijo, J. y Mediavilla, A.** 1998. Farmacología Humana. Editorial Masson, S.A. Tercera Edición. Barcelona España.
17. **García, T., Domínguez, E. y Romo, J.** 1965. Bol. Inst. Quím. Universidad Autónoma de México.
18. **Gibaja, S.** 1998. Pigmentos naturales quinónicos. Fondo Editorial Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
19. **Guzmán, S., Balderas, J., Aguilar, A. y Navarrete, A.** 2009. Sedative activity of some plants used in Mexico to treat insomnia. Universidad Autónoma de México. Revista Latinoamer. Quím. 37/3. Pagina. 243-244-245.
20. **Goodman, A.** 2006. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Editorial Mc Graw – Hill Interamericana. Decima edición. México.
21. **José, L. y Monteiro, T.** 2001. Métodos farmacológicos para la Validación de plantas medicinales, CYTED. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana.
22. **Katzung, B.** 2001. Farmacología Básica y Clínica. 8ª. Ed. El Manual Moderno. México.
23. **Köhler, B., Gigon, A., Edwards, P., Krüsi, B., Langenauer, R., Lüscher, A. y Ryser, P.** 2005. Changes in the species composition and conservation value of limestone grasslands in Northern Switzerland after 22 years of contrasting managements. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics. Revista. Ecol. Apl. Vol. 4 Nº 1 y 2, pp. 9-16
24. **Litter, M.** 1959. Farmacología. Editorial El Ateneo. Primera impresión. Buenos Aires Argentina.
25. **Lock, O.** 1994. Investigación Fitoquímica. Editorial De La Pontificia Universidad Católica Del Perú. Segunda Edición. Perú.
26. **Martínez, A., Bernal, Y. y Cáceres, A.** 2000. Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales Iberoamericanas. Santafé de Bogotá, Colombia. Convenio Andrés Bello/Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.
27. **Miraldi, E., Ferri, S. y Mostaghimi, V.** 2001. Botanical drug and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan, Iran. Journal of Ethnopharmacology Ecol. Apl. Vol. 4 Nº 1 y 2, pp. 9-16.
28. **Miranda, M.** 1996. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Universidad de la Habana – Instituto de Farmacia y Alimentos. Habana – Cuba.

29. **Morales, R.** 1996. Farmacología y Farmacognosia como fuentes de validación y contraste en etnobotánica. Jardín Botánico de Córdoba. Argentina.3: 93-98.
30. **Moscoso, M.** 1963. Secretos Medicinales de la Flora Peruana. Cusco
31. **Muñoz, F.** 1987. Plantas medicinales y aromáticas. Estudio, cultivo y procesado. Ed. Mundi. Madrid.
32. **Pourgholami, M.** 1999. The fruit essential oil of pimpinella anisum experts anticonvulsant effects in mice. Jornal or Ethnopharmacology. Vol. 66.
33. **Remington. J.** 1998. Farmacia. Tomo II. Editorial médica panamericana, 19 ediciones. Buenos Aires. Argentina.
34. **Roca, C.** 2005. Evaluación comparativa de la acción sedante e hipnótica de un elixir fitoterapéutico y la combinación de las plantas originales. Universidad De San Carlos De Guatemala. (acceso setiembre 2010)
35. **Rodríguez, J. y Contreras, C.** 2000. Los Fármacos antidepresivos y la conducta de inmovilidad en la prueba de nado forzado. Arc. Neurocién. 5 : 74-83.
36. **Romero, M.** 2005. Análisis Fitoquímico y Actividad Farmacológica de *Perezia pinnatifida* "Valeriana" y *Perezia coerulescens* "Mancharisqa" en estado Silvestre y Cultivado. Ayacucho – Perú.
37. **Saravia, A.** 2004. Manual de ensayos toxicológicos y farmacológicos "in vivo e in vitro" Guatemala: Educación universitaria.
38. **Siegel, E. y Buhr, A.** 1997. The Benzodiazepine Binding sites of GABA_A receptors. TiPS vol 18; 425-429.
39. **Tovar, O.** 2001. Plantas Medicinales del Valle de Mantaro. CONCYTEC. Lima– Perú.
40. **Universidad Nacional Agraria La Molina.**1994. Extractos Tranquilizantes de Hierbas Andinas. Corporación Internacional Salud y Vida E.I.R.L. Chaclacayo – Lima.
41. **Velázquez. A.** 1996. Farmacología. 16 ediciones, editorial interamericana Mc Graw Hill. España.
42. **Walls, F., Padilla, J., Joseph-Nathan, P., Giraldo, F. y Romo, J.** 1965. Tetrahedron Letters.
43. **Xaviera, G., Alcántara, G. y Cartas, L.** 2000. Actions of perezone on rat smooth muscle. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en. Available online 27 January 2000.

ANEXOS

ANEXO N°01



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

C E R T I F I C A

Que, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica Sr. Lucas, PRADO HUAMACCTO,
ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.
Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de
Engler y Prantl, modificado por Melchior, y es como sigue:

DIVISIÓN	:	ANTOPHYTA (ANGIOSPERMAE)
CLASE	:	DICOTILEDONEAE
SUBCLASR	:	METACLAMIDEAS
ORDEN	:	CAMPANULALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Perezia
ESPECIE	:	Perezia coerulescens Wedd.
N.V.	:	"mancharisqa"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del
interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 20 de mayo del 2010.



Herbarium Huamangensis

Blga. Laura Aucasime Medina
Jefe

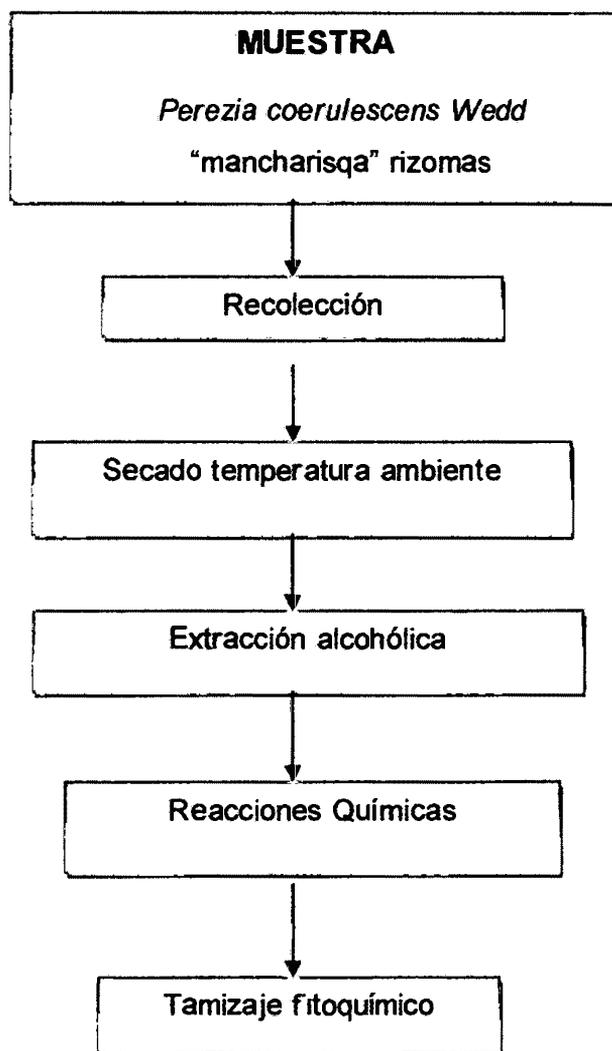


FIGURA N° 01. Flujograma para el tamizaje fitoquímico

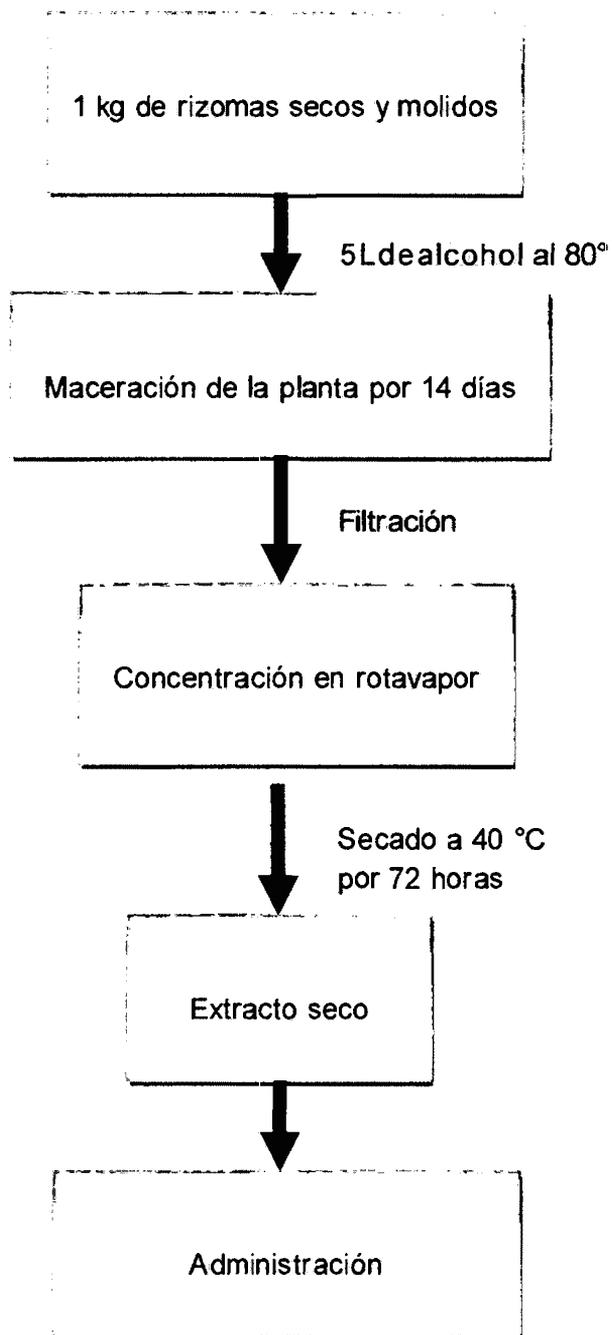


FIGURA N ° 02. Métodos de extracción de metabolitos secundarios

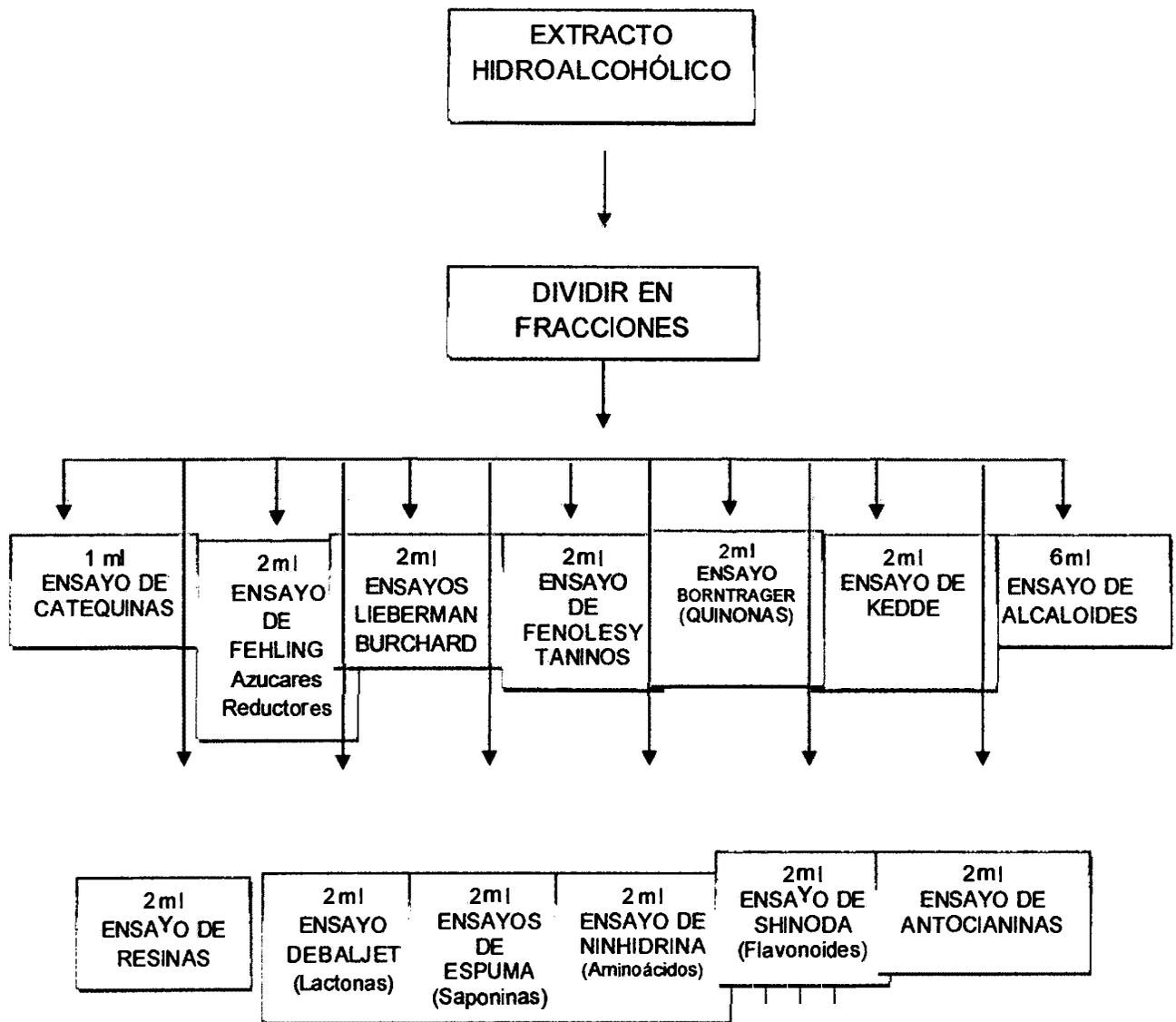


FIGURA N° 03. Métodos para análisis fitoquímico

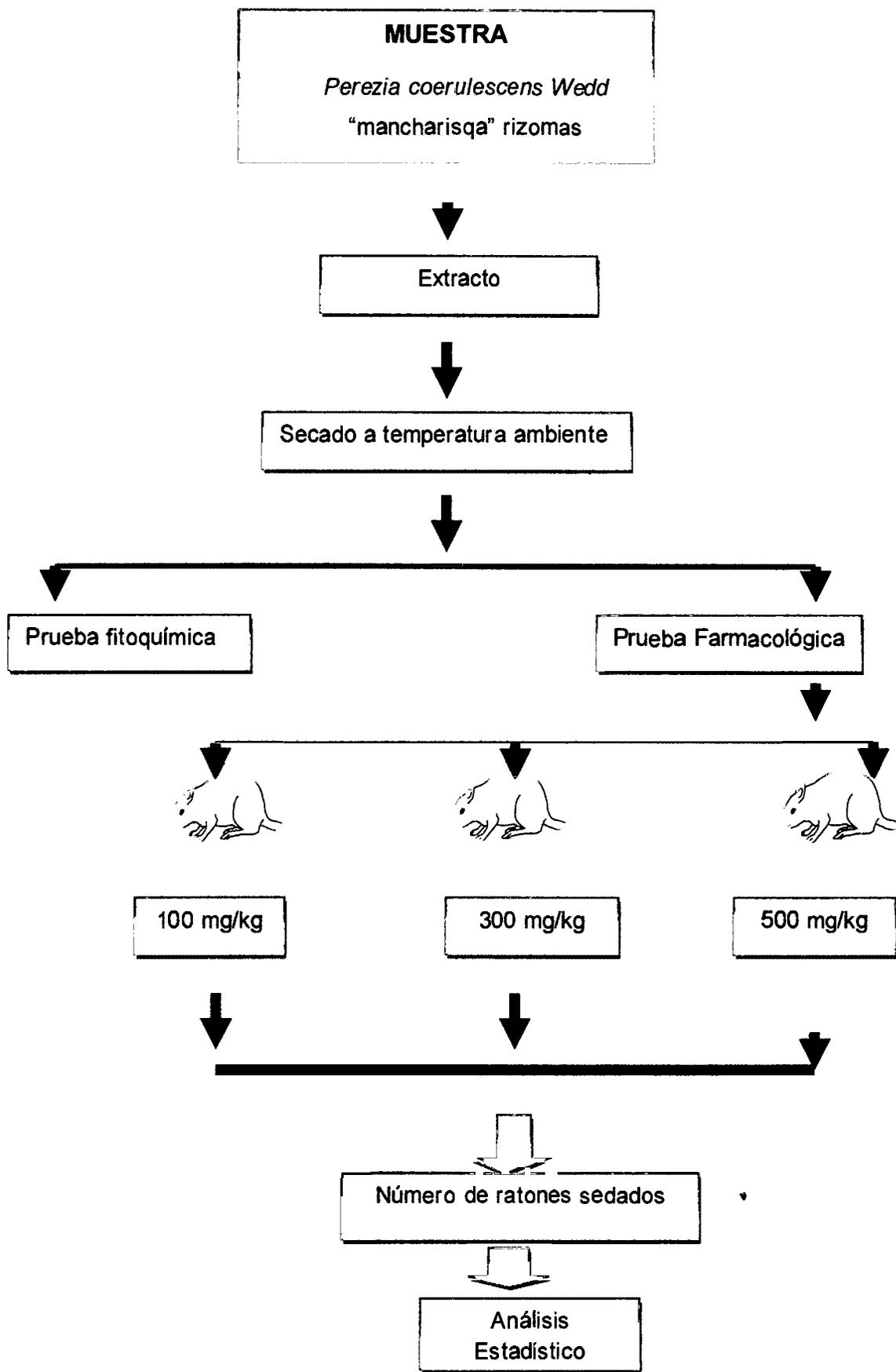


FIGURA N° 04. Flujograma experimental



FOTOGRAFÍA N° 05. *Perezia coerulescens* Wedd “mancharisqa” en estado silvestre. Ayacucho 2010.



FOTOGRAFÍA N° 06. *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" procedentes de Niñobamba distrito de Paras, Ayacucho 2010.



FOTOGRAFÍA N°07. Rizomas de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa".

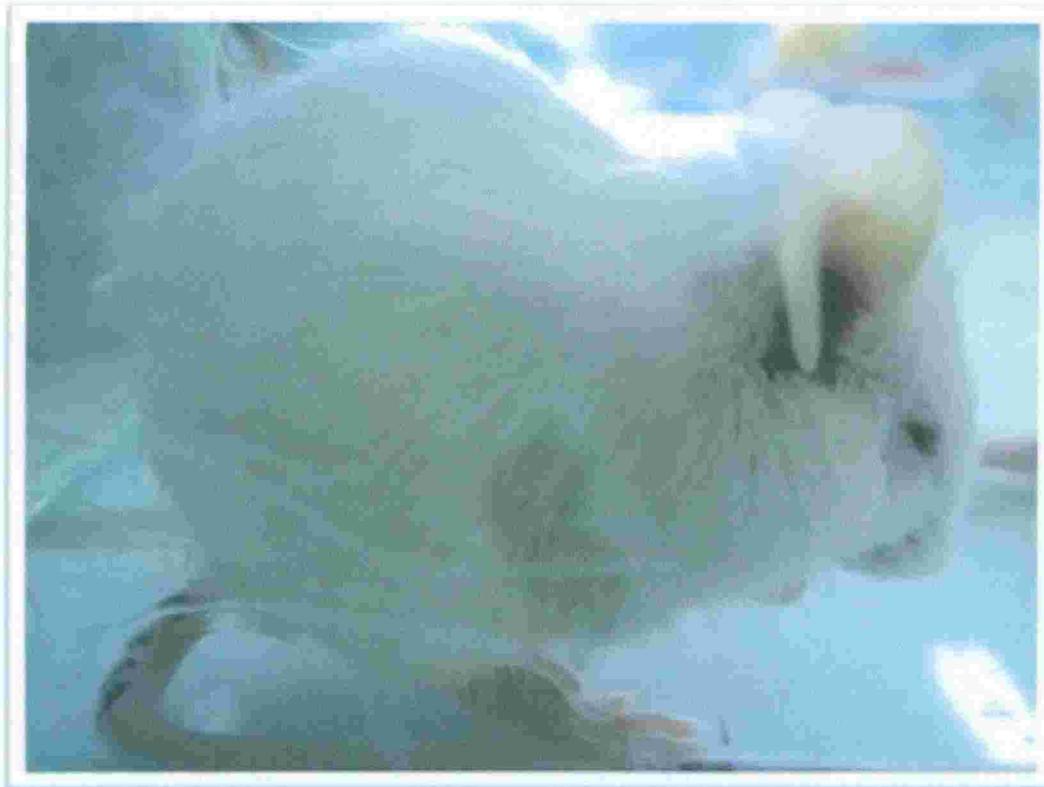
Ayacucho 2010.



FOTOGRAFÍA N° 08. Frascos de maceración con rizomas de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" Ayacucho 2010.



FOTOGRAFÍA N° 09. Tubos conteniendo la reacción de coloración de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa" (laboratorio de farmacognosia). Ayacucho 2010.



FOTOGRAFIA N° 12. Ratón sedado con extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa". Ayacucho 2010.



FOTOGRAFIA N° 13. Ratones bajo el efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd "mancharisqa". Ayacucho 2010.

CUADRO N° 02. Análisis de varianza del tiempo de equilibrio en Rota Rod, por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" Ayacucho 2010.

			Método único				
			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
ROTA ROD	Covariables	TIEMPO	3711.680	1	3711.680	7.210	.009
	Efectos principales	Tratamientos	218954.2	4	54738.553	28.784	.000
	modelo		232665.9	5	46533.179	24.469	.000
	Residual		131216.5	69	1901.688		
	Total		363882.3	74	4917.329		

a. ROTA ROD por Tratamientos con TIEMPO

b. Todos los efectos introducidos simultáneamente

CUADRO N° 03. Análisis de varianza del tiempo ascenso en la chimenea por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" Ayacucho 2010.

			Método único				
			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
CHIMENE	Covariables	TIEMPO	103.680	1	103.680	6.367	.014
A	Efectos principales	Tratamientos	2662.080	4	665.520	40.872	.000
	modelo		2765.760	5	553.152	33.971	.000
	Residual		1123.520	69	16.283		
	Total		3889.280	74	52.558		

a. CHIMENE A por Tratamientos con TIEMPO

b. Todos los efectos introducidos simultáneamente

CUADRO N° 04. Análisis de varianza en el test de placa agujereada por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* “mancharisqa” Ayacucho 2010.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Número de agujeros explorados	Inter-grupos	1894.560	4	473.640	18.915	.000
	Intra-grupos	500.800	20	25.040		
	Total	2395.360	24			
Número de Cruzamientos	Inter-grupos	9594.160	4	2398.540	2.598	.067
	Intra-grupos	18461.200	20	923.060		
	Total	28055.360	24			
Número de empinamientos	Inter-grupos	1087.600	4	271.900	5.908	.003
	Intra-grupos	920.400	20	46.020		
	Total	2008.000	24			
Autolimpieza	Inter-grupos	52.800	4	13.200	6.111	.002
	Intra-grupos	43.200	20	2.160		
	Total	96.000	24			

CUADRO N° 05. Prueba de tukey de los números de agujeros explorados por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* “mancharisqa” Ayacucho 2010.

Tratamientos	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Diazepam	5	2.00			
300 mg/kg	5	10.00	10.00		
500 mg/kg	5		14.80	14.80	
100 mg/kg	5			23.00	23.00
Blanco	5				26.00
Sig.		.124	.564	.110	.875

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000

CUADRO N° 06. Prueba de tukey de número de empinamientos por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens* Wedd “mancharisqa” Ayacucho 2010.

Tratamientos	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Diazepam	5	1.60	
300 mg/kg	5	12.60	12.60
100 mg/kg	5		16.20
Blanco	5		18.60
500 mg/kg	5		20.00
Sig.		.116	.442

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000

CUADRO N° 07. Prueba de tukey de los números de veces de autolimpieza por efecto del extracto de *Perezia coerulescens* Wedd “mancharisqa” Ayacucho 2010.

Tratamientos	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Diazepam	5	.80		
100 mg/kg	5	1.40	1.40	
Blanco	5	3.40	3.40	3.40
500 mg/kg	5		3.80	3.80
300 mg/kg	5			4.60
Sig.		.074	.112	.699

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000

CUADRO N° 08. Análisis de varianza del tiempo inmovilidad en nado forzado por efecto del extracto hidroalcohólico de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" Ayacucho 2010.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inmovilidad (seg)	Inter-grupos	14375.200	4	3593.800	75.755	.000
	Intra-grupos	948.800	20	47.440		
	Total	15324.000	24			

CUADRO N° 09. Prueba de tukey del tiempo de inmovilidad por efecto del extracto de *Perezia coerulescens Wedd* "mancharisqa" Ayacucho 2010.

Tratamientos	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Blanco	5	9.80			
100 mg/kg	5	18.20	18.20		
500mg/kg	5		27.40		
300mg/kg	5			45.20	
Diazepam	5				77.40
Sig.		.335	.254	1.000	1.000

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

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>Efecto sedante del extracto hidroalcohólico del rizoma de <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa" en ratones albinos, Ayacucho 2010.</p>	<p>¿Tendrá efecto sedante el extracto hidroalcohólico del rizoma de <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa" administrados a ratones albinos?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar el efecto sedante de rizomas <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa". <p>OBJETIVO ESPECÍFICO</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar los metabolitos secundarios presentes, mediante el tamizaje fitoquímico del rizoma de <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa". Comparar los resultados obtenidos del extracto alcohólico del rizoma <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa" con un estándar. Determinar la concentración de mayor efecto sedante del rizoma de <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa". 	<p>MARCO TEÓRICO</p> <p>DESCRIPCIÓN BOTÁNICA</p> <p>Hierba acaule o subacaule, perenne, rizomatosa, rizoma mas o menos oblicuo, subcónico, truncado. Hojas arrosétadas. Flores (18-25 flores) isomorfas de desigual desarrollo. Corola de color azul-violáceo generalmente, Estilo filiforme de 13-16 mm de largo, glabro; ramas de 1-1,3 mm de largo, divergentes, ligeramente achatadas, ápice truncado y papiloso.</p> <p>USOS MEDICINALES</p> <p>En nuestro medio andino, los rizomas son utilizados por sus propiedades sedantes del sistema nervioso central, para aliviar los dolores de cabeza, convulsiones, dolores después del parto, para bajar la presión alta, como antiespasmódico.</p> <p>SEDANTE</p> <p>Un Sedante disminuye la actividad motora, modera la excitación y tranquiliza en general a la persona que lo recibe.</p> <p>BENZODIACEPINAS</p> <p>Son sustancias activas con efecto sedante, hipnótico.</p> <p>EFFECTOS FARMACOLÓGICOS DE BENZODIACEPINAS</p> <p>La mayoría de los benzodiazepinas producen ansiólisis, sedación, hipnosis, efectos anticonvulsivantes y miorelajación central</p> <p>MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS BENZODIACEPINAS</p> <p>La acción molecular de las benzodiazepinas se basa en dos hechos fundamentales: facilitan la transmisión fisiológica de carácter inhibidor mediada por GABA y se fijan en el SNC a sitios específicos con una afinidad que guarda estrecha relación con su potencia ansiolítica</p> <p>EFFECTOS ADVERSOS</p> <p>Por vía oral: somnolencia, sensación de ebriedad, incoordinación motora. En ocasiones, excitación, euforia, ataxia, hipotensión; rara vez, inhibición de la médula ósea, erupciones cutáneas, compromiso hepático.</p> <p>Diazepam</p> <p>Es una Benzodiazepina indicada para el alivio sintomático de la tensión, sedación y la ansiedad.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico del rizomas de <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa" tiene efecto sedante a concentraciones en ratones albinos.</p>	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Extracto hidroalcohólico del rizoma de <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa"</p> <p>INDICADOR</p> <p>Concentraciones: 100 mg/kg, 300 mg/kg, 500 mg/kg</p> <p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Efecto sedante del extracto hidroalcohólico del rizomas de <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa"</p> <p>INDICADOR</p> <p>Tiempo de exploración en la placa agujereada, Tiempo de equilibrio en el equipo de Rota-Rod,</p> <p>Tiempo de ascenso del ratón en la técnica de la chimenea, Tiempo de natación en la técnica de natación forzada</p>	<p>POBLACIÓN</p> <p><i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa" que crecen a una altitud límite inferior de 3800 m.s.n.m. y el límite superior de 4600 m.s.n.m. colectadas de la localidad de Niñobamba distrito de Paras Provincia de Cangallo.</p> <p>MUESTRAS</p> <p>un kilogramo de rizomas de <i>Perezia coerulescens Wedd</i> "mancharisqa"</p> <p>UNIDAD EXPERIMENTAL</p> <p>Ratones Suizos albinos adquiridos del INS.</p> <p>TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE <i>Perezia coerulescens wedd</i> "mancharisqa"</p> <p>Fue utilizado las técnicas descritas por Olga Lock de Ugaz.</p> <p>DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD SEDANTE</p> <p>Test de la placa agujereada.</p> <p>Test de Rota-Rod</p> <p>Test de la chimenea</p> <p>Prueba de natación forzada</p> <p>DISEÑO EXPERIMENTAL</p> <p>Se trabajaron con 25 ratones por cada prueba, con ratones albinos con un peso de 20 – 25 gramos, asignando 5 ratones por lote experimental. Al lote control se le administra clonuro ninguna solución, al lote patrón se le administra diazepam en dosis de 30 mg/kg de peso 30 minutos antes del experimento, a un tercer lote se administra una dosis de 100 mg/kg de peso de la infusión a investigar y el cuarto y quinto lote recibe una dosis de 300 mg/kg y 500 mg/kg de peso del extracto de la planta siempre 30 minutos antes de iniciar las observaciones. Los tratamientos son administrados vía oral.</p> <p>ANÁLISIS DE DATOS</p> <p>Se calculará la media \pm desviación estándar y se representarán en gráficos, la diferencia entre los tratamientos serán evaluados utilizando la prueba de ANCOVA, TUKEY con 95% de confianza.</p>

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. Nº 008 – 2011 – FCB – D

Bach. LUCAS PRADO HUAMACCTO

En Ayacucho, siendo las cuatro y veinte de la tarde del día martes, once de enero del dosmil uno en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga, reunidos los jurados de la sustentación de Tesis, presidido por el Magister José Diez Macavilca en representación del Decano de la Facultad y los Miembros Magister Enrique Aguilar Felices (Asesor) y Magister Maricela López Sierralta (Secretaria Docente) para recepcionar la Tesis: Efecto sedante del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Perezia coeruleascens Wedd* "mancharisqa" en ratones albinos, Ayacucho 2010. Presentado por el Bachiller Lucas Prado Huamaccto Bachiller en Farmacia y Bioquímica, quien pretende optar el Título profesional de Químico Farmacéutico. El presidente encargado inicia el acto de la sustentación, explicando las etapas del proceso e indicando al expositor aspectos relacionados a la disertación, tales como el tiempo de exposición de cuarenta y cinco minutos, en el que debe sujetarse a la exposición y no a una mera lectura de las diapositivas. Luego el Bachiller inicia la exposición del trabajo de investigación previa lectura de la Resolución Decanal Nº 008 – 2011 – FCB –D y verificación de la documentación correspondiente.

Concluida la exposición del trabajo de investigación inicia la segunda etapa del acto de sustentación en la que el presidente encargado cede la participación del jurado calificador para que pueda realizar las observaciones y preguntas necesarias para la evaluación.

Se inicia la participación con el cuarto jurado calificador Mg. Maricela López Sierralta quien realiza observaciones a la exposición, al trabajo de investigación y realiza preguntas acerca de Materiales, Métodos, Resultados y Conclusiones, felicitando luego al sustentante.

Luego participa el profesor José Diez Macavilca como jurado calificador para luego ceder la participación al Asesor Mg. Enrique Aguilar Felices.

El presidente solicita al sustentante y público abandonar el auditorio para que el jurado pueda deliberar y calificar como sigue: