

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“Efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico
de hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop. en
anillos aórticos aislados de ratas Holtzman,
Ayacucho 2021”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

Presentado por:

Bach. Jenyffer Gabriela Sulca Delgado

Asesor:

Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo

Ayacucho – Perú

2023

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N°283-2023-UNSCH-FCSA-D

BACHILLER: JENYFFER GABRIELA SULCA DELGADO,

En la ciudad de Ayacucho, siendo las ocho horas y diez minutos de la mañana del día dos del mes de marzo del año dos mil veintitrés, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: **“Efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Sanguisorba minor Scop.*, en anillos aórticos aislados de ratas Holtzman, Ayacucho 2021”**; presentando por la bachiller **JENYFFER GABRIELA SULCA DELGADO** para optar el título profesional de Químico Farmacéutica. Los miembros del jurado de sustentación conformado por:

Presidente (delegado por la Decana): Prof. Emilio G. Ramírez Roca

Miembros : Prof. Enrique J. Aguilar Felices

: Prof. Marco R. Aronés Jara

4to jurado : Prof. Gabriela Bellido Mujica

Asesor : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo

Secretaria Docente : Prof. Edith E. Conislla Cáceres

Con el quorum de reglamento se dio inicio la sustentación de tesis, como acto inicial el presidente de la comisión pide a la secretaria docente dar lectura a los documentos presentados por los recurrentes y da algunas indicaciones a los sustentantes.

Acto seguido inicia la exposición la Bachiller **JENYFFER GABRIELA SULCA DELGADO**, una vez concluida, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

El presidente invita a la sustentante y público en general a abandonar el auditorio para que puedan proceder con la calificación.

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL

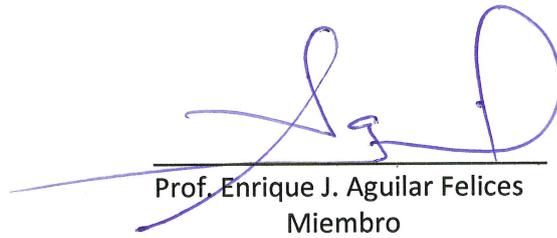
JURADOS	Texto	Exposición	Preguntas	P. Final
Prof. Emilio G. Ramírez Roca	18	18	18	18
Prof. Enrique J. Aguilar Felices	18	18	18	18
Prof. Marco R. Aronés Jara	17	16	17	17
Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo (asesor)	18	18	18	18
Prof. Gabriela Bellido Mujica	16	17	17	17
PROMEDIO FINAL				18

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller **JENYFFER GABRIELA SULCA DELGADO**; quien obtuvo la nota final de dieciocho (18), para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie

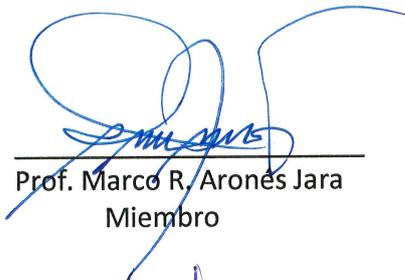
del presente, siendo las 09:30 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico.



Prof. Emilio G. Ramírez Roca
Presidente



Prof. Enrique J. Aguilar Felices
Miembro



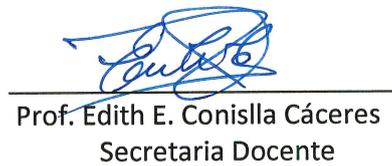
Prof. Marco R. Aronés Jara
Miembro



Prof. Gabriela Bellido Mujica
4to Miembro



Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo
Miembro asesor



Prof. Edith E. Conislla Cáceres
Secretaria Docente

*Dedicado a mis padres y
hermanos por estar siempre
apoyándome y brindándome
todo su apoyo incondicional.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, por aceptarme en sus ambientes y abrirme sus puertas para desarrollarme como profesional.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por acogerme en sus aulas.

A la plana docente que conforman la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica quienes gracias a sus enseñanzas y exigencias contribuyeron con mi formación profesional.

A mi asesor, Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo, por brindarme su tiempo y enseñanza para poder desarrollar este trabajo de investigación.

Al Dr. Enrique Javier Aguilar Felices, por el apoyo en la redacción de este trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	pág.
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	2
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Marco conceptual	7
2.2.1. <i>Sanguisorba minor</i> Scop.	7
2.2.2. Metabolitos secundarios con propiedades vasodilatadoras	8
2.2.3. Endotelio vascular	8
2.2.4. Receptores alfa adrenérgicos	9
2.2.5. Receptores colinérgicos	10
2.2.6. Mecanismo de contracción de la musculatura lisa	10
2.2.7. Mecanismo de relajación del musculo liso	11
2.2.8. Fármacos vasodilatadores	12
2.2.9. Enfermedades cardiovasculares	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1. Ubicación	18
3.2. Población	18
3.3. Muestra	18
3.4. Unidad de experimentación	18
3.5. Diseño metodológico	18
3.6. Metodología y recolección de datos	18
3.7. Diseño experimental	22
3.8. Análisis de datos	23
IV. RESULTADOS	24
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	36
VIII. BIBLIOGRAFÍA	37
IX. ANEXOS	43

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema del mecanismo contráctil en la musculatura lisa	11
Figura 2. Esquema del mecanismo de relajación en la musculatura lisa	12

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Sustancias liberadas por las células endoteliales	9
Tabla 2. Sitios de acción de fármacos vasodilatadores	13
Tabla 3. Diseño de investigación	21
Tabla 4. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla"	25
Tabla 5. Tensión (g) de las contracciones del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla", inducidas por adrenalina y acetilcolina.	26
Tabla 6. Longitud (mm) de las contracciones del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla", inducidas por adrenalina y acetilcolina.	27

INDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Constancia de clasificación taxonómica de la <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla"	44
Anexo 2. Esquema de la evaluación farmacológica de la <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla"	45
Anexo 3. <i>Sanguisorba minor</i> Scop.	46
Anexo 4. Extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop	47
Anexo 5. Tabla de identificación de metabolitos para tamizaje fitoquímico	48
Anexo 6. Tamizaje fitoquímico del extracto de hojas y tallos de la <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla"	49
Anexo 7. Disección de la rata Holtzman	50
Anexo 8. Extracción de la aorta	51
Anexo 9. Montaje del anillo aórtico en el quimógrafo	52
Anexo 10. Quimógrafo automatizado PanLab	53
Anexo 11. Lectura de los resultados	54
Anexo 12. Resultados del Software LabChart, después de la administración del tratamiento	55
Anexo 13. Datos de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina	56
Anexo 14. Diagrama del efecto vasodilatador, después de la administración de los tratamientos	57
Anexo 15. Datos de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina	58
Anexo 16. Datos de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina	59
Anexo 17. Datos de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina	60
Anexo 18. ANOVA de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con adrenalina	61
Anexo 19. Prueba de Tukey de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con adrenalina	62
Anexo 20. Prueba de Dunnett de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con adrenalina	63
Anexo 21. ANOVA de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con adrenalina	64
Anexo 22. Prueba de Tukey de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con adrenalina	65
Anexo 23. Prueba de Dunnett de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con adrenalina	66
Anexo 24. ANOVA de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con acetilcolina	67

Anexo 25.	Prueba Tukey de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con acetilcolina	68
Anexo 26.	Prueba de Dunnett de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con acetilcolina	69
Anexo 27.	ANOVA de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con acetilcolina	70
Anexo 28.	Prueba Tukey de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con acetilcolina	71
Anexo 29.	Prueba de Dunnett de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos inducidas con acetilcolina	72
Anexo 30.	Matriz de consistencia	73

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares es una de la principales causas de comorbilidad en el Perú y en el mundo, y el mas estudiado en el campo de la salud. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. en anillos aórticos aislados de ratas Holtzman; se recolectó la muestra en el distrito de Quinua, departamento de Ayacucho. Se separó las hojas y tallos; se preparó el extracto con etanol al 70°; realizando luego el tamizaje fitoquímico. El ensayo se dividió en cinco grupos midiendo la tensión (g) y longitud (mm) de las contracciones; grupo I: adrenalina $5 \times 10^{-5}M$ y acetilcolina $5 \times 10^{-1}M$, grupo II (estándar): captopril $1 \times 10^{-5}M$ y propanolol $1 \times 10^{-2}M$. Grupo III, IV y V: extracto hidroalcohólico de 5,0; 10,0 y 20,0 mg/mL. Los metabolitos secundarios presentes fueron catequinas, azúcares reductores, lactonas, saponinas, compuestos fenólicos y/o taninos, aminoácidos y flavonoides. El extracto hidroalcohólico al 5,0 mg/mL redujo la tensión a $6,566 \pm 0,025$ g y $6,576 \pm 0,017$ g, asimismo, redujo la longitud a $6,572 \pm 0,013$ mm y $6,569 \pm 0,024$ mm, asemejándose al captopril y propanolol, a diferencia del extracto hidroalcohólico al 10,0 y 20,0 mg/mL. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. tiene efecto vasodilatador, mostrando mejor efecto a la concentración de 5,0 mg/mL.

Palabras clave: *Sanguisorba minor* Scop., extracto hidroalcohólico, efecto vasodilatador

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son alteraciones que se presentan en los vasos sanguíneos y corazón, entre las que se incluyen la cardiopatía coronaria, enfermedades cerebrovasculares, arteriopatías periféricas, cardiopatía reumática, cardiopatía congénitas, trombosis venosas profundas y embolias pulmonares, entre otras⁽¹⁾. En el Perú la tasa de incidencia de enfermedades cardiovasculares realizadas en el 2020, el 41.1% de las personas mayores de 15 años a más, presentan riesgo vascular alto, principalmente las mujeres con un 60.1%; así mismo, el 21.7% de personas sufren hipertensión arterial; el 24.5% son varones y 19.1% son mujeres, y el 68% son personas que reciben tratamiento para la hipertensión arterial. La tasa de incidencia de personas que sufren hipertensión arterial en el departamento de Ayacucho es de 11.2%. En la actualidad el Covid-19 una de las grandes pandemias mundiales, ocasiono el desarrollo de enfermedades cardíacas como la arritmia, miocarditis, falla cardíaca y otras complicaciones cardiovasculares.

Es por ese motivo que esta investigación, permite proponer una alternativa contra las enfermedades cardiovasculares, frente a los fármacos existentes. El propósito de este trabajo de investigación es contribuir al conocimiento de los metabolitos secundarios de esta especie y evaluar su efecto vasodilatador en modelos experimentales validados. Los estudios científicos sobre especies vegetales han permitido establecer los componentes químicos activos responsables de las propiedades medicinales, farmacológicas, antifúngicas, antimicrobianas y antioxidantes, entre otras. Lo que lleva a diferentes industrias como la farmacéutica a la investigación y desarrollo de nuevos fármacos. Así como, el CENSI (Centro Nacional de Salud Intercultural) en el Perú, cuyo objetivo principal es la investigación de la medicina tradicional, alternativa y complementaria

acompañada de la medicina moderna. El hallazgo obtenido de la “pimpinilla” va a ser de utilidad para la medicina natural y sobre todo para el rubro farmacéutico encontrar y elaborar nuevos fármacos que ayuden a mejorar y/o curar diferentes tipos de enfermedades relacionadas.

Es por ese motivo que el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop “pimpinilla” en anillos aórticos aislados de ratas Holtzman

Objetivos específicos

- Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop “pimpinilla”.
- Determinar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop “pimpinilla” mediante la tensión (g) y longitud (mm) de las contracciones de los anillos aórticos aislados de ratas Holtzman.
- Comparar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop. “pimpinilla” frente al captopril y propanolol.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En la medicina tradicional el uso de plantas ha cumplido un rol fundamental en la cura de algunas enfermedades, utilizadas especialmente en zonas rurales; es por esta razón ha sido fundamental en el descubrimiento de medicamentos hoy utilizados a base de plantas. No se encuentran estudios sobre el efecto vasodilatador de *Sanguisorba minor* Scop., ni de otras especies del mismo género, solamente se han reportado estudios sobre su actividad anticolinérgica, citoprotectora e hipoglucemiante⁽²⁾, actividad antioxidante⁽³⁾, actividad antimicrobiana y antiinflamatoria^(4,5),

Sin embargo, existen reportes de estudios de efecto vasodilatador en otras especies. Moreno y Paz⁽⁶⁾, evaluaron el efecto vasodilatador mediado por óxido nítrico del extracto hidroalcohólico de *Zea mays* L. (maíz morado) en anillos aórticos de rata; en el cual se preparó un extracto hidroalcohólico a base de las corontas del maíz; en el ensayo, se produjo contracción con cloruro de potasio (KCl) 120 mM, se evaluó la relajación del extracto en tres dosis 0,1; 0,5 y 1 mg/mL; también se utilizó L-NAME para comprobar si el efecto vasodilatador depende del óxido nítrico. Se utilizó como fármaco control el captopril 10^{-5} M. Se observó la reducción de la contracción máxima. La vasodilatación es inhibida debido a una incubación con L-NAME; mientras que el extracto de maíz morado no inhibió la contracción vascular, a diferencia del captopril. Se concluyó, que el extracto hidroalcohólico de *Zea mays* L. produce vasodilatación dependiente de la síntesis de óxido nítrico.

Nexar y Sillo⁽⁷⁾, evaluaron el efecto vasodilatador e inhibidor de la contracción del extracto hidroalcohólico de hojas de *Olea europaea* “olivo” sobre anillos aórticos de ratas. Se indujo contracción basal máxima con CaCl_2 6 mM y se midió el efecto vasodilatador con dosis de 25, 50 y 100 mg/mL de extracto hidroalcohólico,

compararon la inhibición de la vasoconstricción tras la incubación durante 30 minutos con extracto 100 mg/mL y con captopril 10 μ M. Se produjo vasodilatación para las dosis de 25, 50 y 100 mg/mL; siendo significativa con la dosis de 100 mg/mL. Por otro lado, no hubo diferencia de respuesta entre el captopril 10 μ M y extracto a 100 mg/mL. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de hojas de *Olea europea*, a dosis de 100 mg/mL, tiene efecto vasodilatador sobre anillos aórticos de ratas el cual esta mediado por el bloqueo de canales de calcio; además, posee efecto inhibitor de la vasoconstricción.

Pariona⁽⁸⁾, evaluó el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Oenothera rosea* "yawar suqu" en anillos aórticos aislados de cobayos, se preparó extractos hidroalcohólicos a concentraciones de 5, 10 y 20%. En la evaluación del ensayo se dividió en cinco grupos. Siendo la concentración al 10% la que presenta mejor efecto vasodilatador respecto a las otras concentraciones. La conclusión que llegó fue que el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Oenothera rosea* "yawar suqu", presentan efecto vasodilatador independiente a la dosis.

Vinet *et al.*⁽⁹⁾, realizaron el estudio sobre la propiedad vasodilatadora de *Solanum crispum* Ruiz y Pav., cuyo objetivo del estudio fue evaluar el efecto vasoactivo de un extracto hidroalcohólico del *S. crispum* Ruiz y Pav en anillos aórticos aislados de aorta de ratas. Los resultados obtenidos fue que el extracto hidroalcohólico indujo vasodilatación en anillos aórticos precontraídos con fenilefrina (0,1 μ M). La relajación de la aorta fue dependiente del endotelio y mediada por el óxido nítrico (NO). En conclusión, el *S. crispum* Ruiz y Pav presenta efecto vasodilatador así mismo puede ser utilizada en la hipertensión debido a que presenta uno o más compuestos en sus hojas y tallos.

Vinet *et al.*⁽¹⁰⁾, evaluaron el efecto vasodilatador de la planta nativa *Centaurium cachanlahuem* (Mol.) Robinson, cuyo objetivo fue evaluar el efecto de extractos acuosos e hidroalcohólico de *Centaurium cachanlahuen* (Mol.) Robinson, sobre la reactividad vascular de aorta de rata precontraída con fenilefrina (0,1 μ M). Los resultados obtenidos fue que tanto el extracto acuoso 3 mg/mL, como el extracto hidroalcohólico 3 mg/mL produjeron relajación en la aorta de rata, la cual de mayor efecto fue el extracto hidroalcohólico. En conclusión, el extracto hidroalcohólico como acuoso del *Centaurium cachanlahuen* (Mol.) Robinson, tiene efecto vasodilatador, así mismo, es utilizado como agente hipotensor.

Gómez M. *et al.*⁽¹¹⁾ evaluaron el efecto vasorrelajante de la infusión de la *Baccharis trimera* Less. en anillos aórticos precontraídos de ratas Wistar. El objetivo, fue evaluar la capacidad del extracto de *B. trimera* Less. para relajar los anillos aórticos de rata precontraídos con noradrenalina. Se preparó una infusión de las hojas de la planta, la cual fue hervida en agua, congelada y liofilizada. Las soluciones de trabajo se prepararon utilizando diferentes concentraciones del extracto seco diluido en solución de Krebs Henseleit. La infusión relajó los anillos aórticos de manera dependiente de la dosis después de agregar el extracto al baño. Se observó relajación de la contracción máxima de anillos aórticos. De acuerdo a los datos, se concluyó, que existe un efecto vasorrelajante de esta planta y demuestra un posible efecto antihipertensivo.

Cherkaoui T. *et al.*⁽¹²⁾ estudiaron el mecanismo propuesto sobre el efecto vasorrelajante del aceite esencial de semillas de *Nigella sativa* L. en aorta aislada de rata. El aceite de *Nigella sativa* L. en concentraciones de 10-100 µg/mL provocó relajación de la aorta dependiente de la dosis, que se contrajo previamente con noradrenalina (NA, 10⁻⁶ M) o KCl (100 mM). En la presencia de aceite de *Nigella sativa* L. inhibió el efecto vasoconstrictor. Este efecto de relajación fue independiente de la presencia de endotelio. Además, la actividad vasodilatadora del aceite de *Nigella sativa* L. no se vio afectada por pretratamiento de los anillos con N-nitro-L-Arginina lo que sugiere que el efecto vasorrelajante no está mediado por el óxido nítrico. Además, el pretratamiento de los anillos con el aceite de *Nigella* (75 µg/mL) suprimió el incremento de tensión producido por el aumento de la concentración externa de calcio (0,25 mM a 1,5 mM). En conclusión, el aceite esencial extraído de las semillas de *Nigella sativa* produce relajación del músculo liso, que es independiente del endotelio y no está mediada por el óxido nítrico.

Por tanto, las evidencias muestran que se han utilizado extractos hidroalcohólicos, extractos acuosos, extracto etanólico, infusiones, aceite esencial, etc., para estudiar el efecto vasodilatador en baño de órganos aislados con anillos aórticos obtenidos de ratas de raza Holtzman, Wistar, cobayos y como controles captopril, propanolol, etc.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. *Sanguisorba minor* Scop.

2.2.1.1. Clasificación taxonómica

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	: ROSIDAE
ORDEN	: ROSALES
FAMILIA	: ROSACEAE
GÉNERO	: SANGUISORBA
ESPECIE	: <i>Sanguisorba minor</i> Scop.
N.V.	: “pimpinilla”

Fuente: Constancia emitida por la Bióloga Laura Aucasime Medina, especialista en taxonomía ex docente de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. (Anexo 1).

2.2.1.2. Nombres comunes

Pimpinela, hierba mora, pirigallo borde, hierba de la cruz, burnet, pimpinela menor, algáfita, pimpinilla.

2.2.1.3. Descripción botánica

Planta perenne de 60 a 105 cm de altura, ramificada; tallo glabro. Las hojas imparipinadas con 7 a 11 hojuelas orbiculares u ovadas, las inferiores se alternan y las superiores opuestas, profunda y agudamente dentadas, aumentando de tamaño hacia arriba. Pecíolo corto de 3 a 9 mm de largo, estipula de hojas de 6 a 9 mm de largo. Presenta inflorescencia de cabeza globosa o ligeramente alargada, las flores son hermafroditas, con 3 a 4 bractéolas peludas de 3 a 4 mm de largo, pelos biselados, sépalos de 4,5 mm de largo verde y púrpura, apétaleados, cuatro estambres, un carpelo. El fruto es un aquenio, a menudo con alas onduladas en ángulos, cara irregularmente rugosa⁽¹³⁾.

2.2.1.4. Composición química

Ping *et. al* mencionan la identificación compuestos químicos presentes en el género *Sanguisorba* como flavonoides, triterpenos, fenoles, terpenos, ácidos grasos y varios tipos como los esteroides y neolignanoides⁽¹⁴⁾. Por otra parte, Karkanis *et al.* mencionan que la *Sanguisorba minor* Scop. presenta componentes activos como ácidos fenólicos, quercetina, neolignanoides y terpenoides, así mismo, tiene alto contenido de polifenoles totales, α -tocoferol y β -caroteno, ácido oxálico y el ácido cítrico, y ácidos grasos como ácido linoleico y ácido α linoléico.^(15,16)

2.2.1.5. Propiedades farmacológicas

Estudios al género *Sanguisorba*, muestran efectos farmacológicos en extractos y compuestos aislado con una amplia gama de actividades biológicas. Entre ellas Ping *et. al*/mencionan estudios realizados *in vivo* e *in vitro* al género *Sanguisorba*, como efectos antiinflamatorios, anticancerígenos, efectos hemostáticos, antioxidantes, antibacteriano, antivirales, efectos neuroprotectores, hematopoyéticos, efectos hipoglucemiantes y reductores lipídicos⁽¹⁴⁾.

Karkanis *et al.* mencionan que los extractos etanólico de partes aéreas de *S. minor* mostraron una actividad inhibidora significativa contra la enzima acetilcolinesterasa (AChE) y una alta actividad antioxidante. Otros efectos incluyen la supresión *in vitro* de la migración de células cancerosas a través de mecanismos mediados por plasmina, según se debe a la actividad de los extractos etanólico y al alto contenido de quercetina-3-glucurónido en *S. minor*. También mencionan que el extracto de las raíces de *S. minor* presenta actividad antimicrobiana.⁽¹⁶⁾

2.2.1.6. Usos tradicionales

Según la medicina popular la infusión de las hojas, tallos y flores de la pimpinilla es usada como, agente hemostático, contra las afecciones del corazón, antidiarreico, antisépticos, contra la gastritis, contra la inflamación, mareos, epilepsia, etc.

2.2.2. Metabolitos secundarios con propiedades vasodilatadoras

Fei Tang *et. al.* realizaron estudios en distintas plantas usadas en medicina tradicional, entre las que mencionan flavonoides, ácidos fenólicos y alcaloides (como apigenina, puerarina, curcumina, sinomenina, etc.), glicósidos, terpenos, entre otros, responsables de la actividad vasodilatadora e hipotensora⁽¹⁷⁾.

2.2.3. Endotelio vascular

El endotelio vascular, es una monocapa que se sitúa entre la sangre y la pared vascular, actúa como receptor y transmisor de señales. La estructura celular endotelial, y su funcionalidad son importantes en el mantenimiento de la pared vascular y función circulatoria al ser una interface no trombogénica entre a sangre y el tejido subyacente, estas regulan la trombosis, trombólisis, agregación plaquetaria, tono vascular y flujo sanguíneo, así mismo, tiene funciones metabólicas y sintéticas en la incorporación y metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y producción de factores de crecimiento. Cuando estas son alteradas, generan muchas enfermedades como aterosclerosis, hipertensión

arterial y pulmonar, sepsis y síndromes inflamatorios, todos ellos están relacionados con un daño o disfunción endotelial^(18,19).

2.2.3.1. Sustancias liberadas por las células endoteliales

Las células endoteliales registran cambios hemodinámicos en la sangre como la presión, actúa en la regulación vascular y también implica procesos vasoactivos, metabólicos e inmunitarios, asimismo, libera sustancias vasoactivas como la prostaciclina, óxido nítrico, factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF), endotelina, prostaglandinas H₂, tromboxanos A₂ y otros⁽²⁰⁾.

Tabla 1. Sustancias liberadas por las células endoteliales⁽¹⁹⁾

Sustancias vasodilatadoras	Sustancias vasoconstrictoras
Óxido nítrico	Endotelinas
Prostaciclina	Tromboxanos
Bradiquinina	Angiotensina II

2.2.3.2. Funciones del endotelio vascular

Las células endoteliales sintetizan y liberan sustancias vasoactivas, las cuales se emplean en múltiples acciones a nivel fisiológico, entre las cuales regulan el tono vascular, presión sanguínea y optimizan el flujo sanguíneo en zonas cercanas a las células endoteliales. Estas sustancias vasoactivas participan en proceso de coagulación, fibrinólisis y reacciones inflamatorias e inmunológicas⁽²¹⁾. Asimismo, en la regulación del tono vascular, esta acción se debe a que el diámetro de la luz del tubo varía, debido a un equilibrio de vasodilatación y vasoconstricción. Las sustancias vasorrelajantes como el óxido nítrico, prostaciclina y el factor hiperpolarizantes, y vasoconstrictoras como endotelina I, angiotensina II y tromboxanos; son sustancias vasoactivas liberadas por el endotelio en respuesta a estímulos mecánicos y humorales, que pueden afectar la función como la estructura de músculo liso vascular^(21,22).

2.2.4. Receptores alfa adrenérgicos

Los receptores adrenérgicos se encuentran en la membrana celular, la adrenalina y noradrenalina, actúan en el sistema nervioso periférico. Dentro de los receptores adrenérgicos, se encuentran, los receptores alfa adrenérgicos, estas cumplen la función excitatoria en el sistema nervioso periférico, asimismo en el músculo liso vascular y no vascular⁽²³⁾. Por otro lado, los alfa receptores adrenérgicos, desempeñan un papel en la vasoconstricción, debido a su acción en los canales

de calcio intracelular. Esto se debe a que se unen a la fosfolipasa C, mediante las proteínas G, a su vez forma el 1,4,5 inositol trifosfato (IP₃) y el diacilglicerol (DAG). El IP₃ promueve la liberación del calcio que se encuentra en las reservas intracelulares, y a su vez se aumenta la concentración de calcio, por otro lado, produce la disminución o vaciamiento de los depósitos intracelulares de calcio, en consecuencia, se apertura los canales de calcio en la membrana plasmática, permitiendo la entrada de calcio a la célula, y produciendo la vasoconstricción arterial y venosa^(24,25).

2.2.5. Receptores colinérgicos

La acetilcolina es un neurotransmisor que se encuentran en las fibras preganglionares autónomas, parasimpáticas posganglionares, estas inervan en la médula suprarrenal y las que inervan en el musculo esquelético son las somáticas. Estas fibras se les conoce como colinérgicas, que tienen la función de sintetizar, almacenar y liberar acetilcolina, asimismo, interactúa con los receptores colinérgicos. El mecanismo de liberación de acetilcolina, origina la liberación y apertura de los canales de calcio, debido a la apertura del canal de calcio, aumenta la concentración, entonces el calcio se une a la calmodulina y produce la síntesis de óxido nítrico, a través de la estimulación de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) mediante la conversión de la L-arginina. Cuando la administración de acetilcolina es de forma exógena produce vasodilatación en la musculatura lisa, mientras que cuando hay disfunción endotelial, contrae el musculo liso arterial y produce vasoconstricción; se debe a que hay una activación de los receptores (específicamente receptor nicotínico) y así, hay estimulación de la producción de IP₃, desencadenando la liberación de calcio^(24,26).

2.2.6. Mecanismo de contracción de la musculatura lisa

La contracción se inicia cuando la concentración de calcio intracelular aumenta debido a la estimulación nerviosa u hormonal, distensión de la fibra o cambios químicos en su ambiente. Los principales vasoconstrictores (angiotensina II, norepinefrina, endotelina, etc.), están acoplados a la proteína G, la cual activa a la fosfolipasa C, esta se encarga de hidrolizar el fosfatidilinositol bifosfato (PIP₂) a inositol trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG); por otro lado, la calmodulina (proteína reguladora), se une al calcio, y activa la enzima quinasa de la cadena ligera de miosina (MLC quinasa). Está, se une al ATP para añadir un grupo fosfato a la cabeza de la miosina, una vez unido, la miosina activa la actina, provocando la contracción de musculo liso vascular. Cuando existe mayor presencia de calcio en

el citosol, conlleva a un estado de contracción permanente, es decir, que determina el tono muscular liso.⁽²⁷⁻²⁹⁾

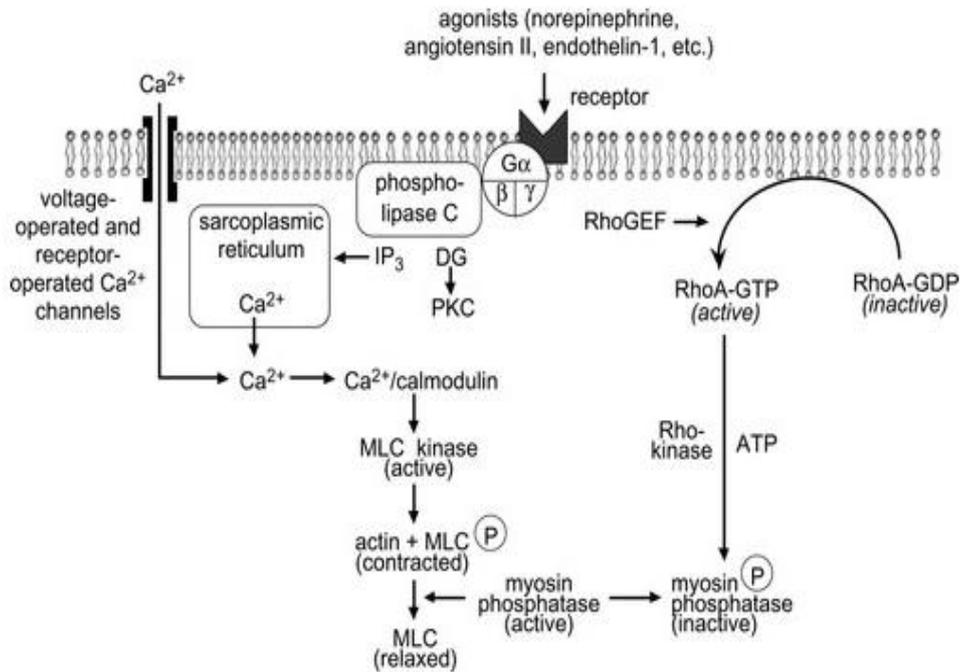


Figura 1. Esquema del mecanismo contráctil en la musculatura lisa⁽²⁸⁾

2.2.7. Mecanismo de relajación del músculo liso

La relajación del músculo liso vascular ocurre por la remoción de estímulos contráctiles o por acción directa de sustancias inhibitoras del mecanismo contráctil. El mecanismo involucra que la concentración de calcio intracelular disminuya, asimismo, la cadena de miosina este en mayor actividad, es decir que se elimina el calcio intracelular y así, la actividad de la fosfatasa de la cadena de miosina, relaja el músculo liso⁽²⁸⁾. Por otro lado, la membrana plasmática contiene a su vez $\text{Ca}^{+2}\text{-Mg}^{+2}\text{-ATPasa}$, que proporcionan un mecanismo adicional en la reducción de la concentración de calcio en la célula, en consecuencia, en la membrana plasmática existen otras proteínas que ayudan a disminuir la concentración de calcio intracelular. Los canales de calcio dependientes del voltaje o dependiente del receptor son importantes en flujo intracelular del calcio, y al ser bloqueadas producen vasodilatación. La relajación de la musculatura lisa, depende de dos mecanismos vasodilatadores; el mecanismo de vasodilatación dependiente del endotelio como el factor hiperpolarizante de endotelio, óxido nítrico que aumenta la GMPc , prostaglandina I_2 , ya que aumenta la AMPc , por otro lado, los factores independientes del endotelio, la activación de proteinquinasas,

inhibición de la proteinquinas y la inhibición de fosfodiesterasas y la disminución de captación de calcio^(27,30).

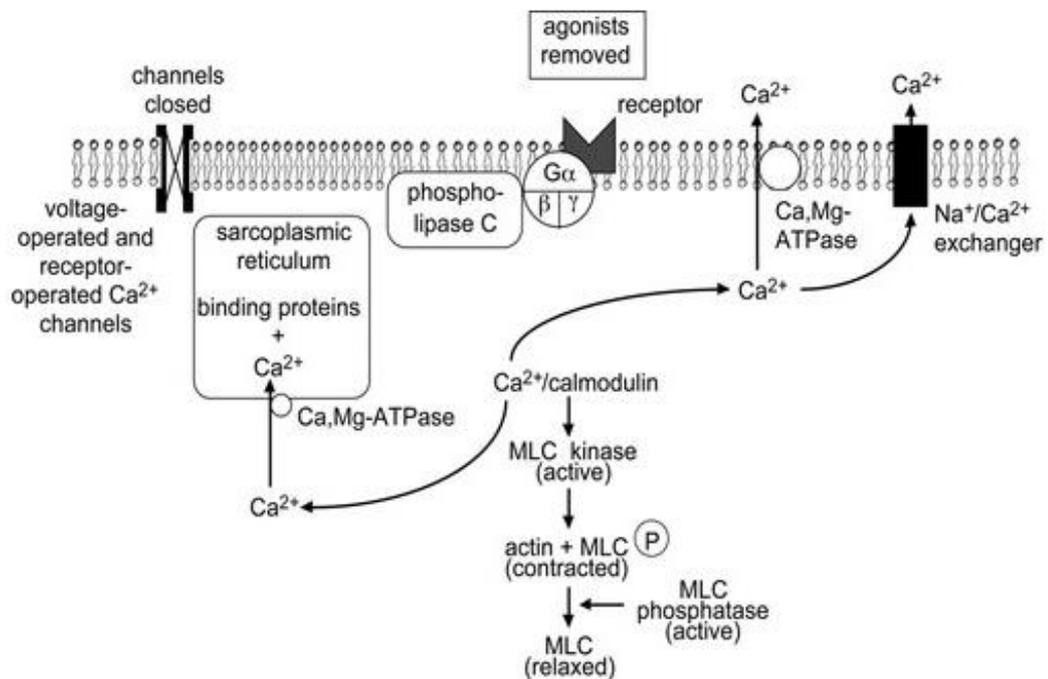


Figura 2. Esquema del mecanismo de relajación de la musculatura lisa⁽²⁸⁾

2.2.8. Fármacos vasodilatadores

Los fármacos vasodilatadores tienen la función de aumentar el flujo sanguíneo, estos ejercen un efecto hipotensor al disminuir la resistencia vascular por medio de la relajación del músculo liso vascular. Los vasodilatadores cumplen funciones hemodinámicas, ya que disminuyen la resistencia periférica sobre las arteriolas, provocando dilatación, e incrementando la contractibilidad y gasto cardíaco, aumentando la producción de renina en el riñón^(31,32). Así mismo, enfermedades vasculares como la hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca congestiva y angina de pecho, son tratadas con fármacos vasodilatadores que alteran la contractibilidad del músculo liso vascular. A continuación, se mencionan los grupos de fármacos utilizados en vasorrelajación y su mecanismo de acción⁽³³⁾.

Tabla 2. Sitios de acción de fármacos vasodilatadores⁽³⁰⁾

FÁRMACO	MECANISMO DE ACCIÓN
Hidralazina	El mecanismo de acción es desconocido; se dice que interfiere en la movilización de calcio en el músculo liso vascular, que libera prostaglandinas vasodilatadoras o factor relajante derivado de endotelio, e inhibe que el calcio se transporte dentro del músculo liso vascular.
Agonistas de canales de potasio	Activa los canales de potasio, produciendo hiperpolarización de la célula impidiendo la apertura de los canales de calcio.
Nitrovasodilatadores	Aumenta los niveles de GMPc, activando la proteína quinasa G (PKG), la cual inhibe la contracción.
Antagonistas de los receptores alfa adrenérgicos	Se une a los receptores alfa adrenérgicos interfiriendo en la capacidad simpaticomimético al unirse con el receptor y producir respuesta.
Antagonistas de los receptores de la angiotensina II	Bloquean los receptores de la angiotensina II, disminuyendo la liberación de calcio en el retículo sarcoplasmático a través de la inactivación de la proteína G.
Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina	Inhibe la enzima convertidora de angiotensina, impidiendo que la angiotensina I se convierta en angiotensina II.
Bloqueadores de canales de calcio	Inhibe la entrada del calcio al interior de la célula, bloqueando los canales de calcio.

2.2.9. Enfermedades cardiovasculares

2.2.9.1. Hipertensión Arterial

La hipertensión arterial es una de las principales enfermedades que desencadena el riesgo vascular en distintas formas como la cardiopatía coronaria, insuficiencia cardíaca, enfermedades cerebrovasculares, hemorragia, insuficiencia renal y artropatías. Esta se debe al aumento de la presión arterial debido al aumento de la presión al interior de los vasos sanguíneos, de esta manera estos se van dañando de manera continua, y así desencadena el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Esta se debe a que las arterias se endurecen con la presión, y estas se hacen más gruesas y puede verse dificultado al paso de sangre a través de ellas^(34,35). Según el septimo informe del comité nacional conjunto sobre la prevención, detección, evaluación y tratamiento de la presión arterial elevada, considera como presión arterial alta cuando los valores son $\geq 140/90$ mmHg; según el valor se divide en hipertensión de grado uno, dos o tres. Se considera que la presión arterial entre 120/80 y 129/84 mmHg son valores normales, mientras que 130/85 a 139/89 es considerada como presión arterial normal alta. Los valores de 120/80 mmHg son valores óptimos⁽³⁶⁾.

2.2.9.2. Fisiopatología

La presión arterial es debido a la tensión en la pared vascular que genera la sangre dentro de las arterias, se debe a dos variables hemodinámicas fundamentales que la desencadenan como: gasto cardiaco y resistencia periférica, el gasto cardiaco depende la contractibilidad del miocardio y del volumen circulante intratorácico. Mientras que la resistencia periférica dependerá del tono arterial y de las características estructurales de la pared arterial^(37,38).

Otro factor importante en la fisiopatología de la hipertensión arterial es el sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), ya que desempeñan un rol importante en la regulación de la hipertensión arterial, condiciona la acción de otros factores humorales o neuronales, tales como la producción de endotelina, inhibición del óxido nítrico o de prostaciclina, la acción de catecolaminas o vasopresinas, del tromboxano, entre otras sustancias vasopresoras^(39,40).

2.2.9.3. Sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA)

Es un sistema complejo que comprende proteínas y angiotensinas con actividad propias y específicas, además de sus acciones vasculares inducen el estrés oxidativo a nivel tisular, producen cambios estructurales y funcionales, principalmente la disfunción endotelial que provoca la hipertensión. La renina es secretada a partir de la estimulación de los agonistas receptores β adrenérgicos y de la prostaglandinas (PGI_2), a partir de esta liberación, actúa el angiotensinógeno, del cual se sintetiza la angiotensina I, sobre este compuesto actúa una enzima de origen endotelial, llamada enzima dipeptidil carboxipeptidasa, denominada como enzima convertidora de angiotensina (ECA); esta enzima hidroliza dos aminoácidos del extremo carboxiterminal del decapeptido y da origen a la angiotensina II^(40,41). La angiotensina II tiene actividad vasoconstrictora y a la vez retiene sodio, así mismo, estimulan a la liberación de aldosterona. Asimismo, regula el tono vascular mediante contracción del músculo liso vascular, y potencia la liberación de noradrenalina. Esto se debe al aumento de la concentración de calcio libre en el citosol, estimulando su entrada a través de los canales. El calcio se une a la calmodulina, por lo que activa así la cadena ligera de miosina, que cataliza la fosforilación de miosina interaccionando la actina con miosina por lo que provoca contracción^(23,42).

2.2.9.4. Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)

Los IECA, disminuyen la presión arterial y reducen la carga cardíaca, al actuar sobre los vasos sanguíneos, especialmente en los lechos vasculares que son

sensibles a la angiotensina como el riñón, corazón y cerebro⁽⁴³⁾. Se describen tres clases de inhibidores de enzima convertidora de angiotensina, dentro de los cuales están; los inhibidores del grupo sulfidrilo, en el cual solamente se encuentra el captopril. Los inhibidores del grupo dicarboxilo, en los que se encuentra la enalapril, benazepril, lisinopril, cilazapril, delapril, ramipril, moexipril y transolapril. Por último, los inhibidores del grupo fosfato, en la que está en fosinopril⁽²³⁾.

2.2.9.4.1. Mecanismo de acción

Los IECA inhiben la formación de la angiotensina I en angiotensina II, bloqueando a los ECA en el sistema renina angiotensina aldosterona, sin embargo, al ser una enzima con sustratos, se encuentra dentro ellos la bradicinina, al ser degradada, produce vasodilatación, por lo cual, estimula la liberación y síntesis de prostaglandinas, óxido nítrico y el factor hiperpolarizante, que contribuyen el efecto farmacológico de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina^(42,44).

2.2.9.4.2. Farmacocinética

Absorción; el captopril y lisinopril se absorben por vía oral, mientras que el resto de los IECA necesitan ser hidrolizados por las enzimas hepáticas para pasar a su forma activa y mejorar su absorción. En cuanto a la biodisponibilidad el captopril presenta una absorción de 60 a 70%, que con la administración de alimentos se reduce a 40%. El captopril es de acción inmediata, detectándose a los quince minutos la concentración plasmática, la concentración plasmática alta se detecta a la 1 o 2 horas, en cambio la enalapril las concentraciones plasmáticas se detectan a las 3 o 4 horas. Metabolismo y eliminación; los IECA son de naturaleza hidrofílica, se eliminan por vía renal⁽⁴⁴⁾.

2.2.9.4.3. Efectos Adversos

En paciente hipovolémicos que usan diuréticos, pueden ocasionar hipotensión después de ingerir las primeras dosis IECA. Otros efectos adversos, son la insuficiencia renal aguda, hipercalcemia, tos seca, sibilancias y angioedema. La hipercalcemia, ocurre debido a la inhibición de la angiotensina II, la aldosterona disminuye produciendo retención de potasio. La insuficiencia renal se debe, a la constricción de las arteriolas eferentes, reduciendo la filtración glomerular. Tos seca, producida por la bradiquinina o algún péptido vasoactivo, que puede ser reversible. En otros casos puede producirse exantema cutáneo, angioedema, alveolitis, pancreatitis, neuropatía periférica, síndrome de Guillain Barre, hepatitis e ictericia coléstica, asimismo, los IECA están contraindicados en el segundo y

tercer trimestres del embarazo, ya que, puede ocasionar hipotensión fetal, anuria e insuficiencia renal. Por otro lado, cuando se administra el captopril en altas dosis, ocasiona en los pacientes insuficiencia renal, lo que conlleva a una neutropenia o proteinuria. Al igual, cuando se ingiere con antiinflamatorios no esteroideos, evitan la vasodilatación mediada por la bradiquinina^(42,44).

2.2.9.5. Antagonistas de los receptores β adrenérgicos

Antagoniza las catecolaminas en los β receptores adrenérgicos, es decir, ocupan un lugar en los receptores beta y evitan que las catecolaminas y otros agonistas se unan a estos receptores, asimismo, los β receptores adrenérgicos, son utilizados en el tratamiento de hipertensión arterial, angina de pecho, arritmias, cardiopatías isquémicas. Asimismo, se clasifican de acuerdo a su afinidad en receptores β_1 se encuentran en el musculo cardiaco y adiposo, estos regulan la frecuencia cardiaca, la contracción, relajación del musculo liso intestinal y lipólisis. Y receptores β_2 , se encuentran en el musculo liso y producen la relajación del musculo liso vascular, bronquial, uterino y glucogenólisis⁽⁴²⁾.

2.2.9.5.1. Clasificación

Se clasifican en, no selectivos (propranolol y pindolol, bloquean a los receptores β_1 y β_2). Selectivos (atenolol, metopropol y acebutol, bloquean a los receptores β_1 del musculo cardíaco). Y mixtos, que bloquean a los receptores alfa y beta adrenérgicos. Algunos presentan propiedades vasodilatadoras al bloquear los receptores alfa adrenérgicos como el carvedilol, labetalol⁽⁴⁵⁾.

2.2.9.5.2. Mecanismo de acción

Los betabloqueantes, bloquean los receptores β adrenérgicos, del corazón y otros tejidos, en consecuencia, la presión arterial disminuye. Por otro lado, al bloquear los receptores β adrenérgicos, inhiben la secreción de la renina, por consiguiente, inhibe a la angiotensina II y se libera la aldosterona. Los betabloqueantes no selectivos como el propranolol bloquean a los receptores beta 1 (β_1) y beta 2 (β_2), mientras que los betabloqueantes selectivos, inhiben a los receptores β_1 en dosis bajas, a dosis altas estas pierden selectividad. Por otra parte, el carvedilol o labetalol bloquean a los receptores alfa adrenérgicos, mientras que el nebivolol estimula la producción de óxido nítrico⁽⁴⁶⁾. El propranolol en el tratamiento de hipertensión, disminuye la presión sanguínea, debido a la disminución del gasto cardiaco, así mismo estimula la producción de renina mediada por el receptor β_1 . Por lo tanto, los betabloqueantes al ejercer su efecto antihipertensivo disminuye el gasto cardiaco, produce la liberación de renina; estas son mediadas por los

receptores beta 1, y también se da la liberación de noradrenalina mediada por los receptores beta 2^(42,47).

2.2.9.5.3. Farmacocinética

Absorción: la absorción dependerá de la solubilidad de los fármacos, los liposolubles como el propranolol, alprenolol, metoprolol, los poco solubles como el atenolol, pindolol, y los hidrosolubles como el acebutol, timolol. Los liposolubles son fácilmente absorbidos en el tubo digestivo, mientras que los hidrosolubles tienen una absorción baja^(23,48). Metabolismo, distribución y eliminación: los betabloqueantes al ser liposolubles en su mayoría tienen una afinidad a las proteínas plasmáticas, por lo que se distribuyen y penetran rápidamente el sistema nervioso central. Tienen metabolismo hepático y se eliminan a través de la orina, se unen a proteínas plasmáticas lipófilas y pasan fácilmente por la barrera hematoencefálica. La vida media aproximada del propranolol es de 4 horas. Los betabloqueantes son eliminados por vía renal a través de la orina⁽²³⁾.

2.2.9.5.4. Efectos adversos

Los betabloqueantes adrenérgicos pueden producir efectos adversos a nivel cardiovascular, es decir, que puede producir una hipotensión, bradicardia, bloqueo aurícula ventricular, y generar insuficiencia cardíaca congestiva debido a la disminución del flujo sanguíneo. En cuanto al sistema nervioso, producen insomnio, cefaleas, fatigas, depresión, entre otras, esto se debe a que el flujo sanguíneo en la musculatura esquelética es reducido. En lo digestivo, puede haber estreñimiento, diarrea, náuseas, e incluso hepatopatías. En lo respiratorio, la broncoconstricción en pacientes asmáticos. Por otro lado, los betabloqueantes adrenérgicos no selectivos aumentan los niveles de triglicéridos en el plasma, y entre otros efectos adversos puede producir impotencia y erupciones cutáneas⁽⁴⁵⁾.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en los ambientes de Farmacología y Farmacognosia, de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho - Perú, durante los meses de noviembre del 2021 a inicios de mes de abril del 2022.

3.2. Población:

Hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop “pimpinilla” fueron recolectadas en el distrito de Quinua a 3280 msnm del departamento de Ayacucho.

3.3. Muestra:

Dos kilogramos de hojas y tallos seco de *Sanguisorba minor* Scop “pimpinilla”, fueron recolectados en el distrito de Quinua a 3280 msnm del departamento de Ayacucho. Una parte de la planta se utilizó para la certificación botánica por la bióloga Laura Aucasime Medina.

3.4. Unidad de experimentación

Se utilizó los anillos aórticos de ratas Holtzman, las mismas que fueron adquiridas del Instituto Nacional de Salud con pesos promedio de 200 ± 30 g, acondicionados con alimentación balanceada y agua a libertad en el bioterio del área de Farmacología del Laboratorio de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.5. Diseño metodológico

El presente estudio es básico- experimental⁽⁴⁹⁾.

3.6. Metodología y recolección de datos.

3.6.1. Recolección de la muestra vegetal

Las plantas fueron recolectadas en el distrito de Quinua, en una bolsa de polietileno; seguidamente fue trasladado al laboratorio. La planta recolectada se

lavó y se eliminó cualquier contaminante. Seguidamente se procedió a desecar las hojas y tallos, a temperatura ambiente, protegidas de la luz, durante tres semanas.

3.6.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

La obtención del extracto hidroalcohólico se basó en el procedimiento descrito por Lock de Ugaz O.⁽⁵⁰⁾ Las hojas y tallos triturados fueron pesadas y macerados en alcohol al 70% en una proporción de 1:4 (250 mg de muestra en 1000 ml de alcohol); se dejó macerar por quince días con constante agitación, protegido de la luz en un frasco ámbar de boca ancha. Terminado el macerado, el producto obtenido se filtró haciendo uso del papel filtro, para separar el residuo vegetal y el líquido extraído. Seguidamente se envasó en frasco de vidrio, luego se procedió a la concentración del mismo por baño maría, a 50°C aproximadamente, en la que se obtuvo un concentrado de color verde oscuro; el cual se guardó hasta su preparación a diferentes concentraciones.

3.6.3. Tamizaje fitoquímico

Se realizó cualitativamente, usando la detección inicial de los diferentes metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de la especie vegetal, pruebas basadas en la aplicación de reacciones fisicoquímicas de coloración y/o precipitaciones propuesto por Miranda y Cuellar⁽⁵¹⁾ (Ver Anexo 5)

3.6.4. Fármacos de referencia

Tabletas de captopril de 25 mg, con lote 2091270 del Laboratorios Portugal S.R.L.; Registro sanitario N°EN-01518 y con fecha de vencimiento 09/2023. Para las diluciones de captopril $1 \times 10^{-5} \text{M}$, se trituraron las tabletas de captopril, se pesaron 0,0002 g y se diluyó en una fiola de 100 mL de agua destilada.

Tabletas de propanolol 40 mg, con lote 2050441 de laboratorio CIFARMA S.A.C.; Registro sanitario N°EN-00862, con fecha de vencimiento 05/2024. Para las diluciones de propanolol $1 \times 10^{-2} \text{M}$, se trituraron las tabletas de propanolol, se pesaron 0.259 g, y se diluyó en una fiola de 100 mL con agua destilada.

3.6.5. Determinación del efecto vasodilatador

En los ensayos realizados en órganos aislados, para determinar el efecto vasodilatador en anillos aórticos de ratas Holtzman; se aplicó la técnica descrita por Furchgot *et. al*⁽⁵²⁾ y Hernán *et. al*⁽⁵³⁾, en la que se aplicó la técnica de órgano aislado vascular, que consistió en inducir la vasoconstricción con acetilcolina y adrenalina ambos agonistas de los receptores colinérgicos y adrenérgicos situados en los anillos aórticos aislados y conservados en el líquido nutricio Krebs

Henseleit. Se evaluó el efecto vasodilatador del extracto en función a la tensión y longitud de los anillos aórticos, utilizando como patrón de referencia a los fármacos captopril y propanolol. En la obtención de los datos se usó el software LabChart, cuya función es adquirir señales biológicas de múltiples fuentes simultáneamente y aplicar cálculos y gráficos avanzados a medida que el experimento se desarrolla. Este programa modifica la tensión mecánica producida por el musculo liso, por medio de un transductor de tensión y lo convierte en una señal eléctrica, la misma que será ampliada y registrada la tensión ejercida por el órgano aislado.

3.6.5.1. Procedimiento

- Se preparó la solución Krebs Henseleit descrita por Tinco⁽⁵⁴⁾. Seguido se procedió a diluir las concentraciones del fármaco control descrito anteriormente a concentraciones para captopril $1 \times 10^{-5} \text{M}$ y propanolol $1 \times 10^{-2} \text{M}$. Para los extractos hidroalcohólico de *Sanguisorba minor* Scop. “pimpinilla” se pesaron y se diluyeron con agua destilada a concentraciones de 5,0; 10,0 y 20,0 mg/mL.
- Posteriormente se encendió y calibró el quimografo automatizado Panlab Harvad (software LabChart). Seguidamente se extrajeron los anillos aórticos de las ratas Holtzman; está se colocó en una placa Petri que contiene solución Krebs Henseleit para que sean conservados, posteriormente se evaluó el efecto vasodilatador, con los extractos hidroalcohólicos y como estándar el captopril y propanolol.
- Se dividió los animales de experimentación aleatoriamente en cinco grupos de tratamientos. En el grupo I (control), se indujo la contracción con adrenalina y acetilcolina, y se midió la tensión y longitud de las contracciones. En el grupo II, se trató con los estándares de captopril y propanolol. En el grupo III, se trató con el extracto hidroalcohólico (EH) 5,0 mg/mL. En el grupo IV, con EH 10,0 mg/mL y en el grupo V, con EH 20,0 mg/mL.
- Posteriormente, se introdujo dos alambres finos y rígidos de acero inoxidable en cada extremo de la aorta, una se fijó en el extremo de la cadena a la parte inferior del baño, el otro estuvo conectado en la parte superior en la cual se sitúa el transductor. Se transfirió después al baño de órganos aislados de 25 mL de solución Krebs Henseleit en burbujeo constante a una temperatura de 37°C. Se calibró el equipo para mejorar la lectura de los datos, seguidamente se realizó el montaje de los anillos aórticos y se dejó reposar por unos 20 minutos hasta lograr la estabilización del equipo. Las contracciones fueron inducidas con adrenalina $5 \times 10^{-5} \text{M}$ y acetilcolina $5 \times 10^{-1} \text{M}$; para la corrida del

grupo I se le adicionó estos agentes constrictores y se dejó en observación durante 20 minutos hasta ver las contracciones producidas por este.

- En los grupos experimentales II, III, IV y V, se realizó un registro control durante 4 minutos, seguidamente se administró la adrenalina $5 \times 10^{-5} \text{M}$ y se dejó correr aproximadamente 10 minutos. Para el grupo II se inyectó a la celda 2,5 mL de captopril $1 \times 10^{-5} \text{M}$, y se dejó en observación, así mismo, para el grupo III, IV y V se inyectó en la celda el EH a concentraciones de 5,0; 10,0 y 20,0 mg/mL respectivamente para cada grupo y se dejó en observación durante 20 minutos. Se realizó el mismo procedimiento para el propanolol $1 \times 10^{-2} \text{M}$, se inyectó en la celda 2,5 mL de propanolol, y se dejó en observación. Seguido se inyectó en la celda el extracto hidroalcohólico a concentraciones de 5,0; 10,0 y 20,0 mg/mL respectivamente para cada grupo y se dejó en observación durante 20 minutos.
- Para la acetilcolina $5 \times 10^{-1} \text{M}$; los grupos II, III, IV y V, se realizó un registro control durante 5 minutos. Al grupo II se le inyectó a la celda 2,5 mL de propanolol $1 \times 10^{-2} \text{M}$ y se dejó en observación. Los grupos II, IV y V se inyectó a la celda el extracto a concentración de 5,0; 10,0 y 20,0 mg/mL y se dejó en observación 20 minutos. Para el captopril $1 \times 10^{-5} \text{M}$ se realizó el mismo procedimiento; se inyectó en la celda 2,5 mL de captopril y se observó las contracciones; seguido se colocó en la celda el extracto a concentración de 5,0; 10,0 y 20,0 mg/mL, respectivamente en cada grupo, y se dejó en observación 20 minutos.
- Se realizó cinco repeticiones en cada grupo; los datos obtenidos fueron registrados en la computadora por el programa LabChart.

Tabla 3. Diseño de investigación

Tratamientos	Grupo				
	I	II	III	IV	V
adrenalina	X	X	X	X	X
acetilcolina	X	X	X	X	X
captopril 1x10 ⁻⁵ M		X			
propranolol 1x10 ⁻² M		X			
EH 5 mg/mL			X		
EH 10 mg/mL				X	
EH 20 mg/mL					X

*EH= extracto hidroalcohólico

3.7. Diseño experimental

El diseño experimental del efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop. "pimpinilla", en anillos aórticos de ratas Holtzman es experimental, asimismo, aleatorio.

$$G_c \rightarrow Y \rightarrow O$$

$$G_e \rightarrow X \rightarrow O_1$$

Donde:

G_c = grupo control

Y = blanco

O= observación de las contracciones

G_e=grupo experimental

X= tratamiento

O₁= observación de la disminución de contracciones

3.8. Análisis de datos

Los datos obtenidos de la tensión (g) y longitud(mm) de las contracciones fueron el resultado de cinco repeticiones y se halló el promedio \pm desviación estándar, y son presentadas en forma de gráficos y tablas. Las diferencias entre los tratamientos son evaluadas mediante el análisis de varianza, con un nivel de confianza $p < 0.05$ y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey; mientras que se utilizó la prueba de Dunnett para la comparación del efecto vasodilatador de la muestra con el captopril y propanolol, respectivamente.

IV. RESULTADOS

Tabla 4. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop. “pimpinilla”

Metabolito	Ensayo	Resultados
Catequinas	Carbonato de sodio 20%	+++
Azúcares reductores	Fehling	+++
	Benedict	+++
Lactonas	Baljet	+++
Saponinas	Espuma	+++
Compuestos fenólicos y taninos	Cloruro férrico	+++
Aminoácidos	Ninhidrina	+++
Flavonoides	Shinoda	+++

Tabla 5. Tensión (g) de las contracciones del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop. “pimpinilla”, inducidas con adrenalina y acetilcolina.

Tratamientos	Tensión	
	Adrenalina	Acetilcolina
Basal	6,549 ± 0,028 ^a	6,566 ± 0,010 ^a
Captopril	6,564 ± 0,010 ^a	6,568 ± 0,018 ^a
Propanolol	6,574 ± 0,020 ^{ab}	6,577 ± 0,014 ^a
EH 5 mg/mL	6,566 ± 0,025 ^{ab}	6,576 ± 0,017 ^a
EH 10 mg/mL	6,586 ± 0,020 ^{ab}	6,646 ± 0,031 ^b
EH 20 mg/mL	6,603 ± 0,008 ^b	6,662 ± 0,022 ^b

EH= extracto hidroalcohólico

*p<0,05; ANOVA significativo

**Prueba de Tukey, letras diferentes significan respuestas diferentes

Tabla 6. Longitud (mm) de las contracciones del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop. “pimpinilla”, inducidas con adrenalina y acetilcolina.

Tratamientos	Longitud	
	Adrenalina	Acetilcolina
Basal	6,564 ± 0,020 ^a	6,567 ± 0,013 ^a
Captopril	6,574 ± 0,011 ^{ab}	6,580 ± 0,007 ^a
Propranolol	6,568 ± 0,026 ^{ab}	6,588 ± 0,006 ^a
EH 5 mg/mL	6,572 ± 0,013 ^{ab}	6,569 ± 0,024 ^a
EH 10 mg/mL	6,585 ± 0,008 ^{bc}	6,647 ± 0,036 ^b
EH 20 mg/mL	6,614 ± 0,005 ^c	6,647 ± 0,023 ^b

EH= extracto hidroalcohólico

*p<0,05; ANOVA significativo

**Prueba de Tukey, letras diferentes significan respuestas diferentes

V. DISCUSIÓN

Las enfermedades cardiovasculares agrupan una serie de patologías en las que se encuentran la angina de pecho, hipertensión arterial, enfermedad coronaria isquémica, entre otras por lo cual se convirtieron en un problema de salud pública. El objetivo de este estudio es encontrar una alternativa al tratamiento a estas patologías mencionadas anteriormente, del mismo modo ayudar a la medicina moderna a encontrar metabolitos con principios activos que ayuden en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares, para posteriormente ser investigadas. De mismo modo, se desarrollará antecedentes en la investigación científica de las propiedades terapéuticas de la *Sanguisorba minor* Scop. “pimpinilla”.

En la Tabla 4, se muestra los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop, los cuales podrían ser responsables del efecto vasodilatador u otros efectos. Estudios como el de Ping *et. al*⁽¹⁴⁾ y Karkanis *et. al*⁽¹⁶⁾ reportaron en el género *Sanguisorba* la presencia de flavonoides (quercetina), triterpenos, fenoles, terpenos, ácidos grasos y varios tipos como los esteroides y neolignanos, así mismo, tiene alto contenido de polifenoles totales, α -tocoferol y β -caroteno, ácido oxálico y el ácido cítrico, y ácidos grasos como ácido linoleico y ácido α linolénico, pero no reportan catequinas, azúcares reductores, lactonas, saponinas y aminoácidos como fue en nuestro caso. También, Rodríguez⁽²⁾, reporta la presencia de flavonoides, saponinas, compuestos fenólicos, azúcares reductores y mucilagos en una infusión de hojas de *Sanguisorba minor* Scop subsp. *magnolii* Spach, asimismo, por análisis de HPLC, identificó ácidos fenólicos como el ácido vainilico, ácido p-hidroxibenzoico y ácido gálico, respectivamente, asimismo, a los flavonoides quercetina y kaempferol. Lo mismo ocurre en nuestro caso, a excepción que se reportó además catequinas, lactonas y aminoácidos.

Evidencias de estudios previos demostraron que tanto los compuestos fenólicos como los flavonoides presentan propiedades terapéuticas, incluyendo las propiedades vasodilatadoras y antihipertensivas, es por eso que Fei Tang *et. al.*⁽¹⁷⁾ realizaron estudios en distintas plantas usadas en medicina tradicional, entre las que mencionan flavonoides y ácidos fenólicos (como apigenina, puerarina, curcumina, sinomenina, etc.), glicósidos, terpenos, entre otros, responsables de dichos efectos.

Dentro de las funciones vasculares del endotelio se mencionan, el mantenimiento del tono vascular, la inhibición de la agregación plaquetaria y la coagulación, las cuales son factores clave para la salud endotelial y la prevención de la hipertensión, la aterosclerosis y las enfermedades cardiovasculares. Las células endoteliales producen sustancias necesarias para el mantenimiento de una función vascular saludable, como el óxido nítrico (NO), los factores de hiperpolarización dependientes del endotelio y los factores de contracción derivados del endotelio, prostaciclina, endotelina y superóxido. Los polifenoles pueden mejorar la liberación de óxido nítrico de las células endoteliales, lo que lleva a la activación del monofosfato de guanosina cíclico en las células del músculo liso vascular y ejerce efectos de relajación de los vasos sanguíneos. Así mismo, flavonoides, como antocianinas, flavonas, flavanonas, flavan-3-oles, flavonoles e isoflavonas, y el resveratrol, desempeña un papel directo en la mejora de la biodisponibilidad del NO en el torrente sanguíneo, al aumentar la activación de la sintasa de NO inducible (iNOS) y la sintasa de NO endotelial (eNOS) proporcionada por la modulación de la transducción de señales. Otros polifenoles, como el ácido cafeico, el kaempferol, quercetina, luteolina y la biocanina A, ejercen efectos vasorrelajantes, del mismo modo, actúan sobre las células del músculo liso vascular directamente, a través de la activación de los canales de potasio (BK) o la inhibición de los canales Ca^{2+} ; e indirectamente, a través de la activación de los canales K^+ activados por Ca^{2+} en las células endoteliales, lo que conduce a la hiperpolarización y la inhibición de la entrada de Ca^{2+} a las células del músculo liso vascular; lo que eventualmente limita la constricción y conduce a la vasorrelajación⁽⁵⁵⁾.

Por lo tanto, evidencias demostraron que, los compuestos fenólicos y flavonoides, presentan propiedades vasodilatadoras, antitrombóticas, y antiinflamatorias. Esto se debe a que controlan el tono arterial, así mismo, poseen propiedades cardioprotectoras. También, pueden inhibir a la enzima convertidora de

angiotensina, demostrando así su efecto vasodilatador y cardioprotector. Dentro de estos compuestos, la quercetina es la que mejor desempeña la función contráctil y reduce la incidencia de trastornos de la conducción cardíaca en estudios realizados^(56,57). La quercetina ejerce su efecto antihipertensivo por la capacidad de mejorar la función endotelial, de modular el sistema renina-angiotensina-aldosterona, al modular el mecanismo de contracción de los músculos lisos en los vasos sanguíneos, produciendo vasodilatación a nivel renal, y reduce la presión arterial. Por otro lado, la quercetina también disminuye el estrés oxidativo en el corazón y los riñones, asimismo, el kaempferol, tiene propiedades antihipertensivas, efectos que se manifiestan por la acción del óxido nítrico endotelial. Además del efecto antihipertensivo, el kaempferol tiene la capacidad de reducir la albuminuria y la proteinuria, siendo considerado un candidato potencial en la mejora de estas dos situaciones⁽⁵⁸⁾.

La hipertensión arterial es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular frecuente a nivel mundial. El tratamiento farmacológico utilizado frecuentemente son los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, seguida de los antagonistas de los receptores de angiotensina II, diuréticos tiazídicos, antagonistas de calcio y beta bloqueante. Pero dentro de estos tratamientos también se suelen usar plantas vasorrelajantes, las cuales han sido estudiadas por medio de ensayos *in vivo* e *in vitro*. Para determinar el efecto de un extracto, o de algún compuesto activo, en las que actúa sobre los receptores alfa, bloquean los canales de calcio, bloqueadores beta adrenérgicos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y antagonistas de la angiotensina II, y por último, si son dependientes o independientes del endotelio vascular, se usan principalmente anillos aórticos aislados⁽⁵⁹⁾.

En el ensayo realizado en el quimografo (cámara de órgano aislado), se indujo la contracción con adrenalina y acetilcolina, siendo, la adrenalina un receptor alfa adrenérgico, ya que presenta, una función vasoconstrictora, produce también, excitación sobre el útero, vasos sanguíneos y corazón; por otro lado, la acetilcolina, actúa con los receptores nicotínicos, provocando el aumento del tono muscular y la frecuencia de las contracciones⁽⁶⁰⁾. La relación que existe entre la tensión y longitud de las contracciones, indica la fuerza de la contracción muscular, es decir, las fibras del musculo liso al ser estiradas, se contraen, por lo tanto, se da mayor tensión. Este mecanismo se conoce como una respuesta tensión-relajación, ya que permite que el musculo liso al presentar cambios en su longitud,

conservar su capacidad de contraerse. Por otro lado, el músculo liso mantiene la tensión en periodos largos, ya que la tensión a una determinada longitud disminuye cuando el músculo está relajado^(29,61).

En la Tabla 5, se muestran los resultados de la tensión después de la administración de los tratamientos tras la inducción de la tensión por la adrenalina, para evaluar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. en anillos aórticos aislados. Se observa que la adrenalina (Anexo 14), incrementó la tensión, mientras que se observa que todos los tratamientos produjeron una reducción de la tensión. El análisis de varianza, demostró que existieron diferencias entre los tratamientos ensayados ($p < 0,05$) (Anexo 18). Por tanto, nuestra hipótesis planteada era que debería existir diferencias entre los tratamientos, el cual ha sido corroborado por el análisis de varianza, en consecuencia, se rechaza la hipótesis nula, que planteaba que no existían diferencias entre los tratamientos. En la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Anexo 19), se observa la agrupación de subconjuntos homogéneos; en la cual la respuesta basal, captopril, EH 5,0 mg/mL, propanolol y EH 10,0 mg/mL tienen la misma respuesta farmacológica, mientras que, el EH 5,0 mg/mL, propanolol, EH 10,0 mg/mL y EH 20,0 mg/mL, también tienen la misma respuesta farmacológica, respectivamente. En consecuencia, se podría inferir que la respuesta basal, captopril y el EH 5,0 mg/mL produjeron menor tensión, mientras que, el EH a 10,0 mg/mL y 20,0 mg/mL produjeron la mayor tensión sobre los anillos aórticos. Asimismo, se realizó la prueba Dunnett (Anexo 20), en la cual se observa que EH 5,0 mg/mL tiene una respuesta semejante al captopril, mientras que EH 10,0 mg/mL se asemeja muy poco al captopril y el EH 20 mg/mL se aleja de la respuesta del captopril. Lo mismo se evidencia con el propanolol para las concentraciones del EH 5,0 mg/mL y del EH 10,0 mg/mL, respectivamente y una diferencia no muy significativa para con el EH 20,0 mg/mL. Se puede inferir que a nivel de la tensión el EH 5,0 mg/mL y de 10 mg/mL, tienen efecto vasodilatador comparable con el captopril y el propanolol. Se podría afirmar, que el posible mecanismo sería similar al captopril que es de inhibición de la ECA, más que de antagonista del propanolol que es un β bloqueante de los receptores adrenérgicos. Por otro lado, se muestran los resultados de la tensión después de la administración de los tratamientos, tras la inducción de la tensión por la acetilcolina, para evaluar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. en anillos aórticos aislados. Se

observa que la acetilcolina (Anexo 16), incrementó la tensión, mientras que se observa que todos los tratamientos produjeron una reducción de la tensión. El análisis de varianza, demostró que existieron diferencias entre los tratamientos ensayados ($p < 0,05$) (Anexo 24). Por tanto, nuestra hipótesis planteada era que debería existir diferencias entre los tratamientos, el cual ha sido corroborado por el análisis de varianza, en consecuencia, se rechaza la hipótesis nula, que planteaba que no existían diferencias entre los tratamientos. En la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Anexo 25), muestran los datos agrupados la basal, captopril, EH 5,0 mg/mL y propanolol, estas presentan misma respuesta farmacológica; mientras que, la agrupación del EH 10,0 y 20,0 mg/mL, esta al igual que la primera presenta misma respuesta farmacológica; en consecuencia, el EH 20,0 mg/ml produce mayor tensión sobre los anillos aórticos a diferencia de las otras concentraciones del extracto. Asimismo, se realizó la prueba Dunnett (Anexo 26), existe diferencia significativa entre el captopril y EH 5,0 mg/mL, y no hay diferencias entre el captopril, y el EH 10,0 mg/mL, así como, el EH 20,0 mg/mL; lo mismo ocurre con el propanolol. En consecuencia, se infiere que el EH 5,0 mg/mL se asemeja al captopril y propanolol en respuesta vasodilatadora, mientras que, el EH 10,0 y 20,0 mg/mL se alejan de la respuesta vasodilatadora de estos. Se podría afirmar, que el posible mecanismo sería similar al captopril que es de inhibición de la ECA, y al propanolol que es un β bloqueante de los receptores adrenérgicos.

En la Tabla 6, se muestra los resultados de la longitud después de la administración de los tratamientos tras la inducción de la tensión por la adrenalina, para evaluar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. en anillos aórticos aislados. Se observa que la adrenalina (Anexo 15), incrementó la longitud, mientras que se observa que todos los tratamientos produjeron una reducción de la longitud. El análisis de varianza, demostró que existieron diferencias entre los tratamientos ensayados ($p < 0,05$) (Anexo 21). Por tanto, nuestra hipótesis planteada era que debería existir diferencias entre los tratamientos, el cual ha sido corroborado por el análisis de varianza, en consecuencia, se rechaza la hipótesis nula, que planteaba que no existían diferencias entre los tratamientos. En la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Anexo 22), muestran los datos agrupados del, basal, propanolol, EH 5,0 mg/mL y captopril, estas presentan similar respuesta farmacológica. En la segunda están agrupados, propanolol, EH 5,0 mg/mL,

captopril, EH 10,0 mg/mL; por último, están agrupados EH 10,0 y 20,0 mg/mL, estas también presentan misma respuesta farmacológica; en consecuencia, el EH 20,0 mg/mL produce mayor longitud sobre los anillos aórticos. Asimismo, se realizó la prueba Dunnett (Anexo 23), en la cual se observa que EH 5,0 mg/mL tiene una respuesta semejante al captopril, mientras que EH 10,0 mg/mL se asemeja muy poco al captopril y el EH 20 mg/mL se aleja de la respuesta del captopril. Lo mismo se evidencia con el propanolol para las concentraciones del EH 5,0 mg/mL y del EH 10,0 mg/mL, respectivamente y una diferencia no muy significativa para con el EH 20,0 mg/mL. Se puede inferir que a nivel de la tensión el EH 5,0 mg/mL y de 10 mg/mL, tienen efecto vasodilatador comparable con el captopril y el propanolol. Se podría afirmar, que el posible mecanismo sería similar al captopril que es de inhibición de la ECA, más que de antagonista del propanolol que es un β bloqueante de los receptores adrenérgicos. Asimismo, se muestra los resultados de la longitud después de la administración de los tratamientos tras la inducción de acetilcolina, para evaluar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. en anillos aórticos aislados. Se observa que la acetilcolina (Anexo 17), incrementó la longitud, mientras que se observa que todos los tratamientos produjeron una reducción de la longitud. El análisis de varianza, demostró que existieron diferencias entre los tratamientos ensayados ($p < 0,05$) (Anexo 27). Por tanto, nuestra hipótesis planteada era que debería existir diferencias entre los tratamientos, el cual ha sido corroborado por el análisis de varianza, en consecuencia, se rechaza la hipótesis nula, que planteaba que no existían diferencias entre los tratamientos. En la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Anexo 28), muestran los datos agrupados del, se agrupan, el basal, EH 5,0 mg/mL, captopril y propanolol, estas presentan la misma respuesta farmacológica, por otro lado, se agrupan el EH 20,0 mg/mL y EH 10,0 mg/mL, también presentan misma respuesta farmacológica. Ambos grupos, presentan diferencia significativa, siendo, el EH 10,0 y 20,0 mg/mL las que presentan mayor longitud; en consecuencia, el EH 20,0 mg/mL produce mayor longitud sobre los anillos aórticos. Asimismo, se realizó la prueba Dunnett (Anexo 29), existen diferencia significativa entre captopril y EH 5,0 mg/mL, y no hay diferencia con el EH 10,0 mg/mL y EH 20,0 mg/mL, con el propanolol ocurre lo mismo. En consecuencia, el EH 5,0 mg/ml se asemeja a la respuesta vasodilatadora del captopril y propanolol. Se podría afirmar, que el posible mecanismo sería similar

al captopril que es de inhibición de la ECA, y al propanolol que es un β bloqueante de los receptores adrenérgicos.

Por consiguiente, el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop., demostró resultados que a concentración de 5,0 mg/mL mejora la inducción de relajación de los anillos aórticos, al asemejarse a los resultados del estándar captopril y propanolol, asimismo, para ejecutar su efecto vasodilatador es independiente de la dosis. Por tanto, al obtener estos resultados, se puede obtener un estándar de la dosis a necesitar para que sea utilizado terapéuticamente. Agregando a lo anterior, los resultados descritos, son exportados de la base de datos del quimógrafo PanLab, en base a esto se sustentan los resultados, asimismo, las lecturas en relación a tensión y longitud son mínimas, debido a que la arteria aorta es una fibra elástica o arteria elástica, a diferencia del musculo liso (ejemplo; ileón y útero). Por otro lado, se observa que a menor dosis del extracto hidroalcohólico, hay mayor respuesta vasodilatadora, y esto se debe a que existe un sinergismo de los principios activos del extracto, que son responsables de la actividad vasodilatadora, y para que tengan un efecto selectivo se tendría que elucidar y separar estos principios activos; por ejemplo, estudios previos como el de Pariona⁽⁸⁾, demostró que el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos del “yawar suqu” al 10%, tiene mejor respuesta vasodilatadora tanto para la tensión y longitud de las contracciones. Asimismo, Cherkaoui K. *et. al.*⁽¹²⁾ demostró que el efecto vasorrelajante del aceite esencial de *Nigella sativa* L. a concentraciones de 75 μ g/mL, presenta actividad vasorrelajante; por otro lado, Gómez M. *et. al.*⁽¹¹⁾, demostró que la infusión de las hojas de *Baccharis trimera* Less. DC. a concentraciones de 0,32 mg/mL presenta mejor respuesta vasodilatadora en anillos aórticos. Vinet *et. al.*^(9,10) en sus dos trabajos de investigación acerca del efecto vasodilatador, demostró que el *Centaurium cachanlahuen* (Mol.) Robinson a concentraciones de 3 mg/mL del extracto acuoso de hojas, tallos y flores, y 3 mg/mL del extracto hidroalcohólico de hojas, tallos y flores, producen vasodilatación en la aorta, asimismo, el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos del *Solanum crispum* Ruiz & Pav a concentración de 0,17 μ g/mL, presenta efecto vasodilatador en anillos aórticos. Bellera H.⁽⁶²⁾ demostró que el extracto alcohólico de la corteza de *Anacardium occidentale* L. a concentración de 10 μ g/mL presentó mayor efecto vasorrelajante. En consecuencia, se podría inferir a lo mencionado anteriormente, que a menor concentración mayor efecto.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. “pimpinilla”, presentó efecto vasodilatador en los anillos aórticos aislados.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. “pimpinilla” son; catequinas, azúcares reductores, lactonas, saponinas, compuestos fenólicos y/o taninos, aminoácidos y flavonoides
3. El extracto hidroalcohólico de 5,0 mg/mL presentó mejor respuesta vasodilatadora, produciendo una disminución de la tensión y longitud del efecto inducidos por la adrenalina y acetilcolina.
4. El extracto hidroalcohólico de 5,0 mg/mL de hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop., respecto a tensión y longitud se aproximó a la respuesta vasodilatadora del captopril y propanolol, respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

1. Identificar los metabolitos secundarios responsables del efecto vasodilatador.
2. Evaluar el efecto vasodilatador de la *Sanguisorba minor* Scop. "pimpinilla", en extractos obtenidos con solventes con polaridad diferente.
3. Evaluar el efecto vasodilatador de la *Sanguisorba minor* Scop. "pimpinilla", a concentraciones menores de 5,0 mg/mL.
4. Validar el método con estándares como acetilcolina y/o adrenalina, con fármacos control usados en estos tipos de investigación.
5. Realizar estudios toxicológicos del extracto de hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. "pimpinilla".

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez- Arias AG, Bobadilla- Serrano ME, Dimas-Altamirano B, *et.al.* Enfermedad cardiovascular: primera causa de morbilidad en un hospital de tercer nivel. *Rev. Mex. Cardiol.* 2016;27(Suppl:3):98–102.
2. Rodríguez Martínez M. Contribución al estudio Farmacognóstico y farmacodinámico de *Sanguisorba minor* Scop. *magnolii* Spach.[tesis doctoral]. Madrid: Departamento de Farmacología.Universidad Complutense de Madrid;2003.
3. Tocai A, Memete A, Vicaş S, Burescu P. Antioxidant Capacity of *Sanguisorba officinalis* L. and *Sanguisorba minor* Scop. *Nat Resour Sustain Dev.* 2021;11(1):121–33.
4. Cirovic T, Barjaktarevic A, Ninkovic M, Bauer R, Nikles S, Brankovic S, *et al.* Biological activities of *Sanguisorba minor* L. extracts *in vitro* and *in vivo* evaluations. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research.* Vol. 77 No. 5 pp. 745-758, 2020. DOI: 10.32383/appdr/127765.
5. Cirovic T, Barjaktarevic A, Cupara S, Mitic V, Nikolic J, Jovanovic VS. Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Sanguisorba minor* L. Extracts . *Serbian Journal Experimental and Clinical Research.* 2022;23(1):51-57. <https://doi.org/10.2478/sjecr-2019-0044>.
6. Moreno O, Paz A. Efecto vasodilatador mediado por óxido nítrico del extracto hidroalcohólico de *Zea mays* L. (maíz morado) en anillos aórticos de rata. *Rev. Perú Med Ep Salud Publica.* 2010;27(4):527–31.
7. Nexar-QH J, Sillo-Surco J. Efecto vasodilatador e inhibidor de vasoconstricción del extracto hidroalcohólico de hojas de *Olea europaea* (olivo) sobre anillos aórticos de ratas.*An Fac med.* 2013;74(4):285-90
8. Pariona F. Efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Oenothera rosea* Ait " yawar suqu " en anillos aórticos aislados de cobayos [tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2015. Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2520>
9. Vinet R, Álvarez R, Knox M, Guzmán L, Martínez J, Flores E. Vasodilatory properties of *Solanum crispum* Ruiz & Pav. A South American native plant.

Boletín Latinoamericano y del Caribe Plantas Medicinales y Aromáticas. 2016;15(2):94–8. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85645596003>

10. Vinet R, Cortés M, Álvarez R, Guzman L, Flores E. *Centaurium cachanlahuen* (Mol.) Robinson, a Chilean native plant with a vasodilatory effect. Boletín Latinoamericano y del Caribe Plantas Medicinales y Aromáticas. 2012;11(1):61–5. <https://www.redalyc.org/pdf/856/85622229006.pdf>
11. Gómez MA, Miguez I, Caggiani M, Arias X, Laprovitera M, Blanco F, et al. Vasorelaxant effect of a *Baccharis trimera* Less DC infusion on precontracted rat aortic rings. Nat Prod Commun. 2016;11(3):283–6.
12. Cherkaoui-Tangi K, Israili ZH, Lyoussi B. Vasorelaxant effect of essential oil isolated from *Nigella sativa* L. seeds in rat aorta: Proposed mechanism. Pak J Pharm Sci. 2016;29(1):1–8.
13. Mubashir Andrabi S, Rehman W, Ahmad Reshi Z, Rashid Naqshi A, Hassan Ganie A. *Sanguisorba minor* Scop. (Rosaceae), A New Addition to the Indian Flora. Taiwan Int J Biodivers. Taiwan; 2012.57(4):410–2. <https://taiwania.ntu.edu.tw/pdf/tai.2012.57.410.pdf>
14. Zhou P, Li J, Chen Q, Wang L, Yang J, Wu A, et al. A Comprehensive Review of Genus *Sanguisorba*: Traditional Uses, Chemical Constituents and Medical Applications. Frontiers in Pharmacology. 2021;12:1-17.DOI:10.3389/fphar.2021.750165
15. Karkanis A, Vellios E, Thomaidis T, Bilalis D, Efthimiadou A, Travlos I. Phytochemistry and Biological Properties of Burnet Weed (*Sanguisorba* spp.): A Review. Notulae Scientia Biologicae. 2014;6(4):395–8. DOI:10.1583/NSB649471
16. Karkanis A, Fernandes Â, Vaz J, Petropoulos S, Georgiou E, Ciric A, et al. Chemical composition and bioactive properties of: *Sanguisorba minor* Scop. under Mediterranean growing conditions. Royal Society of Chemistry. 2019;10(3):1340–51. DOI:10.1039/c8fo02601g
17. Tang F, Yan HL, Wang LX, Xu JF, Peng C, Ao H, et al. Review of Natural Resources With Vasodilation: Traditional Medicinal Plants, Natural Products, and Their Mechanism and Clinical Efficacy. Front Pharmacol. 2021;12(April):1–24.DOI: 10.3389/fphar.2021.627458

18. Marimán J, Matesic D. Determinación del efecto de un extracto estandarizado de *Vitis vinifera* en la actividad vasomotora de aorta de rata. [Tesis]. Chile: Universidad de Chile. Facultad de Medicina. 2004.
19. Carvajal Carvajal C. El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. Medicina Legal de Costa Rica. 2017 set 34(2). https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000200090
20. Tresguerres J.A.F, ariznavarreta C, Cachofeiro V ,*et al.* Fisiología Humana. Edit. McGraw-Hill interamericana. 2da ed. México; 2005. 520–527 p.
21. Mauri Carrasco A. Fisiología del endotelio vascular. [tesis]. Sevilla: Universidad de Sevilla: Facultad de Farmacia. 2019
22. Galley HF, Webster NR. Physiology of the endothelium. British Journal Anaesthesia. 2004;93(1):105–13. DOI:10.1093/bja/ae163
23. Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Portolés A, Leza C, Moro A, *et al.* Velázquez: Farmacología Básica y Clínica. 19 ed. Edit. Panamericana; 2018. 882–905 p.
24. Brunton L, Hilal R, Knollmann B. Goodman y Gilman: Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Edit. Mc Graw Hill. 2019. 882–905 p.
25. Castillo C, Castillo EF, López J, López RM. La testosterona inhibe las respuestas contráctiles del agonista adrenérgico α_1 , fenilefrina, asociadas con la liberación de calcio intracelular en la aorta de rata. Gac Med Mex. 2006;142(1):1–8.
26. Simón A, Castro A, Kaski JC. Avances en el conocimiento de la disfunción endotelial y su aplicación en la práctica clínica. Rev Cubana Med. 2001;40(3):212–22.
27. Renna NF, Miatello RM. Fisiología del músculo liso vascular contracción del músculo liso. Soc. Arg. Hipert. Arter. (36):172–5. <https://www.saha.org.ar/pdf/libro/Cap.036.pdf>
28. Webb RC. Smooth muscle contraction and relaxation. American Journal of Physiology - Adv Physiol Educ. 2003;27(1–4):201–6. DOI:10.1152/ADVAN.00025.2003
29. Tortora Gerard, Derrickson Bryan. Principios de Anatomía y Fisiología. Edit.

Panamericana. 11ª ed. España; 2010. 802–874 p.

30. Barón A. Evaluación de la actividad vasodilatadora en anillos aislados de aorta de derivados de flavonoides obtenidos de *Croton schiedeanus* Schlecht. [tesis Maest]. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Colombia; 2020. [https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/78580/Evaluación de la actividad vasodilatadora de derivados de flavonoides de croton schiedeanus.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/78580/Evaluación%20de%20la%20actividad%20vasodilatadora%20de%20derivados%20de%20flavonoides%20de%20croton%20schiedeanus.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
31. Korolkovas A., Burckhalter JR. Compendio esencial de Química farmacéutica. Edit Reverté. Barcelona;1983. 403 p.
32. Díez Martínez DJ, Monfa JM, Sánchez Ibarrola A, Purrry A. Vasodilatadores y simpaticolíticos. Rev Med Univ Navarra. Navarra 2009;Vol4:31–7.
33. Skorecki K, Chertow GM, Marsden PA, Taal MW, Yu ASL. Brenner y Rector. El riñón . Edit. ELSEVIER. 10ma ed. Italia; 2018.p 1656–9.
34. Gómez J, Castilla L, Muñoz N, Pertierra U. *et. al.*. Hipertensión arterial. Fesemi.España. 2014
35. Kasper, Fauci, Hauser, Longo, Jameson, Loscalzo. Harrison Principios de medicina interna. Vol 2. 19 ed. Edit. Hill MG;2015. 1611–1627 p..
36. Sánchez R, Ayala M, Baglivo H, Velázquez C, Burlando G, Kohlmann O, *et al.* Consenso latinoamericano de hipertensión arterial guías latinoamericanas de hipertensión arterial.Argentina. 2009;96(2):60–84.
37. Rechnitzer- Mora AE. Fisopatología de la Hipertensión arterial. Costa Rica. 2003;32. <http://revista.uaca.ac.cr/index.php/actas/article/view/1164>
38. Tagle R. Diagnóstico De Hipertensión Arterial. Rev. Med. Clin.Condes. Chile. 2018;29(1):12–20.
39. Wagner P. Fisiopatología de la hipertensión arterial: nuevos conceptos. Rev. Peru Ginecol Obstet. 2018;64(2):175–84.
40. Buelvas N., Vielma R. Hipertensión arterial: ingesta de sal y mecanismos de patogénesis. Avan Biomed. 2020;9(1):16-29.
41. Basso N. Sistema Renina Angiotensina Adosterona. Soc. Arget. Hipert. Arter. Argentina. 2014;24(6):112-116

42. Katzung B, Masters S, Trevor A. Farmacología Básica y clínica. 12 ed. Edit. Hill MG. México; 2010. 169–190 p.
43. Rang H, Ritter M, Flower J, Henderson G. Rang y Dale: Farmacología. Edit. Elsevier. 8va ed. España; 2016.p 365-307.
44. Maroto S. Inhibidores de la enzima angiotensina convertasa (IECA). Farmacología e indicaciones terapéuticas. *Offarm Farm y Soc.* 2000;19(3):80–8
45. López J, Swedberg K, McMurrat J, Tamargo J, Maggioni A, Dargie H, et al. Documento de Consenso de Expertos sobre bloqueadores de los receptores β -adrenérgicos. *Rev Española Cardiol.* 2005;58(1):65–90.
46. George B, Craig S. Farmacología Básica. Edit Elsevier. 5ta ed. España; 2018 . 103–115 p.
47. Goldman L., Schafer A. Goldman-Cecil: Tratado de medicina interna. 26 ed. Edit. Elsevier; 2021. 452-453p.
48. Florez J, Armijo JA, Mediavilla A. Farmacología humana. 3ra ed. Edit. Masson. Barcelona; 1997. 266–273 p.
49. Hernández R., Fernández C., Baptista M. Metodología de la investigación. Edit. Mc Graw Hill. 6ta ed. México; 2014. 126–168 p.
50. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica de Métodos en el estudio de Productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994
51. Cuéllar Cuéllar, A. y Miranda Martínez, M.. Farmacognosia y productos naturales. Edit. Poligráfica Félix Varela. 1 a ed. Cuba; 2001. p.34-50
52. Furchgott RF, Bhadrakom S. Reactions of strips of rabbit aorta to epinephrine, isopropylarterenol, sodium nitrite and other drugs. *J. Pharmacol Exp Ther.* 1953;108(2):129-143.
53. Hernán J, Palacios M, Gutiérrez O. Implementación de la técnica en órgano aislado vascular como herramienta para la validación de plantas medicinales: estudio del efecto vasodilatador de la *Salvia scutellarioides*. *Colomb Med.* 2007;38(1):28–33.
54. Tinco A. Efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. “huanarpo macho” en ratas con inducción de

- disfunción eréctil.[tesis doctor]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2010.
55. Grosso G, Godos J, Currenti W, Micek A, Falzone L, Libra M, et al. The Effect of Dietary Polyphenols on Vascular Health and Hypertension: Current Evidence and Mechanisms of Action. *Nutrients*. 2022;14(3).
 56. Russo R, Speranza M. Los flavonoides en la terapia cardiovascular. *Rev costarric cardiol*. 2006;8(1):13–8.
 57. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. [The polyphenols, Nat Occur Compd with Benef Eff Cardiovasc Dis. 2012;27(1):76–89.
 58. Ciumarnean L, Vasile M, Runcan O, Vesa C, Rachisan A, Negrean V, et al. The Effect of Flavonoids in Cardiovascular Diseases. 2020;1–18. DOI:10.3390/molecules25184320
 59. Esquivel ER, Noriega R, Bello MA, Saavedra A, Salgado R. Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Biológicas*. 2012;14(1):45–52.
 60. Salvá J.A. Asociación de farmacología. *Anales, Sec. Esp. España*;1968. 3–12 p.
 61. Beatriz GI, Meritxell LG, Ana MV, Julio PM. Bases de la Fisiología. Edit. TÉBAR. 2da ed. España; 2007. 57–92 p.
 62. Herimar María BH. Actividad vasorrelajante de *Anacardium occidentale* L. : aislamiento biodirigido del compuesto activo y posible mecanismo de acción [tesis]. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Venezuela; 2018. <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/19582/1/TEG%20Herimar%20Bellera.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Constancia de clasificación taxonómica de la *Sanguisorba minor* Scop. "pimpinilla".

CONSTANCIA

LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

Que, la Bachiller en Farmacia y Bioquímica, **Srta. Jenyffer Gabriela, SULCA DELGADO**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:

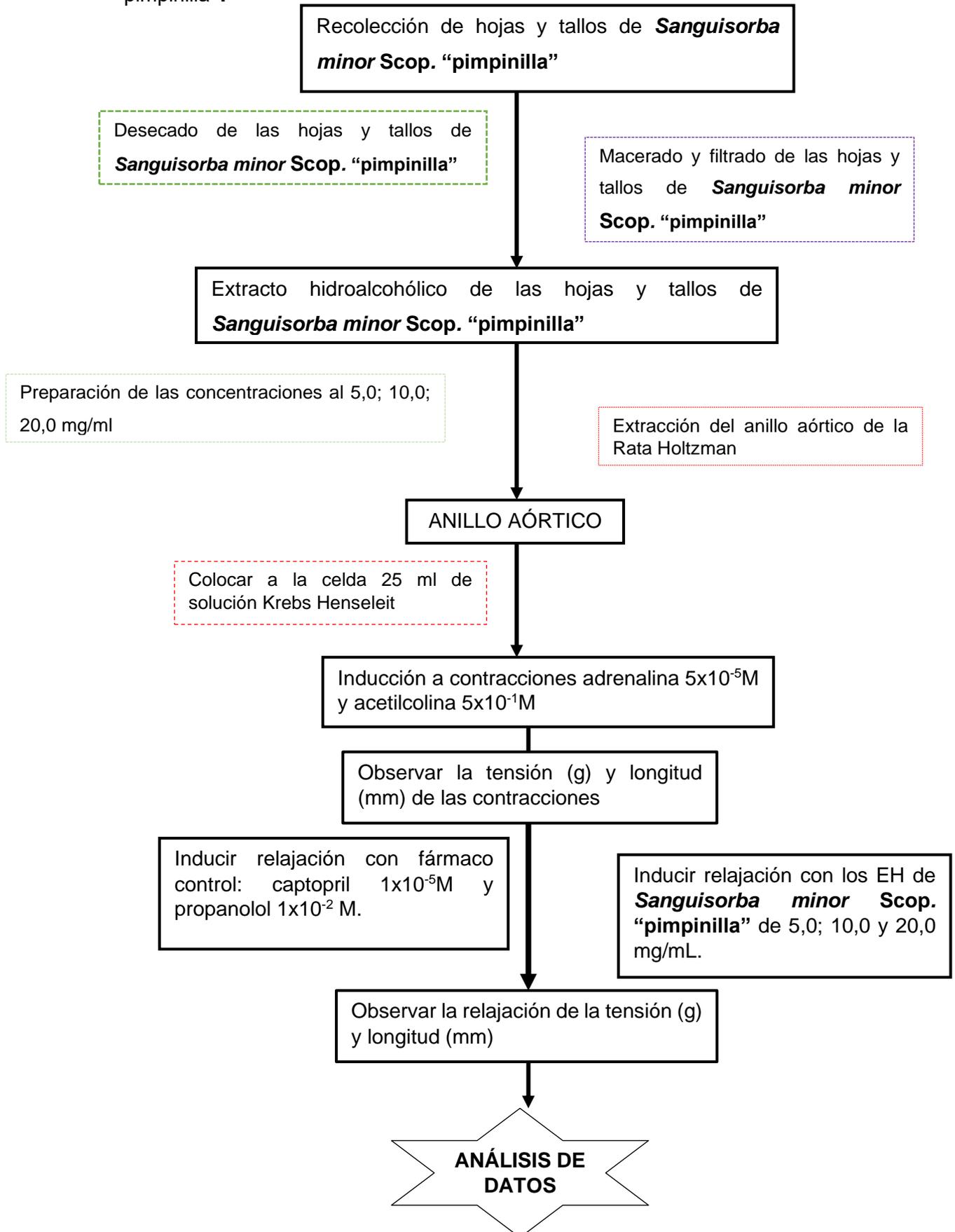
DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	ROSALES
FAMILIA	:	ROSACEAE
GÉNERO	:	Sanguisorba
ESPECIE	:	<i>Sanguisorba minor</i> Scop.
N. V..	:	"pimpinilla menor"

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

Ayacucho, 7 de Octubre del 2021


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 2. Esquema de la evaluación farmacológica de la *Sanguisorba minor* Scop. “pimpinilla”.



Anexo 3. *Sanguisorba minor* Scop.



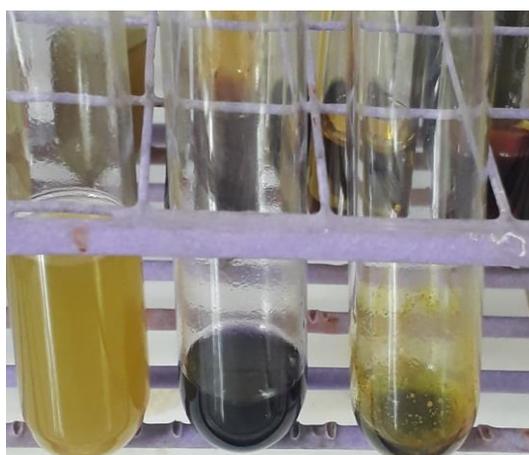
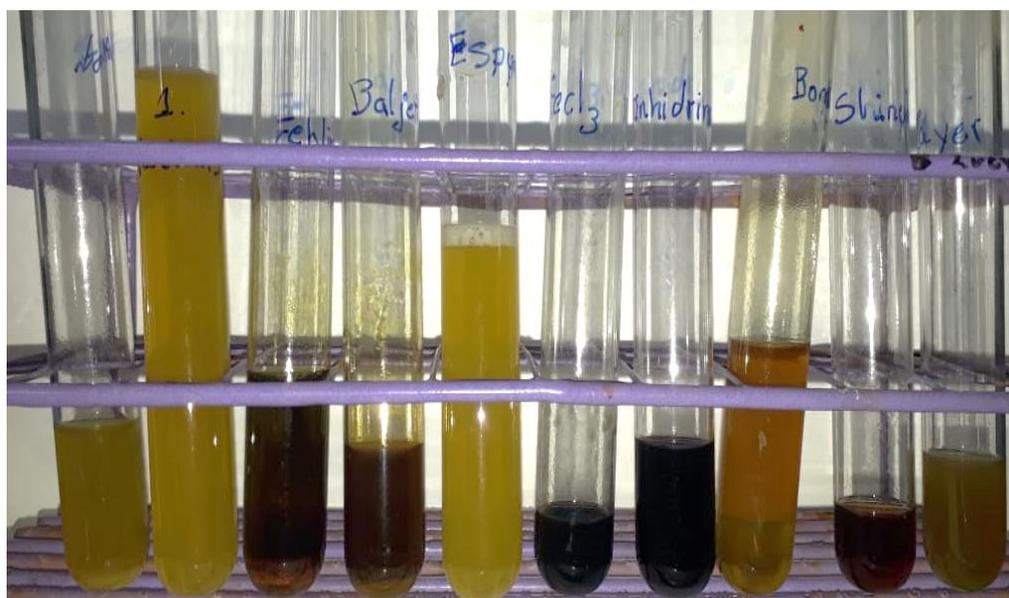
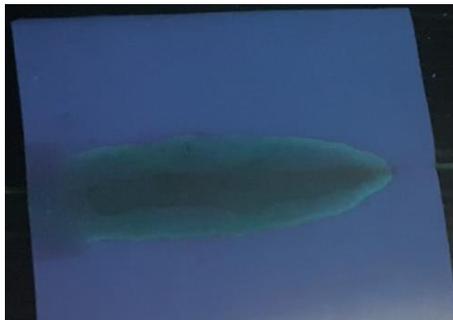
Anexo 4. Extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop.



Anexo 5. Tabla de identificación de metabolitos para tamizaje fitoquímico⁽⁵¹⁾.

Metabolito	Ensayos	Observaciones
Catequinas	Carbonato de sodio 10%	Coloración verde carmelita
Resinas	Agua destilada	No hay precipitado
Lactonas	Baljet	Coloración y precipitado rojo
Saponinas	Espuma	Espuma en la superficie
Flavonoides	Shinoda	Coloración roja
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	Coloración verde oscura
Aminoácidos	Ninhidrina	Coloración violeta
Quinonas	Borntranger	No hay coloración
Alcaloides	Mayer	No precipitado
	Dragendorff	No precipitado
	Wagner	No precipitado
Glucósidos cardenólicos	Kedde	No hay coloración violácea
Azúcares reductores	Fehling	Precipitado rojo
	Benedict	Precipitado naranja

Anexo 6. Tamizaje fitoquímico del extracto de hojas y tallos de la *Sanguisorba minor* Scop. "pimpinilla".



Anexo 7. Disección de la rata Holtzman.



Anexo 8. Extracción de la aorta.



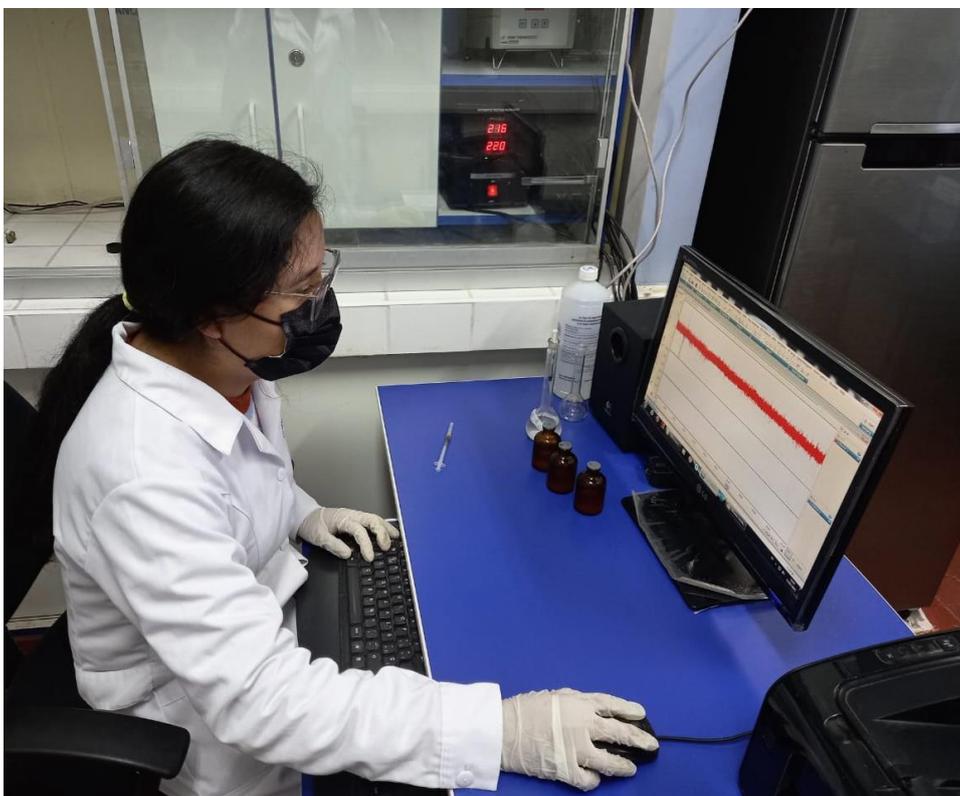
Anexo 9. Montaje del anillo aórtico en el quimografo.



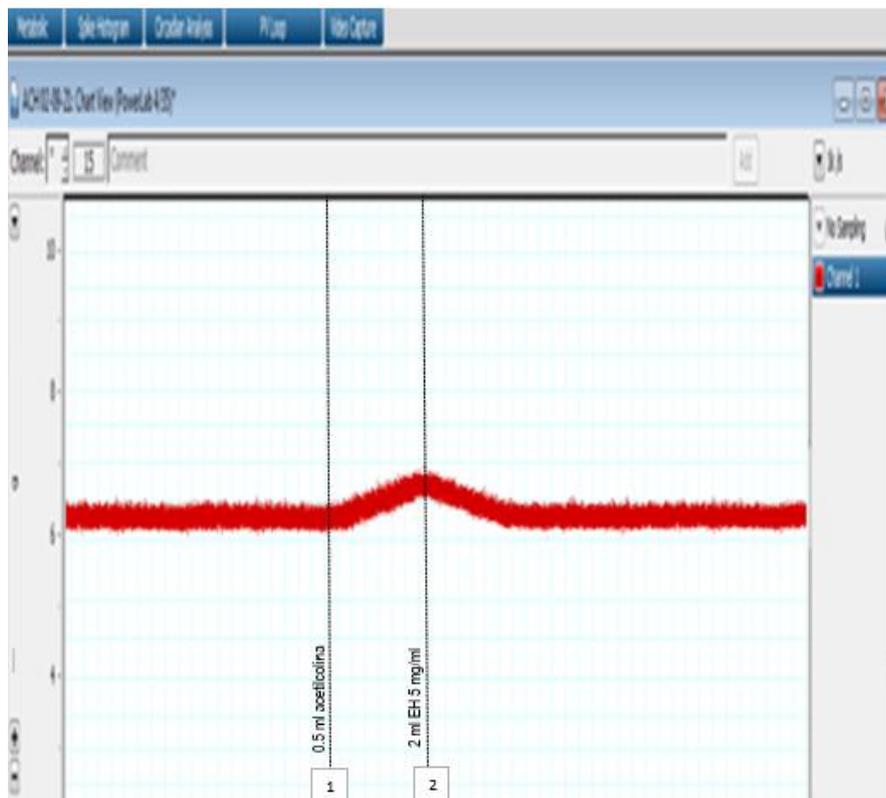
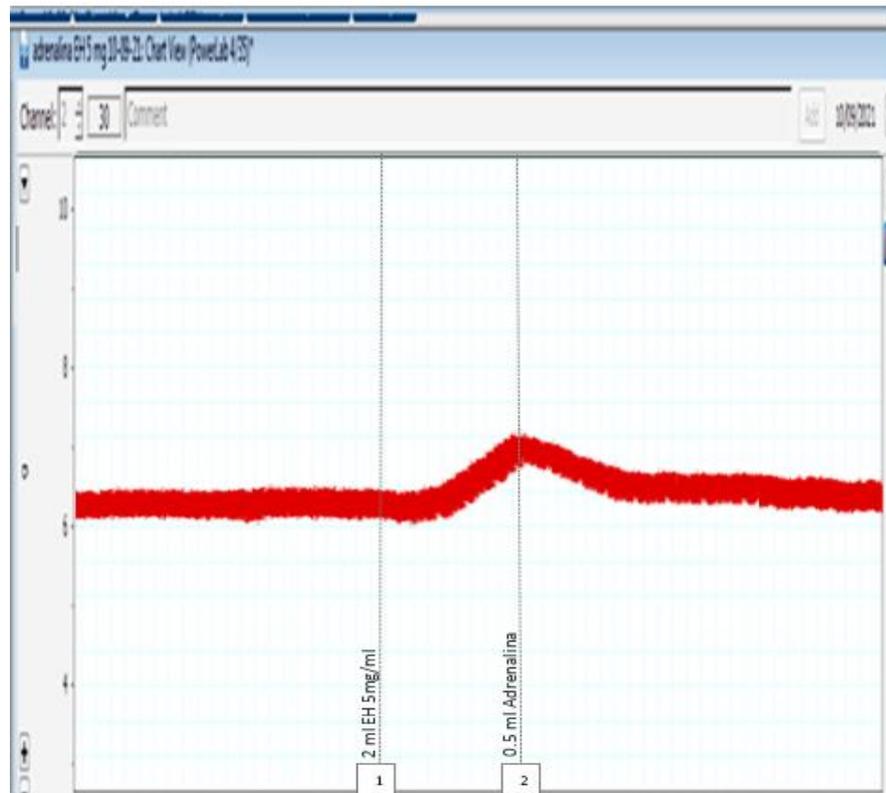
Anexo 10. Quimógrafo automatizado PanLab.



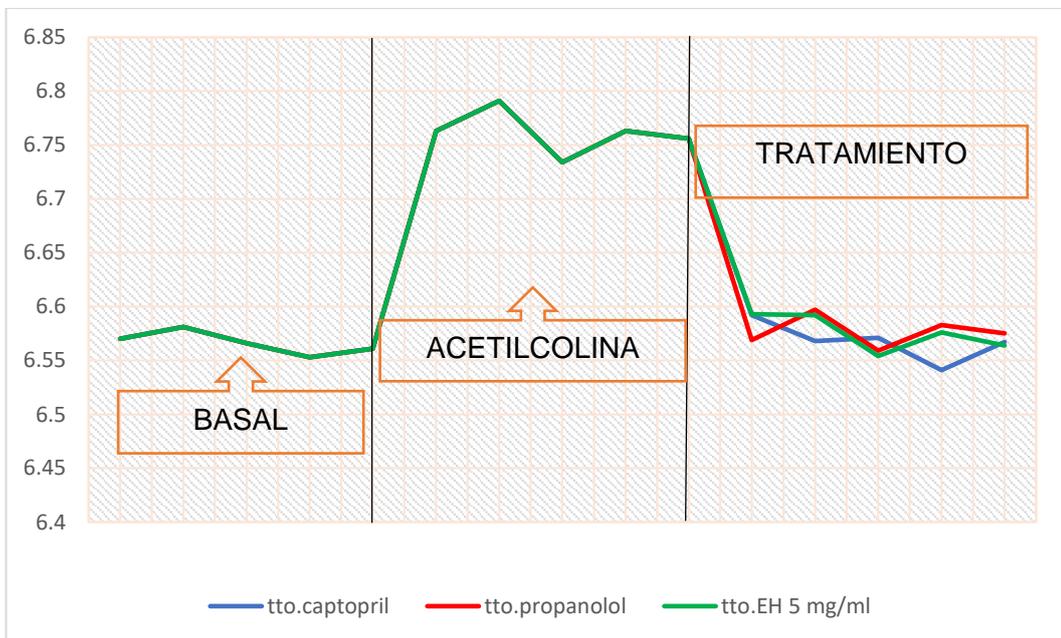
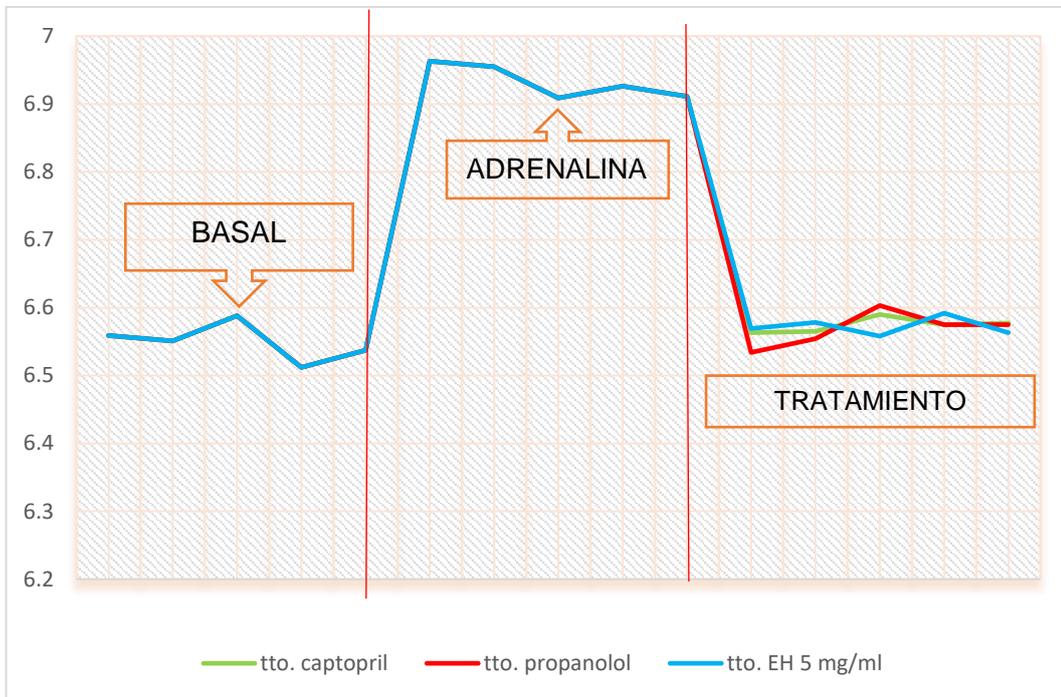
Anexo 11. Lectura de los resultados en el Software LabChart.



Anexo 12. Resultados del Software LabChart, después de la administración del tratamiento



Anexo 13. Diagrama del efecto vasodilatador, después de la administración de los tratamientos.



Anexo 14. Datos de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina.

	Basal	Adrenalina	Estándar		Extracto Hidroalcohólico		
			Captopril	Propanolol	5	10	20
1	6.559	6.932	6.558	6.567	6.528	6.607	6.607
2	6.551	6.914	6.555	6.582	6.563	6.583	6.602
3	6.588	6.941	6.567	6.561	6.563	6.553	6.605
4	6.512	6.921	6.558	6.604	6.579	6.592	6.610
5	6.537	6.938	6.580	6.554	6.596	6.594	6.590
Promed.	6.549	6.929	6.564	6.574	6.566	6.586	6.603
Desv. St	0.028	0.011	0.010	0.020	0.025	0.020	0.008

Anexo 15. Datos de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina.

	Basal	Adrenalina	Estándar		Extracto Hidroalcohólico		
			Captopril	Propanolol	5	10	20
1	6.559	6.963	6.563	6.534	6.569	6.600	6.619
2	6.551	6.955	6.565	6.554	6.578	6.581	6.609
3	6.588	6.909	6.590	6.603	6.558	6.581	6.619
4	6.512	6.926	6.575	6.575	6.592	6.580	6.613
5	6.537	6.911	6.577	6.575	6.563	6.585	6.609
Promed.	6.549	6.933	6.574	6.568	6.572	6.585	6.614
Desv. St	0.028	0.025	0.011	0.026	0.013	0.008	0.005

Anexo 16. Datos de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina

	Basal	Acetilcolina	Estándar		Extracto Hidroalcohólico		
			Captopril	Propanolol	5	10	20
1	6.570	6.763	6.592	6.569	6.593	6.628	6.639
2	6.581	6.791	6.568	6.597	6.592	6.609	6.650
3	6.566	6.734	6.571	6.559	6.554	6.651	6.697
4	6.553	6.763	6.541	6.583	6.576	6.691	6.654
5	6.561	6.756	6.567	6.575	6.564	6.653	6.669
Promed.	6.566	6.761	6.568	6.577	6.576	6.646	6.662
Desv. St	0.010	0.020	0.018	0.014	0.017	0.031	0.022

Anexo 17. Datos de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina

	Basal	Acetilcolina	Estándar		Extracto Hidroalcohólico		
			Captopril	Propanolol	5	10	20
1	6.583	6.755	6.590	6.583	6.566	6.680	6.674
2	6.550	6.732	6.582	6.583	6.597	6.684	6.668
3	6.565	6.762	6.571	6.597	6.543	6.618	6.631
4	6.577	6.779	6.580	6.589	6.551	6.651	6.641
5	6.559	6.767	6.579	6.590	6.590	6.604	6.623
Promed.	6.567	6.759	6.580	6.588	6.569	6.647	6.647
Desv. St	0.013	0.017	0.007	0.006	0.024	0.036	0.023

Anexo 18. ANOVA de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina.

ANOVA					
Tensión	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,009	5	,002	4,395	,006
Dentro de grupos	,010	24	,000		
Total	,018	29			

Anexo 19. Prueba Tukey de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina

TENSIÓN

HSD Tukey^a

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		a	b
Basal	5	6,54940	
Captopril	5	6,56360	
EH 5mg/mL	5	6,56580	6,56580
Propranolol	5	6,57360	6,57360
EH 10mg/mL	5	6,58580	6,58580
EH 20mg/mL	5		6,60280
Sig.		,077	,070

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

EH = extracto hidroalcohólico

Anexo 20. Prueba de Dunnett de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Tensión

T de Dunnett (bilateral)^a

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
propranolol	captopril	,01000	,01132	,790	-,0200	,0400
EH 5 mg/mL	captopril	,00220	,01132	,999	-,0278	,0322
EH 10 mg/mL	captopril	,02220	,01132	,188	-,0078	,0522
EH 20 mg/mL	captopril	,03920*	,01132	,009	,0092	,0692
captopril	propranolol	-,01000	,01132	,790	-,0400	,0200
EH 5 mg/mL	propranolol	-,00780	,01132	,896	-,0378	,0222
EH 10 mg/mL	propranolol	,01220	,01132	,663	-,0178	,0422
EH 20 mg/mL	propranolol	,02920	,01132	,058	-,0008	,0592

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.
EH = extracto hidroalcohólico

Anexo 21. ANOVA de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina

ANOVA						
Longitud	Suma de	de	gl	Media	F	Sig.
	cuadrados			cuadrática		
Entre grupos	,011		5	,002	7,469	,000
Dentro de grupos	,007		24	,000		
Total	,019		29			

Anexo 22. Prueba de Tukey de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina

LONGITUD

HSD Tukey^a

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		a	b	c
Basal	5	6,54940		
Propranolol	5	6,56820	6,56820	
EH 5mg/mL	5	6,57200	6,57200	
Captopril	5	6,57400	6,57400	
EH 10 mg/mL	5		6,58540	6,58540
EH 20 mg/mL	5			6,61380
Sig.		,267	,637	,146

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

EH = extracto hidroalcohólico

Anexo 23. Prueba de Dunnett de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con adrenalina

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Longitud

T de Dunnett (bilateral)^a

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
propranolol	captopril	-,00580	,00922	,921	-,0302	,0186
EH 5 mg/mL	captopril	-,00200	,00922	,998	-,0264	,0224
EH 10 mg/mL	captopril	,01140	,00922	,555	-,0130	,0358
EH 20 mg/mL	captopril	,03980*	,00922	,001	,0154	,0642
captopril	propranolol	,00580	,00922	,921	-,0186	,0302
EH 5 mg/mL	propranolol	,00380	,00922	,981	-,0206	,0282
EH 10 mg/mL	propranolol	,01720	,00922	,221	-,0072	,0416
EH 20 mg/mL	propranolol	,04560*	,00922	,000	,0212	,0700

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.
EH = extracto hidroalcohólico

Anexo 24. ANOVA de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina

ANOVA					
Tensión	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,046	5	,009	23,317	,000
Dentro de grupos	,010	24	,000		
Total	,056	29			

Anexo 25. Prueba de Tukey de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina

TENSIÓN			
HSD Tukey ^a			
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		a	b
Basal	5	6,56620	
captopril	5	6,56780	
EH 5 mg/mL	5	6,57580	
Propranolol	5	6,57660	
EH 10 mg/mL	5		6,64640
EH 20 mg/mL	5		6,66180
Sig.		,960	,823

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

EH = extracto hidroalcohólico

Anexo 26. Prueba de Dunnett de la tensión (g) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Tensión
T de Dunnett (bilateral)^a

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
propranolol	captopril	,00880	,01350	,912	-,0270	,0446
EH 5 mg/mL	captopril	,00800	,01350	,935	-,0278	,0438
EH 10 mg/mL	captopril	,07860*	,01350	,000	,0428	,1144
EH 20 mg/mL	captopril	,09400*	,01350	,000	,0582	,1298
captopril	propranolol	-,00880	,01574	,946	-,0505	,0329
EH 5 mg/mL	propranolol	,00840	,01574	,954	-,0333	,0501
EH 10 mg/mL	propranolol	,06980*	,01574	,001	,0281	,1115
EH 20 mg/mL	propranolol	,08520*	,01574	,000	,0435	,1269

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.
EH = extracto hidroalcohólico

Anexo 27. ANOVA de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina

ANOVA

Longitud

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,035	5	,007	16,703	,000
Dentro de grupos	,010	24	,000		
Total	,046	29			

Anexo 28. Prueba de Tukey de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina

LONGITUD			
HSD Tukey ^a			
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		a	b
Basal	5	6,56680	
EH 5 mg/mL	5	6,56940	
captopril	5	6,58040	
propranolol	5	6,58840	
EH 20 mg/mL	5		6,64740
EH 10 mg/mL	5		6,64740
Sig.		,585	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

EH = extracto hidroalcohólico

Anexo 29. Prueba de Dunnett de la longitud (mm) generada por la contracción de los anillos aórticos aislados por efecto de los tratamientos, inducidas con acetilcolina

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Longitud

T de Dunnett (bilateral)^a

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
propranolol	captopril	,00800	,01397	,942	-,0290	,0450
EH 5 mg/mL	captopril	-,01100	,01397	,846	-,0480	,0260
EH 10 mg/mL	captopril	,06700*	,01397	,000	,0300	,1040
EH 20 mg/mL	captopril	,06700*	,01397	,000	,0300	,1040
captopril	propranolol	-,00800	,01397	,942	-,0450	,0290
EH 5 mg/mL	propranolol	-,01900	,01397	,476	-,0560	,0180
EH 10 mg/mL	propranolol	,05900*	,01397	,002	,0220	,0960
EH 20 mg/mL	propranolol	,05900*	,01397	,002	,0220	,0960

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.
EH = extracto hidroalcohólico

Anexo 30. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	DISEÑO METODOLÓGICO
Efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop "pimpinilla", en anillos aórticos de ratas Holtzman.	¿Tendrá efecto vasodilatador el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop "pimpinilla" en anillos aórticos de Ratas Holtzman?	<p>Objetivo General evaluar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de la <i>Sanguisorba minor</i> Scop "pimpinilla" en anillos aórticos aislados de ratas Holtzman</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop "pimpinilla". Determinar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop "pimpinilla" mediante la tensión (g) y longitud (mm) de las contracciones de los anillos aórticos aislados de ratas Holtzman. Comparar el efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla" frente al captopril y propanolol. 	<p>Los compuestos químicos del género <i>Sanguisorba</i> incluyen compuestos fenólicos como: ácidos fenólicos, flavonoides (quercetina), neolignanós y terpenoides, responsables del efecto vasodilatador. Dentro de las propiedades farmacológicas incluyen propiedades antialérgicas, antiinflamatorias, antiangiogénicas, antivirales, antibacterianas, hemostáticas.</p> <p>Mecanismo de relajación del músculo liso La relajación del músculo liso vascular ocurre por la remoción de estímulos contráctiles o por acción directa de sustancias inhibitorias del mecanismo contráctil. El mecanismo involucra que la concentración de calcio intracelular disminuya, asimismo, la cadena de miosina tenga mayor actividad, es decir que se elimina el calcio intracelular y así, la actividad de la fosfatasa de la cadena de miosina, relaja el músculo liso.</p>	<p>Ho: el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla" tiene efecto vasodilatador en los aórticos aislados de ratas Holtzman, diferente del estándar captopril y propanolol</p> <p>H: el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla" tiene efecto vasodilatador en los aórticos aislados de ratas Holtzman, igual y/o parecido del estándar captopril y propanolol</p>	<p>Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Sanguisorba minor</i> Scop "pimpinilla"</p> <p>Indicador: - 5 mg/ml - 10mg/ml - 20mg/ml</p> <p>Variable dependiente Efecto vasodilatador en anillos aórticos</p> <p>Indicador: -Tensión (g) de las contracciones -Longitud (mm) de las contracciones</p> <p>Relación entre variables Los extractos hidroalcohólicos de las hojas y tallos de <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla" a diferentes concentraciones muestra efecto sobre la vasodilatación de anillos aórticos.</p>	<p>Nivel de investigación: básico-experimental</p> <p>Población: Hojas de <i>Sanguisorba minor</i> Scop. "pimpinilla" que serán recolectadas en el distrito de Quinua.</p> <p>Muestra: 2kg de hojas seca de <i>Sanguisorba minor</i> Scop "pimpinilla", que serán recolectadas en el distrito de Quinua.</p> <p>Animales de experimentación: ratas Holtzman.</p> <p>Unidad de experimentación: anillos aórticos</p> <p>Metodología: inducir la contracción de los anillos aórticos con adrenalina y acetilcolina, e inducir vasodilatación con el estándar de captopril y propanolol y comparar el efecto con el extracto hidroalcohólico al 5,0; 10,0 y 20,0 mg/mL.</p> <p>Diseño de investigación: Diseño con estímulo creciente con control. Los animales de experimentación fueron asignados aleatoriamente a los grupos.</p> <p>Análisis de datos: Los datos obtenidos de la longitud(mm) y tensión(g) serán el resultado de cinco repeticiones y se hallara el promedio \pm desviación estándar. Las diferencias entre los tratamientos serán evaluadas mediante el análisis de varianza, con un nivel de confianza al 95% ($p < 0.05$) y pruebas de comparaciones múltiples Tukey y Dunnett.</p>

**UNSCH****FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD****ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA****DOCENTES INSTRUCTORES
DEL SOFTWARE ANTIPLAGIO**

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD PRIMERA INSTANCIA DE TRABAJO DE TESIS - 004 - 2023

El suscrito docente – instructor responsable de operativizar, verificar, garantizar y controlar la originalidad de los trabajos de tesis de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica designado por Resolución Decanal N° 0331 – 2022 – UNSCH – FCSA/D de fecha 03 de junio de 2022, deja constancia que el trabajo de tesis titulado: “ **Efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Sanguisorba minor Scop. en anillos aórticos aislados de ratas Holtzman, Ayacucho 2021***”

Autor: Bach. **Jenyffer Gabriela SULCA DELGADO**

Asesor: Profesor **Johnny Aldo TINCO JAYO**

Ha sido sometido al análisis del sistema antiplagio TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **23 % de Índice de Similitud**.

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga es procedente conceder **la Constancia de Originalidad en Primera Instancia**.

Ayacucho, 16 de febrero de 2023

Mg. Enrique Javier Aguilar Felices
Químico Farmacéutico

Firmado
digitalmente por
Mg Enrique Javier
AGUILAR FELICES
Fecha: 2023.02.16
10:11:35 -05'00'

Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES
Docente – Instructor



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:
TESIS DE PREGRADO

(11-2023-EPFB-UNSCH)

La que suscribe, directora de escuela y docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en representación de la decana y delegada por Resolución Decanal N° 077-2021-UNSCH-FCSA/D, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

“Efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Sanguisorba minor* Scop. en anillos aórticos aislados de ratas Holtzman, Ayacucho 2021”

Presentado por la: Bach. **Jenyffer Gabriela Sulca Delgado**

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **23% de índice de similitud.**

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH. Por tanto, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 16 de febrero del 2023



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Mg. Maricela López Sierralta
DIRECTORA
Docente. Instructor
Segunda instancia

cc.
Archivo.

“Efecto vasodilatador del
extracto hidroalcohólico de
hojas y tallos de Sanguisorba
minor Scop. en anillos aórticos
aislados de ratas Holtzman,
Ayacucho 2021”

por Jenyffer Gabriela Sulca Delgado

Fecha de entrega: 16-feb-2023 05:30p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2016020085

Nombre del archivo: TESIS_SULCA_DELGADO_Jenyffer_Gabriela.pdf (1.73M)

Total de palabras: 16039

Total de caracteres: 85367

“Efecto vasodilatador del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de Sanguisorba minor Scop. en anillos aórticos aislados de ratas Holtzman, Ayacucho 2021”

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%

INDICE DE SIMILITUD

23%

FUENTES DE INTERNET

9%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	9%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	3%
3	www.tesis.uchile.cl Fuente de Internet	1%
4	repositorio.unal.edu.co Fuente de Internet	1%
5	idoc.pub Fuente de Internet	1%
6	repository.udca.edu.co Fuente de Internet	1%
7	2fwww.redalyc.org Fuente de Internet	1%
8	www.herbmedpharmacol.com Fuente de Internet	1%

9	doku.pub Fuente de Internet	<1 %
10	patents.justia.com Fuente de Internet	<1 %
11	facultadfarmacia.uv.cl Fuente de Internet	<1 %
12	revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
13	issuu.com Fuente de Internet	<1 %
14	www.owr.ehnr.state.nc.us Fuente de Internet	<1 %
15	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
16	repebis.upch.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
17	core.ac.uk Fuente de Internet	<1 %
18	repositorio.unsa.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
19	www.mdpi.com Fuente de Internet	<1 %
20	new.medigraphic.com Fuente de Internet	<1 %

21	fedora.unibl.org Fuente de Internet	<1 %
22	www.revistas.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
23	docs.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
24	repositorio.ufjf.br Fuente de Internet	<1 %
25	www.elsevier.es Fuente de Internet	<1 %
26	1library.co Fuente de Internet	<1 %
27	Submitted to Universidad Autónoma de Nuevo León Trabajo del estudiante	<1 %
28	Submitted to Universidad Nacional de Colombia Trabajo del estudiante	<1 %
29	biblioteca.usac.edu.gt Fuente de Internet	<1 %
30	repositorio.ucsg.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
31	riaa.uaem.mx Fuente de Internet	<1 %

32

Sholeh Akbari, Maliheh Soodi, Homa Hajimehdipoor, Nasim Ataei. "Protective effects of Sanguisorba minor and Ferulago angulata total extracts against beta-amyloid induced cytotoxicity and oxidative stress in cultured cerebellar granule neurons", Journal of Herbmec Pharmacology, 2019

Publicación

<1 %

33

qdoc.tips

Fuente de Internet

<1 %

34

tesis.ucsm.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

35

www.medf.kg.ac.rs

Fuente de Internet

<1 %

36

Submitted to Chiang Mai University

Trabajo del estudiante

<1 %

37

cybertesis.unmsm.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

38

epage.pub

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo