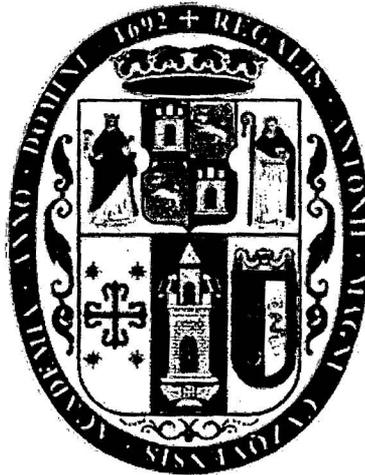


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAB DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS, FISICAS Y MATEMATICAS**  
**CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



Efecto Hipotensor in vivo del extracto seco acuoso de las partes aéreas de *Urtica magellanica* (ortiga) en ratas hipertensas inducidas por L-NAME y Determinación de la Toxicidad aguda.

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

**TESIS PRESENTADA POR:**

**Br. RITKA RAMIREZ CANDIA.**

**Br. LISSET ANALI YLLATUPA PALOMINO**

**ASESORA: Mgt. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ.**

**CUSCO - PERU**

**2013**

## INDICE

### CAPITULO I

#### ASPECTOS GENERALES

Planteamiento del problema.....	1
1.1 Descripción del problema.....	1
1.1.1 Formulación del problema.....	2
1.2 Objetivos.....	2
1.2.1. Objetivos generales.....	2
1.2.2. Objetivos específicos.....	3
1.3 Justificación e importancia.....	4
1.4 Hipótesis.....	5
1.5 Limitaciones.....	5

### CAPITULO II

#### MARCO TEORICO Y CONCEPTUAL

Visión histórica.....	7
2.1 Antecedentes.....	7
2.1.1. Antecedentes etnofarmacológicos.....	7
2.1.2. Antecedentes fitoquímicas.....	8
2.1.3. Antecedentes farmacológicos.....	8
Estado de la cuestión.....	16
2.2 Bases teórico – científicas.....	17
2.2.1. Aspectos botánicos de la especie en estudio.....	17
2.2.1.1. Clasificación taxonómica.....	17
2.2.1.2. Sinonimia del nombre común de la especie vegetal.....	18
2.2.1.3 Características botánica.....	18
2.2.1.4. Usos medicinales populares.....	19
2.2.1.5. Acciones farmacológicas.....	19
2.2.1.6. Composición química.....	20
2.2.1.7. Aspectos fitoquímicos.....	20
2.3. Aspectos anatomofisiológicos.....	24

2.3.1 Anatomía y fisiología del sistema vascular .....	24
2.3.2 Etiología de la hipertensión arterial .....	26
2.4. Fisiología de la presión arterial .....	26
2.4.1 Fisiopatología de la hipertensión arterial .....	26
2.4.2 Sistema nervioso simpático .....	28
2.4.3 Reactividad vascular y estrés .....	30
2.4.4 Remodelamiento vascular y endurecimiento vascular .....	30
2.4.5 Angiotensina II y estrés oxidativo .....	31
2.4.6 Aldosterona .....	32
2.4.7 Endotelina .....	33
2.4.8 Óxido nítrico .....	33
Radicales libres .....	34
2.4.9 Tratamiento de la hipertensión arterial .....	34
2.4.10 Anatomía y fisiología del sistema vascular de la rata .....	36
2.4.11 Modelo de hipertensión con L-NAME .....	39
2.4.11.1 Modelo de hipertensión con L-NAME .....	39
2.4.11.2 Participación del NO en la regulación de la PA .....	39
2.4.11.3 Dosis de L-NAME .....	40
2.5 Descripción del fármaco patrón .....	41
2.5.1 Enalapril .....	41
2.5.1.1 Descripción .....	41
2.5.1.2. Mecanismo de acción .....	41
2.5.1.3. Farmacocinética y metabolismo .....	42
2.5.1.4. Farmacodinamia .....	42
2.5.1.5. Indicaciones y posología .....	43
2.5.1.6. Contraindicaciones y precauciones .....	43
2.5.1.7. Interacciones .....	46
2.5.1.8. Efectos secundarios .....	48
2.6. Evaluación de la toxicidad aguda .....	48
2.6.1 La DL50 como constante biológica .....	49
2.6.2 Desarrollo histórico de los test de DL50 .....	50

2.6.3 El método de Lorke para la determinación de DL50 .....	51
2.7 Glosario de términos .....	53

### **CAPITULO III**

#### **MATERIALES Y METODOS**

3.1 Material biológico .....	56
3.1.1. Material botánico .....	56
3.1.2. Animal de experimentación .....	56
3.2 Materiales e instrumentos de laboratorio .....	56
3.2.1. Material de campo .....	56
3.2.2. Material de laboratorio .....	56
3.2.3 Equipo de laboratorio .....	57
3.2.4. Otros materiales .....	57
3.2.5. Fármaco utilizado .....	57
3.2.6. Reactivos .....	57
3.2.7. Recursos de infraestructura para el estudio .....	58
3.3 Diseño de estudio .....	58
3.3.1. Tipo de estudio .....	58
3.4 Codificación del diseño de investigación .....	58
Operacionalización de la variable .....	60
3.5 Variables implicadas .....	61
3.5.1. Variables independientes .....	61
3.5.2. Variables dependientes .....	61
3.5.2.1 Sub variables .....	62
3.6 variables no implicadas .....	63
3.6.1. Variables intervinientes .....	63
3.6.2. Criterios de inclusión y exclusión .....	64
3.6.3 Diseño metodológico para el método de toxicidad aguda .....	65
3.7 Procedimiento .....	68
Identificación taxonómica .....	69
3.7.1. Muestreo y preparación de la muestra vegetal .....	69

3.7.1.1. Recolección.....	69
3.7.1.2. Secado del material.....	69
3.7.1.3. Determinación de la humedad.....	69
3.7.1.4. Obtención del extracto.....	70
3.7.1.5. Análisis fitoquímico cualitativo.....	70
3.7.2. Estudio farmacológico.....	72
3.7.2.1. Determinación del efecto hipotensor del extracto seco acuoso de <i>Urtica magellanica</i> (ortiga) en ratas.....	72
3.7.2.2. Inducción de la hipertensión.....	72
3.7.2.3. Medición de la presión arterial.....	72
3.7.2.4. Procedimiento para la determinación del efecto hipotensor del extracto acuoso de <i>Urtica magellanica</i> .....	72
3.7.2.5. Determinación de los niveles séricos de óxido nítrico y Malondialdehído.....	72
3.7.2.6. Prueba de la toxicidad aguda por vía oral – método de Lorke.....	74
3.7.2.7. Análisis estadístico.....	75

## CAPITULO IV

### Resultados

Ensayos preliminares.....	77
4.1.1 Determinación del porcentaje de humedad de <i>Urtica magellanica</i> .....	77
4.1.2 Porcentaje de rendimiento.....	78
4.1.3 Pruebas de solubilidad.....	79
4.1.4 Análisis fitoquímico.....	80
4.2 Estudio farmacológico.....	81
4.2.1 Determinación del efecto hipotensor del extracto acuoso de <i>Urtica magellanica</i> (ortiga) en ratas.....	81

Cuadro N° 4.5: Registro de las Presiones Arteriales Medias de las ratas durante el tratamiento.....	83
Cuadro N° 4.6: Registro de las Presiones Arteriales Sistólicas de las ratas durante el tratamiento.....	84
Cuadro N° 4.7: Registro de las Presiones Arteriales Diastólica de las ratas durante el tratamiento.....	85
4.2.2 Determinación del efecto hipotensor.....	86
Cuadro N° 4.8: Efecto Hipotensor sobre la Presión Arterial Media del extracto seco acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME.....	86
Figura N°1: Efecto Hipotensor sobre la Presión Arterial Media del extracto acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME.....	87
Cuadro N° 4.9: Efecto Hipotensor sobre la Presión Arterial Sistólica del extracto seco acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME.....	88
Figura N°2: Efecto Hipotensor sobre la Presión Arterial Sistólica del extracto seco acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME.....	89
Cuadro N° 4.10: Efecto Hipotensor sobre la Presión Arterial Diastólica del extracto seco acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME.....	90
Figura N°3: Efecto Hipotensor sobre la Presión Arterial Diastólica del extracto seco acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME.....	91
Cuadro 4.11: Medias de los porcentajes de elevación de la presión arterial en ratas hipertensas antes del inicio del tratamiento (día 0).....	92
Figura N°4: Porcentajes de elevación de la presión arterial.....	93
Cuadro N° 4.12: Medias de los porcentajes de reducción de la presión arterial en ratas hipertensas al final del tratamiento (día 30).....	94
Figura n°5: porcentajes de reducción de la presión arterial.....	95
Análisis y Discusión.....	96
4.2.3 Evaluación de los niveles de óxido nítrico y malondialdehido.....	98
Cuadro N° 4.13: Concentraciones de óxido nítrico plasmático al 30° día de tratamiento.....	98

Figura N° 6: Comparativo de los niveles de óxido nítrico al día 30 de administrar el extracto seco acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME .....	99
Cuadro N° 4.14: Prueba post-Hoc o post test de Duncan para la comparación múltiple de la concentración de MDA a distintos tratamientos.....	99
Niveles de Malondialdehido al día 30 de administrar el extracto seco acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME.....	100
Cuadro N° 15: concentraciones de MDA en suero de las ratas de los grupos de experimentación al 30° día de tratamiento.....	100
Figura N°7: Comparativo de los niveles de Malondialdehido al día 30 de administrar el extracto seco acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME .....	101
Cuadro N° 4.16: Prueba post-Hoc o post test de Duncan para la comparación múltiple de la concentración de MDA a distintos tratamientos.....	101
 Análisis y Discusión.....	 102
 4.2.4 De la prueba de Toxicidad Aguda por vía oral usando el Método de Lorke para la Determinación de la Dosis Letal Media (DL50).....	 105
Cuadro N° 4.17: Fase I: Toxicidad Aguda del Extracto seco acuoso de <i>Urtica magellanica</i> (ortiga).....	105
Cuadro N° 4.18: Fase II Toxicidad Aguda del Extracto seco acuoso de <i>urtica magellanica</i> (ortiga)	
Analisis y Discusion.....	106

## CAPITULO V

Conclusiones .....	108
Sugerencias.....	111
Referencias Bibliográficas.....	112
Anexos .....	121

## RESUMEN

El objetivo de este estudio experimental ha sido evaluar el posible efecto hipotensor y tóxico del extracto acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga).

**Materiales y Métodos:** se utilizó ratas albinas machos de raza Holtzmann para la determinación de los efectos, a quienes después de una semana de adaptación se les midió la presión arterial basal sistólica, diastólica y media. Para la determinación del efecto hipotensor se realizó la inducción con la administración de N-Nitro-L-Arginina Metil Ester (L-NAME) a dosis de 40 mg/kg/día por vía oral durante 05 días y nuevamente se les midió la presión arterial postinducción, se dividió en 06 grupos de 06 animales; grupo control positivo (L-NAME) y control negativo (agua destilada), grupos experimentales a dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg de extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga) y Enalapril a dosis de 25 mg/kg. El tratamiento fue durante 30 días midiéndose la presión arterial cada 5 días.

El estudio del efecto tóxico se determinó por el método de LORKE.

**Resultados:** El extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* presentó efecto hipotensor, en donde el porcentaje de disminución de las presiones arteriales media, sistólica y diastólica de las ratas con hipertensión inducida fueron de 51.20%, 49.76% y 49.44% respectivamente con las dosis de 50 mg/Kg; de 49.76%, 49.42% y 48.81% respectivamente con la dosis de 100 mg/Kg; de 47.82%, 49.78% y 45.66% respectivamente con la dosis de 200mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* y estos valores son comparables con el efecto obtenido con el Enalapril a una dosis de 25 mg/Kg. El extracto acuoso elevó los niveles séricos de óxido nítrico y disminuyó los niveles séricos de malondialdehído. No presentó efecto tóxico en el ensayo por el método de LORKE. **Conclusiones:** Se demostró que el extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* presenta efecto hipotensor.

## ABSTRACT

The aim of this pilot study was to evaluate the possible toxic hypotensive effect and the aqueous extract of *Urtica magellanica* (nettle).

**Materials and Methods:** Male albino rats of Holtzmann race to determine the effects, who after a week of adaptation was measured baseline systolic blood pressure, diastolic and mean. For the determination of the hypotensive effect was induced by the administration of N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) at a dose of 40 mg / kg / day orally for 05 days and again pressure was measured postinduction blood was divided into 06 groups of 06 animals positive control group (L-NAME) and negative control (distilled water), experimental groups at doses of 50 mg / kg, 100 mg / kg, 200 mg / kg dry matter *Urtica aqueous magellanica* (nettle) Enalapril and a dose of 25 mg / kg. Treatment was for 30 days blood pressure measured every 5 days.

The study of the toxic effect was determined by the method of Lorke.

**Results:** The aqueous extract of *Urtica magellanica* dry hypotensive effect presented, where the percentage of blood pressures decreased average systolic and diastolic blood pressure of rats with induced hypertension were 51.20%, 49.76% and 49.44% respectively, with the dose of 50 mg / Kg, of 49.76%, 49.42% and 48.81% respectively at a dose of 100 mg / Kg, of 47.82%, 49.78% and 45.66% respectively at a dose of 200mg/kg dry aqueous extract of *Urtica magellanica* and these values are comparable with the effect obtained with Enalapril to a dose of 25 mg / Kg. The aqueous extract elevated serum nitric oxide and decreased serum levels of malondialdehyde. No toxic effects presented in the trial by the method of Lorke. **Conclusions:** It was shown that the aqueous extract of *Urtica magellanica* dry presents hypotensive effect.

## INTRODUCCION

Si bien es cierto que el conocimiento de la medicina tradicional es transmitido de generación en generación, carece de un sustento "científico" que permita establecer el uso adecuado de una determinada planta medicinal.

A través de la historia, la medicina tradicional en el Perú ha dependido en gran medida de las plantas medicinales. Los antiguos peruanos ya tenían un conocimiento empírico de sus propiedades, bondades y beneficios; sabían cómo utilizarlas. Hoy en día el interés ecológico ha ocasionado el incremento de la demanda regional, nacional e internacional por la medicina natural aumentando día a día su aceptación por todos los estratos sociales.

La infusión de los tallos y hojas de la planta *Urtica magellanica* (nombre vulgar: ortiga) es ampliamente utilizada en la medicina peruana por sus efectos antihipertensivos y diuréticos.

Este trabajo, intenta comprobar el efecto hipotensor de *Urtica magellanica* desde un nivel bioquímico; que nos brinde un aporte científico y ayude al correcto uso de dicha planta. Así mismo evaluar sus posibles efectos tóxicos durante la administración por vía oral en forma continua.

## CAPITULO I

### ASPECTOS GENERALES

#### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

##### 1.1 DESCRIPCION DEL PROBLEMA

La hipertensión arterial (HTA) afecta aproximadamente a 26.4% de la población adulta y entre 60% y 70% de las personas en la séptima década de la vida, (Staessen JA et al., 2005). En el Perú, se estima que más de 10 millones de personas presentan HTA (24.7% de la población adulta) (López PJ et al., 2009). La HTA es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y renales. Múltiples estudios epidemiológicos han mostrado que las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de mortalidad en la mayoría de los países del mundo, incluyendo a Perú (Kearney PM et al., 2007; López PJ, 2009).

La prevalencia de hipertensión arterial en el Perú es 23.7%, (V 27.1%, M 20.4%); en la costa 27.3% (V 31%, M 23.4%), en la sierra 20.4% (V 23.3%, M 17.6%), en la selva 22.7% (V 25.9%, M 19.5%), en las grandes alturas, ciudades a más de 3000 m.s.n.m. 22.1% (V 25.7%, M 18.5%). (MINSA, 2007).

Las ciudades de la sierra con mayor prevalencia son Huaraz con 26.7%, Puno con 25.6%, Chachapoyas con 23.7%, Arequipa y **Cusco** con 21.2%, la ciudad con menor prevalencia es Abancay con 12.4%. La prevalencia de la hipertensión arterial en la población general del Perú es de 23.7% con un predominio de hipertensión en varones de 13.4% sobre hipertensas mujeres de 10.3%. (Agusti C. Regulo, 2009).

La infusión de los tallos y las hojas de *Urtica magellanica* se utilizan ampliamente en la medicina tradicional peruana por sus efectos antihipertensivos y diuréticos (Colmenares AJ et al., 2008; Bernal HY et al., 1994). En el estudio de Comparación del efecto diurético de los extractos hidroalcoholico y acuoso de *Urtica magellanica* concluyeron que el extracto acuoso presenta mejor efecto diurético frente al extracto hidroalcoholico. (Arestegui I., Sanchez E., 2007).

Pese al amplio uso de la *Urtica magellanica* en el Perú, no se ha evaluado hasta la fecha el efecto de esta especie en la tensión arterial. Los análisis fitoquímicos realizados de la *Urtica magellanica* han informado que las hojas y tallos de la planta presentan una gran variedad de moléculas como flavonoides, aminoácidos libres, compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas, saponinas, taninos ( Arestegui I., Sanchez E., 2007).

La especie *Urtica magellanica* (familia: Urticaceae–nombre vulgar: ortiga) es nativa de Perú, donde crece en diversos lugares, ruderales, zonas próximas a la acción humana.

El presente estudio pretende evaluar el efecto de la administración de *Urtica magellanica* en un modelo de ratas hipertensas por administración crónica de L-NAME. (N

-nitro-L-arginina metilester). El L-NAME es un inhibidor irreversible de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) encargada de la producción de óxido nítrico en el endotelio a partir de la L-arginina. La inhibición de la NOS disminuye la producción de óxido nítrico (NO) ocasiona vasoconstricción, aumento de la liberación de renina e hipertensión arterial. (Pechanova O. et al., 2004).

### **1.1.1 FORMULACION DEL PROBLEMA**

¿Tendrá Efecto Hipotensor in vivo el extracto seco acuoso de las partes aéreas de *Urtica magellanica* (ortiga) en ratas hipertensas inducidas por L-NAME?

¿Presentará Toxicidad aguda en ratas el extracto seco acuoso de las partes aéreas de *Urtica magellanica*?

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 OBJETIVOS GENERALES**

Determinar el efecto Hipotensor del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga) en ratas hipertensas inducidas por L-NAME.

Determinar la toxicidad aguda del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga).

## 1.2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Realizar la recolección, selección, porcentaje de humedad, extracción y pruebas de solubilidad del extracto seco acuoso al 20% (p/v) de la especie vegetal *Urtica magellanica* (ortiga).
2. Realizar la identificación de los constituyentes químicos de la parte aérea seca de *Urtica magellanica* (ortiga).
3. Determinar la disminución de las presiones arteriales media, sistólica y diastólica de las ratas con hipertensión inducida de los diferentes niveles de tratamiento al finalizar el estudio.
4. Determinar el porcentaje de disminución de las presiones arteriales media, sistólica y diastólica de las ratas con hipertensión inducida de los diferentes niveles de tratamientos al finalizar el estudio.
5. Determinar el efecto hipotensor de *Urtica magellanica* comparándola con un patrón (Enalapril 10mg).
6. Determinar los niveles en suero de óxido nítrico en ratas con hipertensión inducida por L-NAME por espectrofotometría.
7. Determinar los niveles en suero de malondialdehído en ratas con hipertensión inducida por L-NAME por espectrofotometría.
8. Determinar, según las condiciones experimentales, las dosis efectiva para el tratamiento hipotensor del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga).

### 1.3 JUSTIFICACION E IMPORTANCIA

Los conocimientos transmitidos dentro de lo que denominamos medicina tradicional, han demostrado su eficacia a través de siglos, sin embargo, es necesario proporcionar un sustento por métodos de investigación actuales y determinar el efecto farmacológico de una droga. (Veloz del Reo, 2009)

Si bien la *Urtica magellanica* (ortiga) es una planta de gran uso popular en diversas zonas del Cusco, usado tradicionalmente como antiinflamatorio y diurético, no existen tantas referencias acerca de su empleo medicinal y tradicional como hipotensor. (Veloz del Reo, 2009)

Por ello es necesario desarrollar estudios farmacológicos orientados a la aplicación de modelos y metodología de investigación en farmacología experimental y clínica para el efecto hipotensor que permite corroborar los conocimientos populares de la especie en estudio.

La hipertensión arterial es uno de los factores de riesgo modificable de mayor prevalencia en el mundo. Participa en el desarrollo de la enfermedad arterioesclerótica cardiovascular, en la morbimortalidad por eventos cardiacos, insuficiencia renal y enfermedad vascular periférica, por lo que la expectativa de vida de estos pacientes se encuentra reducida. (Agusti C. Regulo, 2009).

Uno de los problemas muy frecuentes en nuestro país es la hipertensión arterial y es la causa más frecuente de muerte en las diferentes regiones del mundo, generando una alta demanda por medicamentos anti hipertensivos y muchas veces por el costo la población no accede a comprar estos medicamentos (MINSAs, 2007), con este trabajo pretendemos dar a conocer a la población una opción de tratamiento mucho más económica, pues la ortiga es una planta de fácil accesibilidad.

Los resultados de tratamiento farmacológico que reciben los hipertensos muestran que la gran mayoría (82.2%) usan inhibidores de la enzima convertidora, seguidos por los calcioantagonistas (12%) y luego los diuréticos. (Agusti C. Regulo, 2009).

Bajo estos conceptos nuestro estudio está encaminado a comprobar el efecto hipotensor atribuido a la ortiga, de esta manera dar una alternativa en el

tratamiento de la hipertensión arterial, que además de ser natural está al alcance de un gran número de nuestra población que aqueja esta enfermedad. Así mismo este trabajo pretende promover el uso de plantas medicinales que crecen en nuestro medio.

#### **1.4 HIPOTESIS**

El extracto seco Acuoso de la parte aérea de *Urtica magellanica* (ortiga) presenta efecto hipotensor in vivo en ratas hipertensas inducidas por L-NAME. El extracto seco Acuoso de la parte aérea de *Urtica magellanica* (ortiga) presenta Toxicidad aguda en ratas.

#### **1.5 LIMITACIONES**

No se encontraron antecedentes de investigaciones científicas in vivo que demuestren que la planta *Urtica magellanica* (ortiga) presente toxicidad.

## CAPITULO II

### MARCO TEORICO CONCEPTUAL

#### VISION HISTORICA

La ortiga posee gran cantidad de virtudes que el hombre le ha dado multitud de usos a lo largo de la historia, desde alimento hasta afrodisiaco, pasando por diversas aplicaciones medicinales, como fuente de pasta para fabricar papel, usos textiles, tintes. Todo el mundo la conoce, de ahí uno de sus nombres "hierba de los ciegos", pues hasta ellos la reconocen con solo rozarlas.

El médico y alquimista del siglo XVI, Paracelso, recomendaba recogerla cuando la Luna esta en Escorpio y llevarla encima para obtener valentía y audacia. Los antiguos griegos la utilizaban para tratar afecciones, la tos, artritis. (Zalles A. Jaime; 2001). La ortiga es una especie cuyas hojas eran ya citadas en los tratados medievales como remedio en los estados asociados a un déficit de la diuresis. (Navarro Moll, 2003).

Muchos autores consideran que esta planta es de dos caras, tiene una cara mala puesto que es una planta venenosa porque contiene unas sustancias que cuando penetran nuestra piel provocan una reacción nociva, y por otra parte, tiene una lado bueno que para muchos es desconocido, puesto que es una planta con varios usos.

En la Segunda guerra Mundial se usó para fabricar pasta de papel, como tinte para colorear telas y como fuente de fibras textiles para confeccionar cuerdas, redes, velas de barcos y ropas. Desde hace veinte años sus partes subterráneas (raíces y rizomas) son objeto de interés en el tratamiento de la hiperplasia benigna de próstata (HBP). La farmacopea alemana recomienda su empleo en el tratamiento de las dificultades de la micción asociadas a los estadios I y II de la hiperplasia benigna de próstata. También se usa en el tratamiento de úlceras gastroduodenales, diabetes, reumatismo, obesidad, hipertensión arterial, edemas, anemia por déficit vitamínico o minerales, convalecencia, raquitismo y hemorragias. (Zalles, 2001)

## **2.1 ANTECEDENTES:**

### **2.1.1 ANTECEDENTES ETNOFARMACOLOGICOS**

**Guía Moderna de Medicina Natural (Peru-2009):** Trastornos menstruales, de la piel, hemorragias, reumatismos, afecciones respiratorias. Diurética. Poner una o dos cucharadas de hierba en una taza de agua hervida. (INFUSION), Afirmar el cabello y para dolores reumáticos. (Veloz de Reto, 2009)

**Academia Mayor de la Lengua Quechua-Qheswua Simi Hamut`ana Kurak Suntur Diccionario Quechua-Español-Quechua (2007)**

Muy utilizada en fricciones, emplastos y en mate para parturientas. Se utiliza para la curación de la ciática o q'échu. (Academia Mayor de la Lengua Quechua, 2007)

**Martínez, Santiago, M. N. Chiguasuque, R. Casallas. Fiscagoscua. Manual Medico para la Comunidad Indígena Muisca de Bosa. Bogotá. Hospital Pablo VI Bosa. (2006)**

Tradicionalmente utilizada como diurético, es decir que aumenta levemente la cantidad de orina. Puede utilizarse cuando se presenta una micción muy concentrada u olorosa. (Martínez S.; 2006)

**Interhiper Medicina “Fitoterapia Vademécum de Prescripción de Plantas Medicinales” - 2003.**

Las hojas de la planta fresca son reconstituyentes, remineralizantes, diurética (favorece la eliminación de ácido úrico y urea), colagoga, hemostática, ligeramente hipotensora, hipoglucemiante. En uso externo rubefaciente, analgésica, astringente, úlceras gastrointestinales, diabetes. En uso tópico inflamaciones osteoarticulares dermatitis seborreicas, vulvovaginitis. (Interhiper Medicina, 2003).

## **2.1.2 ANTECEDENTES FITOQUIMICOS**

**Serrano Carlos. Composición Química de algunas Plantas Medicinales del Perú. – 2002.**

En el sur andino del Perú se utiliza para enfermedades de las vías respiratorias, postparto y reumatismo y como diurético a plantas de la familia Urticaceae. (Serrano C., 2002).

**Schahuemberg Paul. Guía de las Plantas Medicinales. - 1972.**

Menciona que la ortiga contiene un gran número de sustancias minerales como silicio, hierro, potasio, magnesio y cloro. También señala como componentes activos de la planta, concentraciones variables de vitamina C y vitamina A. (Schahuemberg Paul, 1972)

## **2.1.3 ANTECEDENTES FARMACOLOGICOS**

**Condorhuamán Figueroa Yovani Martin. Efecto Hipotensor del Extracto Acuoso de *Calceolaria myriophylla Kraenz* en ratas Hipertensas Inducidas por L-NAME. UNMSM – 2009.**

Se realizó un estudio experimental para evaluar el posible efecto hipotensor, diurético y tóxico del extracto acuoso de *Calceolaria myriophylla Kraenz* (zapatilla). En el Método se utilizó ratas albinas machos de raza Holtzman para la determinación de los efectos, a quienes después de una semana de adaptación se les midió la presión arterial basal sistólica, diastólica y media. Para la determinación del efecto hipotensor se realizó la inducción con la administración de N-Nitro-L-Arginina Metil Ester (L-NAME) a dosis de 40 mg/kg/día por vía oral durante 05 días y nuevamente se les midió la presión arterial postinducción, se dividió en 06 grupos de 08 animales; grupo control positivo (L-NAME) y control negativo (agua destilada), grupos experimentales a dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg y enalapril a dosis de 25 mg/kg. El tratamiento fue durante 30 días midiéndose la presión arterial cada 5 días. El extracto acuoso de *Calceolaria Myriophylla kraenz* (zapatilla) presentó efecto hipotensor sobre la presión arterial sistólica, diastólica y media en ratas hipertensas inducidas por L-NAME. El extracto acuoso de *Calceolaria*

*Myriophylla kraenz* (zapatilla) evidenció efecto diurético en ratas normotensas. El extracto acuoso de *Calceolaria Myriophylla kraenz* (zapatilla) incrementó los niveles séricos de óxido nítrico y disminuyó los niveles séricos de malondialdehído. El extracto acuoso de *Calceolaria Myriophylla kraenz* (zapatilla) no ha inducido efecto tóxico a nivel hematológico, bioquímico y anatomopatológico. (Condorhuaman F., 2009)

**Huaranca Urquizo Efren Elaboración de Liposomas del Extracto Seco de *Urtica urens Linneo* “ortiga” y Evaluación de su Efecto Hipoglucemiante en Diabetes experimental inducida en ratas. UNSAAC – 2009.**

De las investigaciones efectuadas y del análisis de los resultados, se concluye que los liposomas elaborados del extracto seco etanólico de *Urtica urens* “ortiga” tienen efecto hipoglucemiante en diabetes experimental inducida con aloxano en ratas albinas machos de la cepa *Holtzman*. (Huaranca E., 2009)

**Terapia Natural, Plantas Medicinales. Martorell y Matas Barcelona. - 2009.**

La ortiga es antiarterioesclerótica; la riqueza de clorofila de la ortiga activa y mejora la circulación sanguínea. La ortiga es antianémica; el hierro se puede incorporar ingiriendo ortigas, puesto que tienen un contenido alto de clorofila que estimulan la formación de los glóbulos rojos, contiene calcio, hierro, silicio, cloro, cobre, zing, magnesio y níquel y vitamina B5, B2, B1, C, E y K. La ortiga es diurética; esta es quizá la propiedad más destacadas y más utilizadas en la medicina natural, ser una planta diurética quiere decir que tiene la propiedad de facilitar la producción de orina. Se hizo un estudio clínico a 152 pacientes con problemas reumáticos los cuales se les administro 1.54gr. Diarios de zumo de ortiga al cabo de tres semanas el 70% de los pacientes reconocía un alivio notable de los dolores. Se cree que el ácido fórmico sería responsable de tal efecto. La ortiga es idónea para el tratamiento de las úlceras gástricas puesto que en sus semillas contiene ácido linoleico, el cual es precursor de las prostaglandinas, hormonas que bloquean la producción del jugo gástrico. (Martorell y Matas, 2009)

**Arroyo Jorge, Raez Ernesto, Rodriguez Miguel, Chumpitaz Victor, Burga Jonny, De la Cruz Walter, Valencia Jose, Actividad Antihipertensiva y**

**Antioxidante de extracto hidroalcohólico atomizado del maíz morado (*Zea mays L*) en ratas. Facultad de Medicina, UNMSM Lima – Perú - 2008.**

Se plantearon como objetivo general el determinar la actividad antihipertensiva y antioxidante del extracto hidroalcohólico atomizado de *Zea mays L* (maíz morado) en ratas con hipertensión arterial inducida.

Los resultados de su estudio mencionan que la reducción de la presión arterial fue dosis dependiente, observándose un mayor efecto con 1000mg/Kg, obteniéndose en promedio una disminución de 20.1% de la PAM ( $p < 0.01$ ), 20.7% de la PAS ( $p < 0.01$ ) y 15.7% de la PAD ( $p < 0.01$ ) en relación con el grupo control positivo en el día 25 y se encontró una reducción de 53.3% en los niveles de malondialdehído sólo en la dosis de 500mg/Kg. También mencionan que este fenómeno está directamente relacionado con los flavonoides presentes en el maíz morado dado que ha sido demostrado en estudios previos pero con extractos de otras plantas. (Arroyo J., et al, 2008)

**Arestegui, Sanchez, Comparación del Efecto Diurético de los Extractos Hidroalcoholico y Acuoso de la Ortiga. UNSAAC – 2007.**

Se realizó un estudio comparativo con diseño experimental con el objetivo de evaluar y comparar el posible efecto diurético de dos extractos uno acuoso y otro etanólico usando como fármaco patrón a la furosemida. Donde se determinó que la excreción volumétrica urinaria (EVU%) producido por el extracto hidroalcoholico seco al 70% con el extracto acuoso al 20% (P/V) se demostró que el extracto acuoso al 20% (P/V) produce un EVU% semejante al EVU % de la furosemida. (Arestegui I., Sancuez E.; 2007)

**Navarro Moll, M. Concepción Actualidad en Farmacología y Terapéutica. - 2006.**

Menciona el uso interno de las hojas en infusión y zumo como: antihipertensivo, antilitiásico y antiulceroso. Uso externo: estado seborreico de la piel y cuero cabelludo. (Navarro Moll, 2006)

**Ramírez Jorge, M.D., MSc., Mauricio Palacios, M.D, MSc., Oscar Gutiérrez, M.D., M.Sc. Estudio del efecto antihipertensivo de la *Salvia scutellarioides* en un modelo de ratas hipertensas. – 2006.**

La administración de *S. scutellarioides* 2 g/kg produjo una reducción estadísticamente significativa en la tensión arterial media (TAM) y tensión arterial diastólica (TAD) en comparación con el grupo que recibió L-NAME y solución salina. La reducción producida por *S. scutellarioides* en la TAM y TAD es comparable con el grupo que recibió enalapril 25 mg/kg. La disminución en la TAM y TAD se obtuvo durante la semana 1 ( $p < 0.001$ ), en la semana 2 ( $p < 0.01$ ) y en la semana 4 ( $p < 0.05$ ) de tratamiento. La administración de *S. scutellarioides* 1 g/kg no tuvo efecto en la tensión arterial. El estudio corrobora la aparente actividad antihipertensiva informada por practicantes de la medicina tradicional de *S. scutellarioides*. Se requieren más estudios para determinar el perfil farmacológico y la toxicidad de la planta. (Ramírez J. et al., 2006)

**Rojas Juan, Ronceros Sergio, Palomino Robert, Tomas Gloria, Chenguayen Julio. Efecto Antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de la hojas de *Pasiflora edulis* (maracuyá), en ratas. Facultad de Medicina de la UNMSM Lima-Perú. - 2006.**

Como objetivo los autores se plantearon determinar el efecto antihipertensivo y la dosis letal (DL) 50 del jugo del fruto y el extracto etanólico de las hojas de *Pasiflora edulis* en ratas.

Como resultados mencionan que el tratamiento con 500mg/Kg/día de extracto etanólico y 500 mg/Kg/día del jugo del fruto de maracuyá disminuyeron la presión arterial sistólica (PAS) desde el primer día de tratamiento:  $157.2 \pm 1.7$  mmHg del grupo L-NAME ( $p < 0.005$  y  $p < 0.001$ ), hasta el día 10 de tratamiento que fue de  $154.3 \pm 2.4$  mmHg vs  $179.7 \pm 1.6$  mmHg del grupo L-NAME ( $p < 0.001$ ).

También menciona que es posible que los metabolitos secundarios presentes en la hojas y el jugo de *Pasiflora edulis* (maracuyá), principalmente flavonoides y eugenol, sean los responsables y expliquen en parte la actividad antihipertensiva. (Rojas Juan, et al; 2006).

**Zarzuelo A., Duarte J., Gonzales M., Utrilla M. P. Vasodilator Effect of Olive Leaf. Department of Pharmacology, University of Granada. Granada – Spain. - 2006.**

Como objetivo los autores se plantearon estudiar la importancia del musculo liso del endotelio vascular en la acción vasodilatadora de la decocción de hojas de olivo (*Olea europea*).

Como resultados indican que la decocción de hojas de olivo (*Olea europea*) causo relajación en preparados de aorta aislada de rata, tanto con la presencia ( $IC_{50} 1.12 \pm 0.33$  mg/ml) como en ausencia ( $IC_{50} 1.67 \pm 0.16$  mg/ml) del endotelio. Mencionan que sus resultados indican que la actividad vasorrelajante de la decocción liofilizada es dependiente de la integridad del endotelio vascular, además que demostraron que el oleuropeosido es un componente responsable de la actividad vasodilatadora pero, probablemente exista al menos otro principio activo en las hojas de olivo (*Olea europea*) que potencialicen el efecto relajante del oleuropeosido. (Zarzuelo A. et al, 2006)

**Duerte Susana “Guía Familiar de Remedios Caseros Naturales” (2005).**

Menciona que nutricionalmente es de gran importancia por su riqueza en sales minerales y vitaminas. Tiene propiedades diuréticas (favorece la orina), hipoglucemiantes (disminuye la cantidad de glucosa en sangre), hemostática (contra la hemoptisis y toda clase de hemorragias) y colagoga (facilita la eliminación de la bilis). (Duerte S., 2005)

**Nostrola D. Vaziri, Ni Zhenmin, Oveisi Fariba, Tmavsky-Hobbs Debra L. Effect of Antioxidant Therapy on Blood Pressure and ON Synthase Expression in Hypertensive Rats. From the Division of Nephrology, Department of Medicine, University of California – USA. - 2000.**

Los autores se plantearon como objetivo determinar el efecto que tiene la terapia antioxidante sobre la Presión Arterial y la expresión del Óxido Nítrico Sintetasa en ratas hipertensas. En su metodología menciona que trataron 2 grupos de ratas Wistar kyoto con hipertensión espontanea de 8 semanas de nacidas con una especie placebo oxigeno reactiva y con el potente agente

antioxidante lazaroides 10mg/Kg/día VO durante tres semanas. Durante el tratamiento la presión de la rata fue medida en la cola de la rata, en la orina metabolitos de ON e isotipos de Óxido Nítrico Sintasa (NOS) en el tejido cerebral, cardiaco, renal y vascular.

Como resultados mencionan que el grupo con tratamiento de especie oxígeno reactiva mantuvo la marcada elevación de la presión arterial y un significativo incremento de la expresión de la enzima NOS en la aorta, riñón, tejido cardiaco, endotelial y tejido neuronal. Sin embargo el tratamiento con lazaroides aminoro la presión arterial y mitigo la expresión de NOS (isotipos eNOS y iNOS) en los tejidos vascular, renal y cardiaco, pero tuvo limitado efecto en la expresión de NOS en el tejido neuronal en cerebro y riñón. Por lo tanto se explica el rol del stress oxidativo en el origen y/o mantenimiento de la hipertensión y compensación de este fenómeno con el incremento de la expresión de iNOS y eNOS y con el tratamiento con sustancias antioxidantes. (Nostrola D. Vaziri, et al; 2000).

**Kerr Susanne, Brosnan M. Julia, Mcinyre Mertin, Reid John L., Dominiczack Anna F., Hamilton Carlene A. Superoxide Anion Production is Increased in a Model of Genetic Hypertension – Role of the Endothelium. From the Department of Medicine and Therapeutics, Western Infirmary, Glasgow, UK. 1999.**

Los autores se plantearon como objetivo evaluar la generación del radical superóxido ( $O_2^-$ ) en un grupo de ratas (machos y hembras) con hipertensión espontánea (HTE) en comparación de otro grupo de ratas (machos y hembras) Wistar-kyoto normotensas (NT) y determinar en qué grado el endotelio vascular está implicado en este fenómeno.

En sus resultados mencionan que la generación del radical superóxido ( $O_2^-$ ) fue mayor en ratas con HTE en comparación con NT y significativamente mayor en machos que en hembras en ambos grupos.

Paralelamente investigaron la expresión del gen que codifica la NOS endotelial encontrando que la remoción del endotelio vascular o la adición de inhibidores del NOS (L-NAME) atenuaban la generación del radical superóxido ( $O_2^-$ ) en

ratas HTE y no así en NT (tanto en machos como en hembras). Sin embargo la adición L-arginina (precursor del NO) no tuvo efecto significativo en la disminución del radical superóxido. Además añaden que la expresión de la enzima eNOS fue significativamente mayor en ratas HTE que en NT y mayor en machos que en hembras para ambos grupos.

Concluyeron que la fuente del exceso del radical superóxido en ratas HTE parece ser el endotelio y la enzima eNOS explicado por el descenso en la disponibilidad de NO. (Kerr Susanne, et al; 1999)

**Andriambelason Emile, Wagnier Celine, Haan-Archipoff Gisele, Lobstein Annelise, Anton Robert, Beretz Alain, Jean Claude Stoclet, Andriantsitohaina Ramaroson. Natural Dietary Polyphenolics Compounds Cause Endothelium Dependent Vasorelaxation in Rat Thoracic Aorta. Celular Pharmacology and Phsyiopatology Laboratory of Louis Pasteur University. Strasbourg – France 1998.**

Los autores se plantearon como objetivo evaluar la posible actividad vasorrelajadora dependiente de NO por el vino rojo y otros componentes polifenólicos frecuentes en plantas mediante la exposición de anillos aórticos de ratas wistar (12-14 semanas de nacidos) a estas sustancias.

Mencionan que se aislaron 10 diferentes fracciones cromatograficas de compuestos polifenoles definidos.

Los resultados indican que las fracciones enriquecidas con antocianinas y/o taninos oligomericos condensados exhibieron actividad vasorrelajante endotelio dependiente comparable con el vino rojo puro. Además de los más representativos compuestos fenólicos los que no presentaron el tipo de respuesta del vino rojo fueron acido benzoico, acido vinílico, ácido gálico, acido p-cumarinico, ácido cafeico y el flavanol. Entre las antocianinas, la delfinina presenta el mayor porcentaje de relajación. Estos compuestos pueden estar involucrados en la reducción de la mortalidad vascular relacionados con la presencia de vino, frutas y vegetales en la dieta. (Andriambelason Emile, et al; 1998)

**Moscoso M. Secretos Medicinales De La Flora Peruana Y Guía De La Maternidad 4ª ED. PERU-1997.**

La ortiga es hemostática; es decir tiene la propiedad de detener las hemorragias, se utiliza para combatir la metrorragia, hemorragia del útero fuera de la menstruación, dismenorrea, menstruación difícil y dolorosa, los trastornos de la menopausia y la hemoptisis. (Moscoso M., 1997). La ortiga estimula el aparato digestivo; hace trabajar el páncreas, el estómago y la vesícula biliar, esto que mejora un buen funcionamiento general del aparato digestivo, la ortiga favorece la digestión gracias a la histamina que contiene en sus pelos urticantes. La histamina tiene la capacidad de aumentar las secreciones del juego gástrico, aumentando así las enzimas y el ácido clorhídrico; así también favorece los movimientos peristálticos puesto que provoca la contracción de los músculos. La ortiga es un astringente; debido a la riqueza en taninos, especialmente en la raíz, son adecuadas para el tratamiento de la diarrea puesto que estas sustancias tienen la capacidad de transformar las proteínas en productos resistentes a la descomposición. La ortiga tratamiento para la ictericia; ayuda a la recuperación del hígado en caso de enfermedad hepática, ya que contiene ácido linoleico y oleico que favorece la secreción de la bilis y porque contiene azufre que garantiza un buen funcionamiento del hígado. (Moscoso M., 1997)

## ESTADO DE LA CUESTION

La hipertensión arterial es uno de los factores de riesgo modificable de mayor prevalencia en el mundo. Participa en el desarrollo de la enfermedad aterosclerótica cardiovascular, en la morbimortalidad por patologías cardíacas, cerebrovasculares, insuficiencia renal y enfermedad vascular periférica. La epidemiología de la hipertensión arterial en el Perú ha sido preocupación permanente de los investigadores peruanos, los que han realizado múltiples estudios en las distintas ciudades del país, con resultados variados, diferentes e inconsistentes, por haberse realizado en lugares y en grupos poblacionales distintos, aplicando metodología y criterios de definición diversos. La hipertensión arterial disminuye la calidad de vida y la supervivencia de la población, por lo que es un reto importante para la salud pública. Para un tratamiento adecuado, es necesario que la población tenga accesibilidad al tratamiento y para esto debe estar al alcance económico de todos, lo que permitirá mejorar la calidad de vida de la población que padece de esta enfermedad. Hasta la fecha se han hecho estudios de prevalencia, tratamiento y control de la hipertensión arterial en la población, que responsabiliza a los organismos de Salud del estado; estos organismos acentúan en el tratamiento y prevención de dicha enfermedad enfatizando en el uso de medicamentos, y como sabemos estos no son muy al alcance de todos los estatus sociales (regulo A., 2010); a raíz de esto damos una nueva alternativa para el tratamiento de la hipertensión dando una explicación científica al uso de la *Urtica magellanica* (ortiga), como hipotensor; y así mismo realizar un estudio comparativo con un patrón en este caso el Enalapril, usado en el mercado farmacéutico para el tratamiento de la hipertensión. Verificando tal efecto por las concentraciones que se hallaran de óxido nítrico y malondialdehído (MDA) y además se hará una evaluación de la toxicidad que el extracto de dicha planta podría producir.

La especie botánica *Urtica magellanica*, tiene diversos efectos farmacológicos que están ampliamente estudiados como los efectos antidiarreico, hemostático, diurético etc., además dicha especie recientemente ha sido utilizada en el tratamiento del carcinoma de próstata. (Alonso, 2007)

## 2.2 BASES TEORICO – CIENTIFICAS

### 2.2.1. ASPECTOS BOTANICOS DE LA ESPECIE EN ESTUDIO

#### 2.2.1.1. CLASIFICACION TAXONOMICA

Reino: Vegetal

División: Angiospermae

Clase: Rosidae (rósidas)

Orden: Rosales

Familia: Urticaceae

Género: *Urtica*



Fuente: Moscoso T. 2002

El gráfico muestra la apariencia de la planta en estudio.

## 2.2.1.2. SINONIMIA DEL NOMBRE COMUN DE LA ESPECIE VEGETAL

**Nombre Científico:** *Urtica magellanica*

**Nombre Común:** Ortiga, quisa, Kisa, madre kisa, atapallo. (Alonso, 2007)

## 2.2.1.3. CARACTERISTICAS BOTANICAS

- **ORIGEN Y OTROS ASPECTOS**

La ortiga es cosmopolita, crece en regiones altas, desde el Japón hasta los andes especialmente si el suelo tiene una buena cantidad de compuestos nitrogenados, es una planta herbácea perenne, hasta 1.5m de altura; Planta dioica herbácea, erecta. (Alonso, 2007).

- **HABITAT**

Distribuida por todo el mundo; crece preferentemente en terrenos baldíos estercoleros y suelos húmedos. (Alonso, 2007).

- **HOJAS:**

Opuestas, ovaladas, de borde dentado, color intensamente verde, las hojas inferiores son más grandes que las superiores. Posee hojas de más de 5cm de largo (Alonso, 2007)

- **TALLO**

Es recto cuadrangular, frecuentemente presenta muchas ramas desde la base, cubiertos de pelos urticantes. (Alonso, 2007)

- **FLORES**

Minúsculas y poco vistosas, las masculinas en inflorescencias complejas y colgantes originadas en las axilas foliares; las femeninas en grupos reducidos. (Alonso, 2007)

- **INFLORESCENCIAS**

Brotan de las axilas de las hojas que se encuentran en la parte superior de los tallos. (Alonso, 2007)

- **FRUTOS**

Son aquenios (Mostacero, Mejía, 1993)

- **SEMILLAS**

Con embrión recto y endosperma oleoso (Mostacero, Mejía, 1993).

Toda la planta está recubierta de unos pelitos urticantes, los cuales, al rozarlos con la piel producen unas pequeñas vesículas por efecto de las sustancias que contiene, creando una fuerte sensación de escozor o quemazón.

#### **2.2.1.4. USOS MEDICINALES POPULARES**

- **Hojas:** trastornos menstruales, de la piel, hemorragias, reumatismos, afecciones respiratorias, diurética. Poner una o dos cucharadas de hierba en una taza de agua hervida. Dejar reposar 10 minutos. Beber una taza en la mañana y otra en la noche durante varias semanas.(Regulo A.,2010)
- **Tintura:** (Para afirmar el cabello y para dolores reumáticos). Dejar remojando dos puñados grandes de la planta seca en un litro de alcohol de 90°. Al cabo de una semana, filtrar y hacer fricciones sobre el cabello o la zona adolorida.(Regulo A.,2010)
- **Zumo:** (Afecciones a la piel). Machacar bien la planta fresca y pasarla por un paño para extraer el jugo. Beber una cucharada dos o tres veces al día durante varias semanas. También se puede aplicar directamente en la piel para calmar irritaciones alérgicas.(Regulo A.,2010)
- **Planta Fresca:** (Para el reumatismo y como tónico general). Con la planta fresca recién cortada, se frotan aquellas partes del cuerpo que están adoloridas.(Regulo A.,2010)
- **Ensalada:** (Contra la anemia y como alimento). Preparar, fresca, sazonando con aceite y sal. (Una vez cortada la planta y sazonada no produce la irritación, menos aún si está cocida levemente).(Regulo A.,2010)

#### **2.2.1.5. ACCIONES FARMACOLOGICAS**

Acción diurética, colagoga, antitóxica, (sobre todo en el consumo de moluscos), antihemorrágica, astringente, antireumatica, gotosa, galactogena e hipoglucemiante; la histamina, la acetilcolina y los taninos, flavonoides son los responsable de dichas acciones. (Luna A., 2008).

### 2.2.1.6. COMPOSICIÓN QUIMICA

<b>Hojas, planta fresca</b>	Clorofila a y b, Carotenoides (beta-caroteno), Flavonoides, Sales minerales (hierro, calcio sílice, azufre, potasio, manganeso), Ácidos orgánicos (caféico, clorogénico, gálico, fórmico, acético), Provitamina A, Mucílagos, Escopoletósido, Sitosterol.
<b>En los tricomas (pelos urticantes)</b>	Acetilcolina, Histamina, Serotonina.
<b>Raíces</b>	Taninos, Fitosteroles, Ceramidas, Fenilpropanos, Lignanás, Polifenoles, Monoterpendioles, Aglutinina, Polisacáridos, Escopoletósido.
<b>Semillas</b>	Mucílagos, Proteínas, Aceite: ácido linoléico, Tocoferoles, Mucílagos.

(Blumenthal M., Goldberg A., 2009)

### 2.2.1.7. ASPECTOS FITOQUIMICOS

Un gran porcentaje de los principios activos de las plantas, estas comprendido dentro de los llamados productos naturales o metabólicos secundarios que son compuestos químicos de estructura relativamente compleja, de distribución, más restringida y más característica de fuentes botánicas específicas que los llamados metabólicos secundarios, podemos decir que no son indispensables en las plantas que ocurren; no intervienen; son considerados artículos de lujo en la planta. (Regulo A., 2010)

Una serie de métodos han sido desarrollados y aplicados para una detección preliminar de los constituyentes químicos existentes en las plantas, basados en la extracción de estos con solventes apropiados y en la aplicación de pruebas de coloración.

## **COMPUESTOS FENOLICOS**

Los compuestos fenólicos se refieren a un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, y que ocurren frecuentemente como glicósidos y combinados con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua. Los compuestos fenólicos más importantes son los flavonoides, taninos, cumarinas y quinonas. (Lock de U., 2008)

### **FLAVONOIDES:**

Se conocen como diez clases de flavonoides, todos contienen 15 átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema C6-C3-C6, en el cual, dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. (Lock de U., 2008)

Como características generales de estos compuestos debemos señalar su solubilidad en agua y en etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro. Las flavonas existen en los vegetales al estado de glicósidos, que por hidrólisis se desdobla en materias colorantes flavónicas y en azúcares. Estos glicósidos flavónicos tienen importancia farmacológica por mantener en condiciones normales las paredes de los pequeños vasos sanguíneos, evitando la permeabilidad y fragilidad capilar. (Pahlow M., 2005)

Los flavonoides se emplearon durante mucho tiempo como colorantes de lana, y actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxi flavonas. La acción farmacológica es también extensa y variada, son bien conocidas sus actividades contra la fragilidad capilar (bioflavonoides del género citrus: rutina y derivados), dilatadores de las coronarias (proantocianidinas de crataegus, árnica y ginkgo), espasmolítica (glicósidos de apigenina), antihepatotóxica (silimarina de silybum). Destaquemos así mismo la actividad antimicrobiana de flavonoides prenilados y otros fenoles y la acción fungitóxica de isoflavonas, como las de algunas especies de lupinos. (Lock de U., 2008)

Es difícil caracterizar la acción de las plantas que contienen flavonoides, pues es decisivo el tipo y la calidad de ellos mismos. Las propiedades

físicas y químicas son muy variables por lo que no se puede dar una idea general sobre el efecto que causan. Sin embargo hay tres acciones características : acción sobre la rotura anormal de los capilares (fragilidad de los bazo sanguíneos más delgados), acción en determinados trastornos cardiacos y circulatorios, y acción antiespasmódica en el tracto digestivo. (Pahlow M., 2005)

### **TANINOS:**

Son sustancias polifenólicas naturales de origen vegetal que tienen la propiedad de curtir la piel transformándose en cuero y de dar con las sales de fierro coloraciones azul oscuro, negros o verdes. (Lock de U., 2008)

Compuestos fenólicos hidrosolubles que tienen un peso molecular comprendido entre 500 y 3000, que presentan , junto a las reacciones clásicas de los fenoles, la propiedad de precipitar alcaloides , gelatina y otras proteínas.(Brunneton J., 1991)

Los taninos se usan en medicina principalmente por sus propiedades astringentes que son debidas al hecho de que una combinación química con la albumina de los tejidos, forman compuestos insolubles produciéndose una constricción de los mismos, disminuyendo la actividad circulatorio local.

Por esta acción farmacológica se usa en terapéutica como anti diarreica y anti hemorragia (acción local) por coagular la sangre , antibacteriana , porque la piel curtida es más resistente al desarrollo de gérmenes patógenos ; y finalmente tiene una débil acción anestésica por coagular proteínas de las terminaciones nerviosas. (Lock de U., 2008)

Por vía externa impermeabilizan las capas más externas de la piel y mucosas protegiendo así las capas subyacentes; a esto hay que añadir un efecto vasoconstrictor sobre los pequeños vasos superficiales. Además los taninos son hemostáticos y, como precipitan los alcaloides pueden servir de antídoto en caso de intoxicación. (Brunneton J., 1991)

Los taninos en sentido farmacéutico son componentes vegetales están en condiciones de ligar las proteínas de la piel y de la mucosa y transformarlas en sustancias insolubles resistentes. (Pahlow M., 2005)

## **QUINONAS:**

Las quinonas son dicetonas insaturadas, que por reducción se convierte en polifenoles, los que fácilmente las regeneran por oxidación. Por sus colores: amarillo a violeta, contribuyen a la pigmentación de numerosos vegetales y de algunos animales.

Las cualidades tintóreas y purgantes de algunas plantas se deben a sus quinonas. (Domínguez X., 1999)

Tienen acción purgante, esta catártica es debida principalmente a las hidroximetil antraquinonas en estado libre. La acción farmacológica purgante de estos compuestos antracénicos es debida a los grupos hidroxifenólicos; las antraquinonas libres tienen menor acción en los glicosidos.

El empleo de las drogas antraquinónicas es específico para combatir el estreñimiento crónico. (Lock de U., 2008)

## **SAPONINAS TRITERPENOIDALES Y ESTEROIDALES**

Ambos son glicosidos: triterpenos y esteroides, dan soluciones jabonosas de algunos extractos crudos de plantas han encontrados uso como detergentes, y para la producción de espumas estables. Ellos causan hemólisis de la sangre aun en soluciones muy diluidas. (Lock de U., 2008)

Se utilizan como producto mucolítico para el caso de las toses crónicas. Debido a la actividad superficial saponina el mucus denso se aclara y resulta más sencilla su expectoración. Mediante una ligera acción irritativa sobre las mucosas gástricas se produce por una vía refleja un aumento de la secreción de todas las glándulas lo cual refleja muy favorablemente en los bronquios.

Muchas plantas medicinales con saponina poseen también efecto diurético. Son así mismo eficaces contra las impurezas cutáneas y las dolencias reumáticas, muchas de estas especies curan los edemas y actúan como antiinflamatorias. (Pahlow M., 2005)

Las saponinas triterpenoidales son ácidas, cuyos aglicones o sapogeninas derivan de núcleos pentacíclicos que se incluyen en el grupo de los triterpenoides. (Lock de U., 2008)

Las saponinas del grupo triterpeno se encuentran extensamente distribuidas, y constituyen la mayoría de las saponinas encontradas en la naturaleza; una

gran variedad de ellas difieren únicamente en el número de tipo de unidades de azúcar unidas a las saponinas; generalmente pertenecen al grupo de la betaamirina otras pocas son derivadas de la alfaamirina, del lupeol y del grupo de triterpenos tetraciclicos. (Lock de U., 2008)

Las saponinas esteroides son saponinas neutras y cuyos aglucones o geninas derivan del ciclopentanoperhidrofentreno. Las saponinas esteroidales son materia inicial para la preparación de varios productos muy potentes y ampliamente usados como productos farmacéuticos, entre ellos, cortisona, anticonceptivos, estrógenos, testosterona, etc. (Pahlow M., 2005)

## **2.3 ASPECTOS ANATOMOFISIOLOGICOS**

### **2.3.1. ANATOMIA Y FISIOLOGIA DEL SISTEMA VASCULAR**

La pared vascular es un órgano activo, flexible e integrado con componentes celulares, como las células endoteliales, musculares lisas y fibroblastos, y componentes no celulares, como la matriz extracelular. En forma dinámica estos componentes modifican su forma, aumentan, disminuyen o se reorganizan, en respuesta a estímulos fisiológicos y patológicos, manteniendo así la integridad del vaso en condiciones fisiológicas o participando en la alteración vascular que aparece en enfermedades como la hipertensión y la aterosclerosis. (Risler, 2002)

**ENDOTELIO.** Comprende una monocapa de células polarizadas con regiones de la superficie celular especializadas para proveer al vaso sanguíneo con una capa de revestimiento no trombogénica formada por células que contactan entre sí y que en la superficie basal contactan con la membrana basal subyacente.

**CAPA MEDIA.** Contiene células musculares lisas (CMLV), en forma de huso, que forman una capa alrededor de la circunferencia del vaso. Las CMLV individuales están recubiertas por una capa de membrana basal y, dentro de la capa media, están encastradas y conectadas a una red o malla de matriz extracelular (MEC).

**MATRIZ EXTRACELULAR.** Es el soporte estructural y funcional al cual se adhieren las células y sobre el cual proliferan, migran y se diferencian. La MEC vascular está compuesta de una serie de sustancias, como elastina, colágeno y proteoglicanos, y se comporta como un sistema biológicamente activo, siendo necesario un balance adecuado de sus componentes para el funcionamiento normal de la vasculatura.

**ADVENTICIA.** Últimamente han surgido evidencias que permiten atribuir a la adventicia un papel potencial en la regulación de la función del óxido nítrico y en la fisiología vascular. (Risler, 2002)

Todos estos componentes de la pared vascular han adquirido importancia como protagonistas de los cambios que sufren los vasos en las diversas patologías y han dejado de ser considerados simples estructuras constituyentes de la pared vascular a medida que se ha ido conociendo su capacidad de producir sustancias o responder a ellas.

### **¿QUE SUCEDE EN LA HIPERTENSION ARTERIAL?**

La resistencia vascular periférica (RP) aumentada es el mecanismo patogénico fundamental de la hipertensión arterial (HA) esencial. En los últimos años han aumentado considerablemente nuestros conocimientos sobre los mecanismos que explican ese aumento de RP, a medida que se ha conocido más sobre la estructura y la función de los diferentes segmentos.

Los vasos de resistencia, o sea las pequeñas arterias, son las que controlan la mayor parte de la resistencia vascular al flujo sanguíneo. Las anomalías de las arterias de resistencia pueden jugar un papel en la patogenia y en la fisiopatología de la HA, tanto en humanos como en animales de experimentación. Está claro que en la HA hay cambios vasculares y estas alteraciones aseguran que no haya una sobreperfusión tisular aunque, al mismo tiempo, contribuyen a la elevación de la presión arterial. Por lo tanto se puede considerar que el protagonista en la HA es el vaso arterial. (Risler, 2002)

### **2.3.2 ETIOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

La hipertensión arterial (HTA) es una enfermedad en donde el 90 y 95 % de los hipertensos diagnosticados están dentro del concepto de hipertensión arterial primaria o esencial, de manera que un porcentaje reducido, 5 a 10 % corresponde a hipertensión secundaria, es decir, aquellos casos cuya elevación la presión arterial está dada por otra enfermedad o condición bien definida. (Pérez et. al., 2008).

La hipertensión es de origen multifactorial, la resistencia vascular periférica aumentada es el mecanismo patogénico fundamental de la HTA esencial, está claro que en la hipertensión hay cambios vasculares y estas alteraciones aseguran que no haya una hiperperfusión tisular aunque, al mismo tiempo, contribuyen a la elevación de la presión arterial (35). El hallazgo tiende a aparecer con carácter familiar más que individual y es representativo de una colección de enfermedades o síndromes. (Pérez et al., 2008).

### **2.4 FISIOLÓGÍA DE LA PRESIÓN ARTERIAL**

La presión sanguínea es el producto del gasto cardiaco y la resistencia vascular periférica que ejerce la sangre sobre las paredes de los vasos sanguíneos cuando es impulsada por el corazón (Ganong et al., 1998). El mantenimiento de la presión arterial normal se debe a un sistema de control complejo y multifactorial, que involucra en forma integrada, al sistema nervioso central y periférico autónomo, al corazón, al riñón, a la glándula suprarrenal y al propio vaso sanguíneo entre otros de tal manera que las anormalidades de la presión arterial ocurren por una alteración funcional de la integración de múltiples vías (Rondón et. al., 2002)

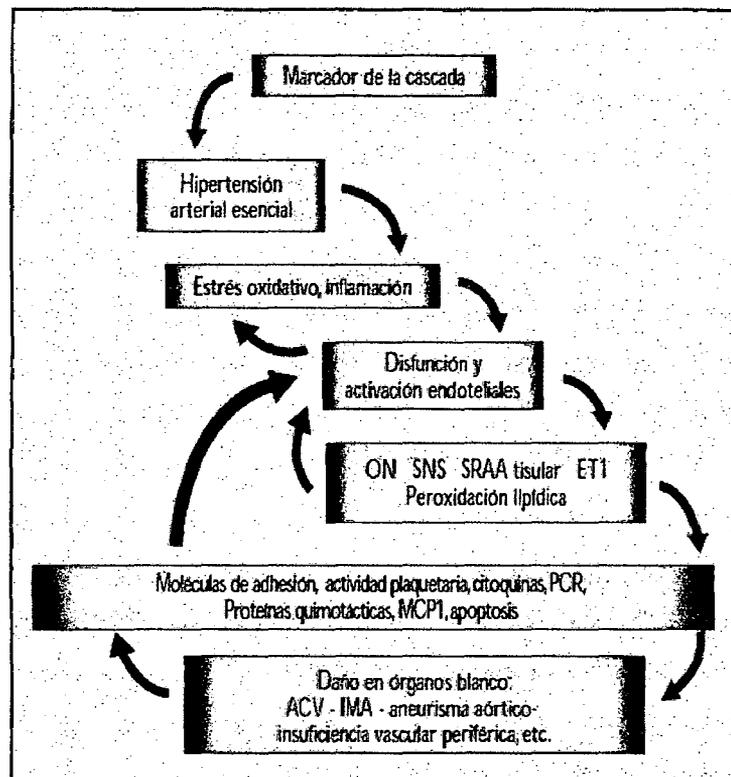
#### **2.4.1 FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

El sistema circulatorio humano es una intrincada red de mecanismos destinados a mantener la homeostasis de presión y flujo pese a numerosas perturbaciones. Por tanto, una elevación constante de la presión arterial refleja un trastorno en las delicadas interrelaciones de los factores que mantienen este equilibrio. La hipertensión arterial esencial, o hipertensión de causa no determinada, es responsable de más del 90% de los casos de hipertensión vistos en la práctica

médica. El hallazgo tiende a aparecer con carácter familiar más que individual y es representativo de una colección de enfermedades o síndromes. (Gamboa, 2006)

Son muchos los factores fisiopatológicos que han sido considerados en la génesis de la hipertensión esencial: el incremento en la actividad del sistema nervioso simpático (SNS), tal vez relacionado con excesiva exposición o respuesta al estrés psicosocial, es decir del impacto de la vida moderna; la sobreproducción de hormonas ahorradoras de sodio y vasoconstrictoras; la alta ingesta de sodio; la inadecuada ingesta de potasio y calcio; el incremento en la secreción o la inapropiada actividad de la renina, con resultante incremento en la producción de angiotensina II y aldosterona (SRAA); la deficiencia de vasodilatadores, tales como la prostaciclina, el óxido nítrico (ON), que afecta el tono vascular y el manejo renal del sodio; las anomalías en los vasos de resistencia, incluyendo lesiones en la microvasculatura renal; la diabetes mellitus, la resistencia a la insulina; la obesidad; el incremento en la actividad de factores de crecimiento; las alteraciones en los receptores adrenérgicos, que influyen la frecuencia cardíaca y el tono vascular, y las alteraciones celulares en el transporte iónico. El nuevo concepto de que las anomalías funcionales y estructurales incluyendo la disfunción endotelial, el incremento del estrés oxidativo, la remodelación vascular y la reducción de la complacencia, pueden anteceder a la hipertensión y contribuir a su patogénesis ha ganado soporte en los últimos años; parece evidente que la hipertensión arterial sería tal vez 'la campana de alarma del síndrome y el inicio de una verdadera cascada, siguiendo a la inflamación y disfunción endotelial (Figura 1). (Gamboa, 2006)

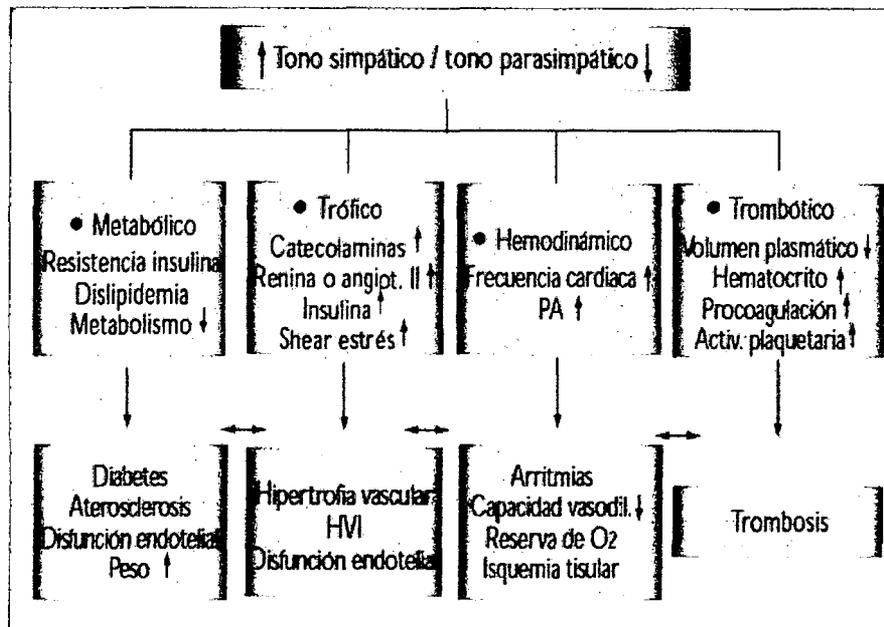
**Figura1:** Cascada inflamatoria y de disfunción endotelial.



### **SISTEMA NERVIOSO SIMPÁTICO**

El incremento en la actividad del SNS incrementa la presión sanguínea y contribuye al desarrollo y mantenimiento de la hipertensión a través de la estimulación del corazón, vasculatura periférica y riñones, causando incremento en el gasto cardiaco, en la resistencia vascular y en la retención de líquidos. Además, el desbalance autonómico (incremento del tono simpático y reducción del tono parasimpático) ha sido asociado con anomalías metabólicas, hemodinámicas, tróficas y reológicas, resultantes en incrementos en morbilidad y mortalidad cardiovascular (Figura 2). (Gamboa, 2006)

**Figura 2.** El rol del sistema nervioso simpático en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares.



Diversos estudios han demostrado la relación entre la frecuencia cardíaca y el desarrollo de hipertensión diastólica. Es conocida la relación entre la longitud de la pausa diastólica y el descenso de la presión diastólica. Las evidencias indican que los incrementos en la frecuencia cardíaca son originados mayormente por reducción en el tono parasimpático, soportando así el concepto de que el desbalance autonómico contribuye a la patogénesis de la hipertensión arterial. Además, desde que el nivel de la presión diastólica se relaciona más cercanamente a la resistencia vascular que a la función cardíaca, es sugestivo que el incremento del tono simpático puede también incrementar la presión diastólica, al causar proliferación de las células vasculares lisas y en consecuencia remodelación vascular. (Gamboa, 2006)

El incremento de la estimulación simpática es mayor en los jóvenes, lo cual puede contribuir significativamente al desarrollo de la hipertensión en edades tempranas. Los mecanismos del incremento de la actividad simpática son complejos e involucran alteraciones en baro y quimiorreceptores. Los barorreceptores arteriales son reajustados a nivel más alto en los pacientes hipertensos, principalmente por acción de la angiotensina II y por el efecto de radicales libres y endotelina. La exagerada respuesta a quimiorreceptores, que conduce a incremento en la actividad simpática, ha sido demostrada con estímulos

tales como la apnea y la hipoxia. La crónica estimulación simpática conduce a remodelación vascular y a hipertrofia ventricular izquierda, posiblemente por el efecto directo de la epinefrina en sus receptores, así como por la liberación de factores tróficos, tales como el factor de crecimiento  $\beta$  transformante, el factor 1 de crecimiento semejante a la insulina y el factor de crecimiento fibroblástico. La estimulación simpática renal también está incrementada en los pacientes hipertensos. En modelos animales, la estimulación renal simpática induce reabsorción tubular de sodio y agua, así como la reducción urinaria de la excreción de sodio y agua, resultando en la expansión del volumen intravascular y el incremento de la presión arterial. (Gamboa, 2006)

### **2.4.3 REACTIVIDAD VASCULAR Y ESTRÉS**

El estrés intermitente se puede traducir en hipertensión sostenida. La adrenalina secretada en la médula suprarrenal induce cambios mucho más importantes estimula los nervios simpáticos y además actúa sobre el receptor beta 2 presináptico, para facilitar la liberación de más noradrenalina (NA). Además puede haber una alteración en la recaptación neuronal de NA en individuos con hipertensión esencial que dejaría expuestas las células vulnerables a niveles más elevados de NA. (Gamboa, 2006)

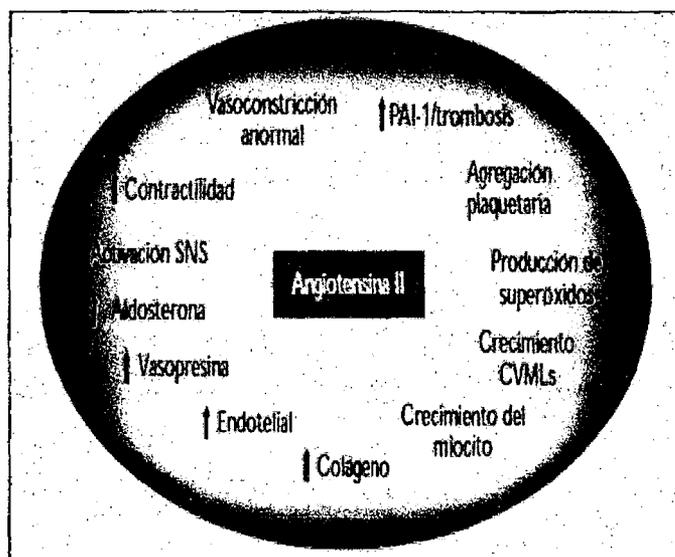
### **2.4.4 REMODELAMIENTO VASCULAR Y ENDURECIMIENTO ARTERIAL**

La remodelación vascular es un proceso de cambios estructurales que involucra alteraciones en el proceso celular incluyendo crecimiento, apoptosis, migración, inflamación y producción de matriz extracelular, resultando en un incremento del tono arteriolar, engrosamiento de la íntima e hiperplasia de la media. Fisiológicamente la remodelación es un cambio de respuesta adaptativa que ocurre en respuesta a cambios hemodinámicos y envejecimiento. Estos cambios estructurales pueden incrementar la reactividad vascular, con un aumento de la resistencia vascular periférica que es característico de la hipertensión (Alonso, 2007)

### 2.4.5 ANGIOTENSINA II Y ESTRÉS OXIDATIVO

El conocimiento de los múltiples efectos fisiopatológicos del exceso de actividad del SRA y su producto final, la angiotensina II, ha conducido a la hipótesis de que los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y los bloqueadores del receptor de angiotensina II (BRAs) tienen importantes efectos vasoprotectores, que van más allá de la reducción de la presión arterial. Importantes estudios clínicos respaldan esta hipótesis (ver Figura 5). (Gamboa; 2006)

**Figura 3.** Efectos fisiopatológicos de la angiotensina II



La presencia de hipertensión arterial crea un círculo vicioso de retroalimentación, donde la hipertensión activa al sistema y este produce mayor hipertensión (Figura 6).

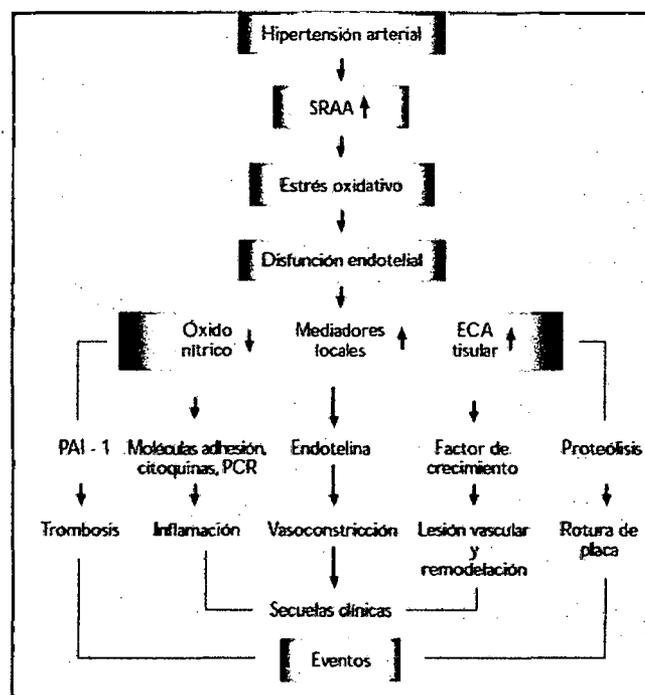
El rol de la Angiotensina II y el mecanismo de estrés en la generación de especies reactivas de oxígeno se inicia en las paredes de los vasos sanguíneos en pacientes con hipertensión; para el inicio de este mecanismo la NADPH oxidasa es activada por varios estímulos fisiopatológicos, incluyendo a la Angiotensina II y la hipertensión para producir radicales de oxígeno y otras especies reactivas de oxígeno, conduciendo así a la formación de peroxinitritos y otros oxidantes; que puede conducir a la destrucción del óxido nítrico a nivel de células endoteliales y del músculo liso vascular por causa de una oxidación del cofactor tetrahidrobiopterina. Las consecuencias del estrés oxidativo incluyen disminución de la vasodilatación dependiente del endotelio, respuesta

inflamatoria y perpetuación de la hipertensión arterial. Últimamente estos procesos que se activa en la hipertensión, confieren una predisposición a la aterosclerosis. (Baglivo, 2003)

#### 2.4.6 ALDOSTERONA

Los mineralocorticoides son esteroides que actúan en el epitelio renal y en otros epitelios, incrementando la reabsorción del sodio y la excreción del potasio e iones hidrógeno. El agua es retenida junto con el sodio, causando la expansión del volumen extracelular. Los mineralocorticoides también actúan en el cerebro, influenciando los niveles de presión arterial. La aldosterona es el mineralocorticoide más importante, teniendo acciones autocrinas y paracrinas en el corazón y en la vasculatura, estimulando la fibrosis intra y perivascular, además de la fibrosis intersticial en el corazón. Tanto el antagonista no selectivo de aldosterona, la espironolactona y el recientemente descubierto bloqueador del receptor de aldosterona, eplerenone, son efectivos en la prevención o reversión de los depósitos de colágeno, tanto en la vasculatura como en el corazón, demostrando su efecto antifibrótico. La espironolactona y el mejor tolerado eplerenone son actualmente usados para el tratamiento de la hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca o infarto miocárdico complicado con disfunción ventricular, debido a sus efectos protectores tisulares. (Gamboa; 2006)

**Figura 6.** La cascada de la activación del SRAA



### **2.4.7 ENDOTELINA**

El estrés, la hipoxia, las catecolaminas y la angiotensina II estimulan la producción vascular de las endotelinas. La endotelina-1 ejerce un amplio rango de efectos biológicos renales, incluyendo contracción de la vasculatura, contracción del mesangio, inhibición de la reabsorción de sodio y agua por el nefrón; además, al estimular la glándula adrenal estimula la secreción de aldosterona, produciendo vasoconstricción de la arteriola aferente renal, propiciando la hipertensión intraglomerular. La endotelina-1 estimula la actividad simpática y en consecuencia la vasoconstricción arterial. (Gamboa, 2006)

La endotelina (ET) es el vasoconstrictor endógeno más potente conocido a la fecha y posee acción fisiológica prolongada. Existe una familia de tres isopéptidos similares de endotelina-1 (ET-1, -2 y -3), cada uno codificado por genes distintos en los cromosomas 6, 1 y 20, respectivamente. La ET-1 es producida en las células endoteliales y en las células musculares lisas vasculares. La ET-2 es producida predominantemente en el riñón y en el intestino. La secreción de ET-1 ocurre en minutos luego de la exposición a estímulos inductores tales como catecolaminas, angiotensina II, glucocorticoides, citoquinas, radicales libres e hipoxia. Las células vasculares pueden así, rápidamente, ajustar la producción de ET para regular el tono vascular (Chávez et. al.; 2001). Los niveles elevados de ET parecen elevar la presión arterial, como ocurre en pacientes que presentan tumores secretores de endotelina. (Maicas, 2003)

En base a estas consideraciones, se postula que la endotelina participa en mecanismos que conducen a la hipertensión arterial, principalmente en pacientes con enfermedad renal crónica. (Gamboa, 2006)

### **2.4.8 ÓXIDO NÍTRICO**

Es un radical libre gaseoso con múltiples acciones biológicas; entre las mejores definidas se encuentran la regulación del tono vascular, la regulación de la neurotransmisión y la participación en la inmunidad no específica. (Rondon et al., 2002) .El óxido nítrico es un radical libre fisiológico producido por el endotelio vascular como un factor de relajación, tiene efectos citoprotectores, es débilmente reactivo, pero bajo ciertas circunstancias genera productos tóxicos

fuertemente oxidantes como el peroxinitrito (Chávez et. al.; 2001). El ON es enzimáticamente sintetizado a partir de la L-arginina, un proceso que puede ser inhibido por componentes análogos de la L-arginina como la N-Nitro-L-Arginina Metil Ester (L-NAME) quien compite por la ON Sintasa (ONS). La inhibición de la ONS disminuye la producción de ON ocasionando vasoconstricción, aumento de la liberación de renina e hipertensión arterial. (Sharifi et. al.; 2005)

## **RADICALES LIBRES**

Los radicales libres son compuestos de existencia independiente que contienen uno o más electrones impares. Estos radicales libres son extremadamente reactivos, es decir, fuertemente oxidantes que pueden causar daño oxidativo a macromoléculas biológicas, producir daño a la membrana celular y lipoproteínas por un proceso denominado peroxidación lipídica que produce la formación de ciertos productos de degradación tales como aldehídos, entre las cuales está el malondialdehído, que constituye un marcador de la oxidación lipídica (Chávez et. al.; 2001).

### **2.4.9 TRATAMIENTO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

Las normas para la clasificación clínica de la hipertensión arterial publicadas reciente y casi conjuntamente por el NIH americano (Joint National Committee VII) y las Sociedades Europeas de Hipertensión Arterial y Cardiología (SEH-C) coinciden en considerar como hipertensión arterial al promedio de dos o tres mediciones consecutivas iguales o superiores a 140/90 mmHg, en posición sentada. La presión normal es definida por el JNC VII como inferior a 120/80 mmHg, siendo considerados los valores intermedios como estadio prehipertensivo. (Baglivo; 2003).

El objetivo primordial del tratamiento del paciente hipertenso debe ser lograr la máxima reducción en el riesgo global de morbilidad y mortalidad cardiovasculares, según indica el Protocolo de Tratamiento de la Hipertensión de la OMS-Sociedad Internacional de Hipertensión. (Rivas, et. al.; 2007).

El mejor cumplimiento con medicamentos antihipertensivos lleva a un menor

riesgo de hospitalización, y está demostrado en diversos estudios que los pacientes con un alto cumplimiento tienen mayor probabilidad de lograr la presión arterial objetivo. Además, los principales efectos benéficos del tratamiento antihipertensivo se deben a la reducción de la presión arterial en sí y son independientes de los fármacos utilizados. (Baglivo; 2003).

Todos los pacientes, bien sean prehipertensos o hipertensos (VII JNC), deben adoptar modificaciones de estilo de vida: suspender el tabaquismo, disminuir de peso, mantener un Índice de Masa Corporal (IMC) entre 18,5 y 24,9; seguir la dieta DASH rica en potasio, calcio, frutas, vegetales, baja en sodio y con bajo porcentaje de grasas saturadas; reducir la ingestión de sal a 6 g por día, realizar actividad física regular aeróbica como caminar 30 minutos al día la mayoría de los días de la semana y, por último, disminuir la ingestión de alcohol a máximo 30 mL de etanol (24 onzas de cerveza, 10 onzas de vino o 3 onzas de whisky). Estas modificaciones en el estilo de vida aumentan la eficacia del tratamiento hipotensor y disminuyen el riesgo cardiovascular. El manejo farmacológico se inicia en los estadios 1 y 2 de HTA según se describe a continuación: en el estadio 1 se recomienda iniciar con diuréticos tiazídicos. (Molina; 2003) los diuréticos aumentan la eficacia antihipertensiva de múltiples regímenes, que pueden ser usados para conseguir el control de presión arterial, y son más asequibles que otros agentes terapéuticos y si no hay control adecuado, adicionar Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA), Antagonistas de los Receptores de Angiotensina II (ARA II), Beta Bloqueadores (BB) o Calcio Antagonistas (CA), según criterio del médico tratante. En el estadio 2 se debe utilizar la combinación de dos o más medicamentos antihipertensivos para la mayoría de los pacientes, usualmente tiazidas e IECA, ARA II, BB o CA. (García ,2004; Molina, 2003)

El antihipertensivo ideal debe: tener un buen perfil hemodinámico, evitar el daño del órgano blanco, tener pocos efectos adversos, ser eficaz en monoterapia, tener índice pico-valle mayor de 0.5, permitir buena adherencia al tratamiento, bajo costo e idealmente duración mayor de 24horas, que mantenga al paciente protegido si olvida tomar una dosis. (García ,2004; Molina, 2003)

En un estudio realizado en un hospital nacional se reportó que la monoterapia era utilizada en 55%; dos fármacos, en 38% y tres o más fármacos, en 7%. El fármaco más prescrito en monoterapia fue enalapril (62%); la combinación de

dos fármacos más frecuente fue IECA con calcio antagonistas (32%) seguido de IECA con diurético tiazidico (18%); y en tres o más fármacos la combinación más frecuente fue IECA con Calcio Antagonista y diurético tiazidico. Una reciente publicación nacional pone de manifiesto que 45% de los pacientes que reciben fármacos antihipertensivos se encuentran compensados y que el fármaco más utilizado es el enalapril (82%) seguido de calcio antagonista (12%) (Rivas, et. al.; 2007). Los hipertensos que presentan ciertas patologías asociadas requieren de tratamiento especial que además de controlar la HTA, disminuya el riesgo cardiovascular, cerebrovascular y detenga la aparición o progresión de la enfermedad renal crónica, entre otras. El VII JNC hace algunas recomendaciones mandatorias o imperativas con base en estudios realizados en los últimos años, con fármacos específicos según la enfermedad asociada (García ,2004).

#### **2.4.10 ANATOMIA Y FISILOGIA DEL SISTEMA VASCULAR DE LA RATA**

Se sabe que las ratas son de los animales de experimentación más utilizados en los laboratorios de investigación porque presentan muchas ventajas sobre otras especies animales. (Fox JG, 1984) En ciertos casos se requiere que estos especímenes sean tratados con algún fármaco para inducirles determinadas variaciones en su estado fisiológico. De esas perturbaciones se obtienen datos de interés para el investigador, pero si al animal se le introduce un anestésico o tranquilizante, sus valores fisiológicos se alteran por efecto de este tratamiento, además del fármaco de la investigación, por lo que durante el experimento es conveniente mantener al animal lo más tranquilo posible, para que permita recabar información sobre los cambios en algunos de sus signos vitales.

La hipertensión arterial es una enfermedad compleja y multifactorial acompañada de complicaciones cardíacas, renales y vasculares. Las características fisiopatológicas de la hipertensión de los modelos animales no se correlacionan totalmente con la hipertensión humana. Esto se debe a varias razones:

1. La etiología de los modelos animales de hipertensión arterial es secundaria, pues corresponde sólo a 5% de la población humana hipertensa.

2. Los modelos animales de hipertensión arterial producen de forma variable daño de órgano blanco; algunos modelos tienen mayor utilidad para el estudio de complicaciones renales o cardiovasculares.

3. Las complicaciones de la hipertensión arterial sólo se manifiestan en 15% de la población humana hipertensa. Por el contrario, en modelos animales de hipertensión la proporción de daño de órgano blanco es variable, pues se estima que entre 20% y 60% de los animales desarrollan complicaciones cardiovasculares y/o renales secundarias al aumento de la presión arterial (Pinto YM, 1998). El uso de ratas hipertensas espontáneas (SHR) es el más común hasta la fecha en estudios experimentales de hipertensión arterial. Sin embargo, es pertinente aclarar que el modelo SHR sólo se correlaciona con una pequeña proporción de la hipertensión humana (<1%) correspondiente a la mendeliana; además este modelo no desarrolla complicaciones vasculares, arterioesclerosis y accidente cerebrovascular. (Pravenec M., 2005).

Cuadro 2		
COMPARACIÓN DE LOS VALORES PROMEDIO (DE 22 RATAS) Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR, CON LOS DATOS DE LA LITERATURA		
COMPARISON OF THE PHYSIOLOGIC PARAMETER VALUES (MEAN AND STANDARD DEVIATION) OBTAINED WITH THE NON- INVASIVE DEVICE WITH THOSE PREVIOUSLY REPORTED IN THE LITERATURE		
<i>Comparación de valores de presión arterial en ratas</i>		
<i>Comparison of pressure arterial values in rats</i>		
<i>Parámetros</i>	<i>Evaluados</i>	<i>Obtenidos</i>
<i>Parameter</i>	<i>Evaluated</i>	<i>Observed</i>
Presión sistólica, mmHg	116	113.12 ± 13.73
Presión diastólica, mmHg	90	91.22 ± 13.56
Frec. cardíaca, lat/min.	300-500	351.31 ± 50.78
Frec. respiratoria, resp/min.	85	105.63 ± 19.81

**(Infante O. et al., 2005)**

Durante todo tipo de experimentos, los signos vitales del animal se alteran pues las perturbaciones a las cuales se someten el animal, les provoca estrés y ansiedad. Por estos motivos es conveniente mantener al animal lo más tranquilo posible si nuestro interés es recabar información sobre los cambios en algunos de sus signos vitales inducidos por sustancias o fármacos que se

utilizan en nuestro modelo experimental. (Florez P., et al, 2011; Moore D., 2011)

La presión de las ratas, es el signo vital más sensible a este tipo de cambios; además, según el modelo empleado para medir variaciones en la presión arterial, se debe tomar en cuenta otros factores. Por ejemplo según modelos propuestos por Infante, Vasquez et al, Arroyo et al. y Sanchez et al. que monitorizan los cambios en la presión sanguínea de manera indirecta valiéndose de un equipo de presión arterial esfigomanométrico de cola; indican que inmovilizaron al animal en jaulas especiales, los mantuvieron en un ambiente libre de ruidos para reducir el estrés de los animales y por último mientras la rata se acostumbra a la jaula, se mantienen a estos con una temperatura de  $36\pm 5^{\circ}\text{C}$  para favorecer la vasodilatación de las arterias caudales presentes en la cola del animal para una mejor detección de la presión arterial.

Del trabajo realizado por Flores Chavez et al, donde se reportan los valores normales de los signos vitales de ratas obtenidos por un equipo de medición de presión arterial por métodos incruentos, arrojan como resultados los valores que en promedio son de 116/90.

Sin embargo hay otros trabajos de investigación (Arroyo J. et al 2008; Condorhuaman F. 2009; Ramirez J. 2006) donde se observa variabilidad entre las cifras normales (basales) de la presión arterial entre trabajos. Por lo tanto se hace muy necesario, cuando la variable independiente a observar es la presión arterial, incluir dentro de los grupos de experimentación un grupo blanco, al cual no se induce la hipertensión arterial, además de realizar una medición de la presión basal de todos los animales de experimentación antes de realizar la inducción para observar la variabilidad de las cifras de presión arterial (PA).

**Cola de rata:** la cola es una extensión de la columna vertebral que se proyecta hacia la parte trasera del animal. Es un cilindro largo que consta de tres capas concéntricas. El núcleo es el hueso, que está rodeado por una capa de

tendones que, a su vez, están rodeados por una capa de piel. Los vasos sanguíneos recorren toda la longitud de la cola entre los tendones.

La cola de las ratas tiene dos funciones. La primera como termorregulador y la segunda para mantener el equilibrio. La cola sirve para disipar calor. Es muy útil para este propósito ya que no tiene pelo, y tiene una gran cantidad de vasos sanguíneos. Aunque la cola solo es el 5% de la rata, puede disipar un 17% del calor corporal.

Las ratas controlan la temperatura corporal con la dilatación o concentración de sus vasos sanguíneos. Cuando la temperatura de la rata aumenta, los vasos sanguíneos de la cola aumentan (vasodilatación) permitiendo la circulación de una mayor cantidad de sangre caliente. Esta sangre pierde su calor a través de la superficie de la cola haciendo que la rata se enfrié. Cuando la temperatura de la rata baja, los vasos se contraen (vasoconstricción) lo que hace que fluya menos sangre caliente por la cola y la rata conserve su calor. (Rincón de ratas, 2011)

#### **2.4.11 Modelo de hipertensión con L-NAME.**

El modelo de hipertensión por administración crónica de L-NAME es un modelo caracterizado por disfunción endotelial, vasoconstricción, activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona y disminución de la tasa de filtración glomerular, características que también han sido descritas en la hipertensión primaria o esencial de los seres humanos. Uno de los distintivos del modelo de L-NAME es el mayor grado de fibrosis cardíaca y arterioesclerosis en comparación con otros modelos de hipertensión. Además, este modelo también se caracteriza por desarrollo de hipertrofia cardíaca y daño renal, manifestaciones menos frecuentes en comparación con otros modelos como el de ratas Goldblatt (estenosis unilateral de la arteria renal) y el de ratas hipertensas tipo Dahl (cepa de ratas hipertensas al administrar dieta hipernatrémica) (Pinto YM, 1998).

**2.4.11.1 L – NAME:** Es el cloruro de N – Nitro – L – Arginina Metil Ester. Es una molécula que actúa como inhibidor competitivo de la enzima Óxido nítrico sintasa, provocando de esta manera la reducción en la síntesis de NO en el

endotelio vascular. De esta manera se genera un desbalance entre el NO y Angiotensina II, modificándose este balance a favor de la vasoconstricción, induciendo un incremento de la presión arterial. (Flores P. et al, 2002)

**2.4.11.2 Participación del NO en la regulación de la PA:** se ha demostrado que en respuesta a la estimulación por acetilcolina, las células endoteliales producen una sustancia que difunde y al actuar sobre las células musculares lisas, causa su relajación. Esta sustancia identificada como óxido nítrico (ON) es un vasodilatador cuyo efecto es mediado por un incremento de los niveles de cGMP, el cual relaja el músculo liso porque disminuye la concentración de los iones  $Ca^{2+}$  en el citosol. El óxido nítrico se forma a partir de L-arginina por la acción de una enzima denominada óxido nítrico sintasa. Se ha demostrado, además, que el óxido nítrico se descarga en ciertos nervios que inervan a los vasos sanguíneos y que tienen acción inotrópica negativa sobre el corazón. (Elvira D., Cabello J.; 2003)

**2.4.11.3 Dosis de L – NAME:** en el trabajo realizado por Ramírez et al. 2005, escogieron la dosis de 40mg/Kg/i.p. al día de L-NAME por ser la que cursa con el mayor grado de fibrosis cardiaca y permite evaluar la prevención del daño de órgano blanco por hipertensión arterial. Se observa que comienzan el tratamiento a la semana de iniciado la administración de L-NAME y siguen hasta completar la cuarta semana. El trabajo realizado por Sánchez, Mendoza et al; escogieron la dosis de 100mg/Kg/día/v.o. Se observa que el día 15 de la administración se comienza a elevar los valores de presión arterial.

En el trabajo realizado por Arroyo et al; se observa la elevación máxima de la presión arterial al día 18 de administración de L-NAME en dosis de 40mg/Kg/v.o., es donde deciden iniciar el tratamiento hasta completar el día 28.

En el trabajo realizado por Rojas et al, se escoge la dosis de 50 mg/Kg 1 vez al día VIP. Se observa que deciden iniciar el tratamiento al segundo día de administración de L-NAME pues se registra una elevación de la presión arterial y continúan con este hasta completar el día 10.

Se concluye que la dosis más utilizada es la de 40 mg/Kg una vez al día.

## **2.5. DESCRIPCION DEL FARMACO PATRON**

### **2.5.1 ENALPRIL**

#### **2.5.1.1 DESCRIPCIÓN**

El Enalapril es un inhibidor de la enzima de conversión de la angiotensina (ECA). El enalapril, es un profármaco del enalaprilato diseñado para su administración oral.

#### **2.5.1.2. MECANISMO DE ACCIÓN**

El enalaprilato i.v. o el enalapril oral, después de ser hidrolizado a enalaprilato, inhiben la enzima de conversión de la angiotensina tanto en el hombre como en los animales de experimentación. La ECA es una peptidil dipeptidasa que cataliza la conversión de la angiotensina I a la angiotensina II, una sustancia vasoconstrictora. La angiotensina II también estimula la secreción de aldosterona por la corteza suprarrenal. Los efectos beneficiosos del enalapril en la hipertensión y la insuficiencia cardíaca se deben a la supresión del sistema renina-angiotensina-aldosterona.

La inhibición de la ECA lleva consigo una disminución de los niveles plasmáticos de angiotensina II produciendo una disminución de la respuesta vasopresora y de la secreción de aldosterona. Aunque la disminución de la secreción de aldosterona no es muy grande, ocasiona un pequeño aumento de los niveles plasmáticos de potasio. En los pacientes hipertensos tratados con enalapril durante 48 semanas, este aumento llevó a ser de 0.2 mEq/L. En los pacientes tratados con enalapril asociado a un diurético tiazídico, no se observó prácticamente ningún cambio en los niveles de potasio (véanse, precauciones).

La supresión de la angiotensina II produce, por un efecto de retroalimentación negativa, un aumento de los niveles de renina. La ECA es similar a la kininasa, una enzima que degrada la bradikinina, y por lo tanto, la supresión de su actividad aumenta los niveles de bradikinina, un péptido con potentes efectos vasodepresores. No se sabe muy bien qué papel juega este péptido en los efectos terapéuticos del enalapril. En efecto, si bien es seguro que el enalapril

disminuye la presión arterial actuando sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona, no sabe porque el fármaco reduce la hipertensión en pacientes con bajos niveles de renina. Este efecto se observa sobre todo en pacientes de raza negra que tienen una hipertensión con bajos niveles de renina y que responden peor que los blancos a los efectos del enalapril en monoterapia.

### **2.5.1.3. FARMACOCINÉTICA Y METABOLISMO**

Después de la administración oral del enalapril se observan unas concentraciones séricas máximas al cabo de 1 hora. A partir de los datos de la excreción urinaria, se deduce que el enalapril se absorbe en un 60% aproximadamente. La absorción del enalapril no es afectada por la presencia de alimento en el tracto digestivo. Una vez absorbido, el enalapril se hidroliza a enalaprilato, el verdadero inhibidor de la ECA. Las concentraciones máximas de enalaprilato se alcanzan unas 4 horas después de una dosis oral de enalapril. La excreción del enalapril es sobre todo renal. Aproximadamente el 94% de la dosis administrada es recuperada de la orina o las heces como enalaprilato o enalapril. En la orina se detectan enalaprilato y enalapril, sin que se hayan observado otros metabolitos diferentes. La semivida de eliminación efectiva, determinada a partir de datos cinéticos después de dosis orales múltiples es de unas 11 horas. La biodisponibilidad del enalapril en pacientes con insuficiencia renal es similar a la de los pacientes con función renal normal hasta llegar a una filtración glomerular de  $\pm 30$  ml/min, momento en el que aumenta el tiempo para llegar a la concentración máxima del fármaco y las concentraciones de equilibrio. En presencia de esta insuficiencia renal, también se prolonga la semivida de eliminación.

### **2.5.1.4. FARMACODINAMIA**

#### **FARMACODINAMIA**

En la mayoría de los pacientes estudiados, después de una dosis oral de enalapril, el inicio del efecto antihipertensivo se observa una hora después de la administración, produciéndose la máxima reducción de la presión arterial a las 6 horas. A las dosis recomendadas el efecto antihipertensivo se mantiene al menos durante 24 horas, aunque en algunos pacientes hay que esperar

algunas semanas para que se alcance la reducción óptimas de la presión arterial. Los efectos antihipertensivos del enalapril se mantienen durante la administración crónica del fármaco y no se observado efectos de rebotes hipertensivos cuando se discontinuado la medicación de forma abrupta.

#### **2.5.1.5. INDICACIONES Y POSOLOGIA**

El enalapril está indicado en el tratamiento de todos los grados de hipertensión esencial y en la hipertensión renovascular. Puede emplearse como tratamiento inicial solo o concomitantemente con otros agentes antihipertensivos, especialmente diuréticos. El enalapril está indicado también en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva. El enalapril se debe administrar únicamente por vía oral. Dado que su absorción no se ve afectada por la comida, el enalapril puede administrarse antes, durante y después de las comidas. La dosis usual diaria varía desde 10 a 40 mg en todas las indicaciones. Se puede administrar el enalapril 1 ó 2 veces al día.

**Hipertensión arterial esencial:** la dosis inicial recomendada es de 5 mg, administrada una vez al día. La dosis usual de mantenimiento es de 20 mg una vez al día. Esta dosis debe ajustarse según las necesidades del paciente. En pacientes de edad mayor o igual a 65 años, la dosis inicial recomendada es de 2,5 mg. **Hipertensión renovascular:** dado que en estos pacientes la tensión arterial y la función renal pueden ser particularmente sensibles a la inhibición de la ECA (enzima de conversión de angiotensina), el tratamiento debe comenzarse con una dosis de inicio baja, de 2,5 a 5 mg, hasta llegar a un comprimido de 20 mg una vez al día.

#### **2.5.1.6. CONTRAINDICACIONES Y PRECAUCIONES**

El Enalapril está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad a este fármaco.

**Hipotensión sintomática:** La hipotensión sintomática tras la dosis inicial o en el curso del tratamiento es una eventualidad poco frecuente (2,3 por 100 de los tratados en términos globales). En los pacientes hipertensos es más frecuente cuando existe depleción de volumen (tratamiento previo con diuréticos, restricción de sal en la dieta, diálisis, diarreas o vómitos) o en la hipertensión

con renina alta, frecuentemente secundaria a enfermedad renovascular. En pacientes con insuficiencia cardíaca es más probable que aparezca en aquellos con grados más severos de insuficiencia cardíaca, reflejada por el uso de dosis elevadas de diuréticos de asa, hiponatremia o alteración renal funcional. Si se desarrollase hipotensión, debe colocarse al paciente en posición supina, y puede ser necesario administrarle líquido oral para replecionarle de volumen, o suero salino normal por vía intravenosa. El tratamiento con enalapril generalmente puede continuarse tras haber restaurado el volumen sanguíneo y una presión arterial eficaces. En algunos pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva que tienen presión arterial normal o baja, puede ocurrir un descenso adicional de la presión arterial sistémica con enalapril. Este efecto debe tenerse en cuenta y, generalmente, no constituye motivo para suspender el tratamiento. Si la hipotensión se hiciese sintomática, puede ser necesario reducir la dosis o suspender el tratamiento con enalapril.

**Función renal alterada:** Los pacientes con insuficiencia renal pueden necesitar dosis menores o menos frecuentes de enalapril. En algunos pacientes con estenosis bilateral de las arterias renales o estenosis de la arteria de un riñón solitario o riñón trasplantado, se han observado incrementos de los niveles de urea y creatinina séricas, reversibles con la suspensión del tratamiento. Este hallazgo es especialmente probable en pacientes con insuficiencia renal. Algunos pacientes hipertensos con aparente ausencia de enfermedad renal previa han desarrollado incrementos mínimos y generalmente transitorios en la urea y creatinina séricas, especialmente cuando se administró enalapril concomitantemente con un diurético. Puede ser necesario entonces reducir la dosis de enalapril o suspender el diurético.

En pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva, la hipotensión tras el comienzo con enalapril puede llevar a un ulterior deterioro de la función renal. En esta situación se ha descrito fracaso renal agudo, generalmente reversible. Por lo tanto, en estos pacientes se recomienda el control de la función renal en las primeras semanas de tratamiento.

**Hipersensibilidad edema angioneurótico:** En pacientes tratados con inhibidores de la enzima de conversión, incluyendo enalapril, ha aparecido en

raras ocasiones edema angioneurótico de la cara, extremidades, párpados, lengua, glotis y/o laringe. En tales circunstancias, el enalapril debe suspenderse inmediatamente y el paciente debe permanecer en observación hasta que desaparezca la tumefacción. En aquellos casos en que la tumefacción ha quedado confinada a la cara y párpados, la situación generalmente se resolvió sin tratamiento, aunque los antihistamínicos han sido útiles para mejorar los síntomas. El edema angioneurótico con edema laríngeo puede ser mortal. Cuando existe afectación de la lengua, glotis o laringe que produzca obstrucción de la vía aérea, debe administrarse inmediatamente, por vía subcutánea, epinefrina en solución 1:1.000 (0,3 ml a 0,5 ml) e instaurar otras medidas terapéuticas que se consideren apropiadas.

**Cirugía/anestesia:** En pacientes que van a sufrir cirugía mayor o durante la anestesia con agentes que producen hipotensión, el enalapril bloquea la formación de angiotensina II secundaria a la liberación compensadora de renina. Si apareciese hipotensión y se considerase secundaria a este mecanismo, puede ser corregida por expansión de volumen.

**Potasio sérico:** El potasio sérico generalmente permanece dentro de límites normales. En pacientes con insuficiencia renal, la administración de enalapril puede llevar a elevación de potasio sérico, especialmente en pacientes con insuficiencia renal, diabetes mellitus y/o diuréticos ahorradores de potasio concomitantes. No existen estudios adecuados y bien controlados en mujeres embarazadas. El enalapril debe emplearse durante el embarazo sólo si el potencial beneficio justifica el riesgo potencial para el feto. Existe un riesgo potencial de hipotensión fetal, bajo peso al nacer y descenso de la perfusión renal o anuria en el feto tras la exposición uterina a los inhibidores de la enzima de conversión. En cualquier neonato que estuvo expuesto al enalapril durante el periodo intrauterino, deben observarse estrechamente el flujo de orina y presión arterial. Si lo requiere, deben adoptarse las medidas terapéuticas apropiadas, incluyendo la administración de fluidos o diálisis para extraer el enalapril de la circulación. Por tanto, el uso rutinario de inhibidores de la enzima de conversión durante los últimos estadios del embarazo no se recomienda.

**Advertencia:** Si se administran durante el segundo y tercer trimestre del embarazo, los inhibidores del enzima de conversión de angiotensina (grupo al que pertenece este producto) pueden causar daño y muerte fetal. Si se detecta embarazo, la administración de este medicamento debe ser suspendida lo antes posible.

**Madres lactantes:** No se conoce si el enalapril se excreta por la leche materna. Debido a que por la leche materna se excretan muchos fármacos, debe tenerse precaución si se administra enalapril en una madre lactante.

**Empleo en pediatría:** el enalapril no se ha estudiado en niños.

### **2.5.1.7. INTERACCIONES**

Puede ocurrir un efecto aditivo cuando se emplee enalapril conjuntamente con otros fármacos antihipertensivos.

Antiinflamatorios no esteroideos (indometacina y otros AINES): En algunos pacientes con insuficiencia renal tratados con AINES, la administración concomitante de inhibidores de la ECA (por ejemplo lisinopril o enalapril) puede aumentar el deterioro de la función renal. Estos efectos suelen ser reversibles. Por lo tanto, la presión arterial debe ser vigilada si se administran antiinflamatorios a pacientes tratados con enalapril. La aspirina puede reducir la eficacia vasodilatadora de los inhibidores de la ECA al inhibir la síntesis de prostaglandinas. Esta interacción está bien documentada en pacientes con insuficiencia cardíaca. Sin embargo, la aspirina es beneficiosa en combinación con un inhibidor de la ECA en casos de enfermedad coronaria isquémica y disfunción del ventrículo izquierdo. Por este motivo, los pacientes que reciban salicilatos y un inhibidor de la ECA deberán ser vigilados para comprobar una adecuada respuesta antihipertensiva.

El captopril, el enalapril y posiblemente otros inhibidores de la ECA pueden exaltar la actividad de los antidiabéticos orales. Se ha observado hipoglucemia cuando el captopril se añadió a un tratamiento con metformina o gliburide a pacientes con diabetes tipo 2. Se tomarán precauciones si se administra enalapril a diabéticos tratados con antidiabéticos orales.

Generalmente, no se recomienda la utilización de suplementos de potasio o diuréticos ahorradores de potasio como espironolactona, triamtereno o amilorida, ya que pueden utilizarse con precaución y con frecuentes controles del potasio sérico. En efecto el enalapril disminuye la secreción de aldosterona, produciendo pequeños incrementos en el potasio plasmático.

Azatioprina: el uso de inhibidores de la ECA en pacientes hipertensos tratados con azatioprina ha mostrado inducir anemia y leucopenia severa. Debe evitarse el uso de esta combinación siempre que sea posible, Cuando es necesario un tratamiento con azatioprina y enalapril, el paciente deberá ser vigilado cuidadosamente para detectar la posible aparición de la mielosupresión. El enalapril reduce la excreción de sales de litio y aumenta el riesgo de efectos cardiotoxicos y neurotóxicos por litio. Se han descrito algunos casos de intoxicación por litio en pacientes tratados concomitantemente con litio y enalapril con un síntoma que fueron reversibles al discontinuar ambos fármacos. Por lo tanto, si se administran ambos fármacos se debe monitorizar con frecuencia los niveles plasmáticos de litio.

Ciclosporina: se han observado algunos casos de insuficiencia renal aguda cuando se añadió enalapril a pacientes transplantados tratados con ciclosporina. El efecto vasoconstrictor aferente renal de la ciclosporina y a la hipoperfusión renal producida por este fármaco, requiere de una respuesta por parte de la angiotensina II para mantener la velocidad de filtración glomerular. La inhibición de la enzima de conversión puede reducir la función renal. Hay que vigilar estrechamente la función renal en los pacientes que reciben ciclosporina e inhibidores de la ECA simultáneamente.

Complejo de hierro gluconato sódico: se han observado reacciones sistémicas en pacientes tratados con el complejo de gluconato de hierro durante un tratamiento concomitante con enalapril. Las reacciones fueron eritema, fiebre alta, hipotensión, calambres abdominales y diarrea. Es posible que el complejo de hierro aumente el riesgo de reacciones alérgicas o anafilácticas en pacientes tratados con inhibidores de la ECA por lo que se deberán tomar precauciones.

### **2.5.1.8. EFECTOS SECUNDARIOS**

El enalapril ha demostrado ser generalmente bien tolerado. En los estudios clínicos, la incidencia global de efectos indeseables no fue mayor con el enalapril que con placebo. Para la mayoría, los efectos indeseables han sido leves y transitorios. La suspensión del tratamiento fue requerida en el 6% de los pacientes.

Los efectos secundarios más comúnmente descritos fueron: sensación e inestabilidad y cefalea. En el 2-3 por 100 de las pacientes se describieron: fatigabilidad y astenia. Otros efectos secundarios con una incidencia menor del 2 por 100 fueron: hipotensión ortostática, síncope, náuseas, diarrea, calambres musculares y erupción cutánea. Se ha descrito tos seca y persistente con una frecuencia entre el 1 y el 2 por 100, y puede requerir la suspensión del tratamiento. Hipersensibilidad/edema angioneurótico: Se ha comunicado, raras veces, la aparición de edema angioneurótico de la cara, extremidades, párpados, lengua, glotis y/o laringe.

Hallazgos en las pruebas de laboratorio: Raramente se observaron alteraciones en los parámetros estándar de laboratorio con la administración de enalapril que fuesen de significación clínica. Se han observado incrementos en la urea y creatinina séricas, reversibles con la suspensión de enalapril. Estos hallazgos son de más probable aparición en presencia de estenosis bilateral de las arterias renales, especialmente en pacientes con insuficiencia renal. Algunos pacientes sin evidencia de alteración renal preexistente han desarrollado pequeñas elevaciones, generalmente transitorias, en la urea y creatinina séricas cuando se ha administrado enalapril concomitantemente con diuréticos. Se han descrito en pocos pacientes: ligeras disminuciones en la hemoglobina, hematocrito, plaquetas y leucocitos, así como elevación de enzimas hepáticas, pero no se ha establecido una relación causal con enalapril.

## **2.6 EVALUACION DE LA TOXICIDAD AGUDA**

Es muy necesaria que la toxicidad de un producto químico industrial, pesticida, aditivo alimenticio y producto farmacéutico sea evaluada adecuadamente para que estos sean adecuadamente manejados, transportados y usados. En

particular, la información de la toxicidad aguda de un compuesto químico es requerida como uno de los criterios básicos para evaluar su seguridad. Los valores de DL50 son generalmente usados como índices de toxicidad aguda. Por ejemplo, los datos de toxicidad aguda, incluyendo los valores de DL50 en ratas, son solicitados por las autoridades regulatorias de muchos países, en lo que concierne a la registraci3n de fármacos, aditivo a alimenticios, pesticidas y sustancias químicas nuevas. **(Yamaka S. et al., 1990).**

Sin embargo, ha sido recientemente reportado que los valores de DL50 no son necesariamente requeridos para la evaluaci3n de la toxicidad aguda de las sustancias químicas por las siguientes razones. Primero, aun los valores de DL50 obtenidos sacrificando un gran número de animales varían entre laboratorios distintos. Se obtuvieron diferencias inter- laboratorios para valores de DL50 de cuatro o cinco productos químicos que variaban desde 2 veces hasta más de once veces. Por lo tanto no es necesario sacrificar tantos animales para la determinaci3n de valores de DL 50, si es imposible determinar un valor valido y reproducible de DL50. La segunda raz3n est3 basada en la seguridad animal, para reducir el uso despilfarrado de los animales. Muchas técnicas usando otros materiales como pequeños vertebrados, invertebrados, cultivos tisulares han sido propuestos para reemplazar los test de toxicidad aguda con mamíferos, pero en la actualidad estas técnicas no son satisfactorias. **(Yamaka S. et al., 1990).**

### **2.6.1 LA DL50 COMO CONSTANTE BIOLÓGICA**

La investigaci3n de la toxicidad aguda es el primer paso en la investigaci3n toxicológica de una sustancia desconocida. El índice de la toxicidad aguda es la DL50. Sin embargo, la DL50 no debe ser considerada como una constante biológica, debido a que se obtienen resultados distintos al realizar repeticiones o cuando las determinaciones son llevadas a cabo en diferentes laboratorios. Este hecho ya ha sido muy claramente mostrado en un estudio multicentro y llevado a cabo en la comunidad europea con cinco sustancias por Hunter y Lingk en 1978 **(Lorke D. et al, 1983)**. En ese estudio los valores de DL50 variaron como se muestra en la siguiente tabla:

Valores de DL50 de cinco compuestos estudiados por Hunter y Lingk

Compuesto	DL50 mg/Kg	Radio del valor más alto al más pequeño
I	46 - 522	11.3
II	800 - 4,150	5.2
III	350 - 1,280	3.7
IV	805 - 5,420	6.7
V	70 - 513	7.3

Fuente: (Lorke D. et al, 1983).

Otros ejemplos, que muestran que los valores de DL50 no pueden ser considerados como constantes biológicas, han sido investigados por Zbinden y Fluri-Roversi en 1981. La conclusión que debemos mencionar de estos resultados es que es imposible en principio mencionar un valor de DL50 para una sustancia en cual al mismo tiempo sea válido y exacto (44). De lo anterior, es que se desprende la siguiente pregunta:

¿Por qué son tantos animales sacrificados por el único propósito de determinar el valor de DL50 con alta precisión, si es imposible en principio de determinar una DL50 válida y reproducible?

## 2.6.2 DESARROLLO HISTORICO DE LOS TEST DE DL50

En un esfuerzo de determinar la toxicidad aguda de una sustancia, se buscó un medio simple de graduar los efectos tóxicos agudos. Es así que se deseaba tener un test con cual fuera posible determinar si una sustancia química era muy toxica, toxica, poco toxica, o si los efectos tóxicos no eran significantes como para preocuparse de la sustancia en la práctica. Con este objetivo es que se avizó una figura que expresara los efectos dañinos de cualquier sustancia. Se intentó con esta figura indicar la cantidad de sustancia que es injuriosa después de un modo de administración específico. Debido a que el término injuria o daño siempre envuelve un alto grado de subjetividad, se seleccionó un criterio objetivo, llamado muerte. Así, se buscó una manera de determinar la probabilidad de muerte lo más exacta posible. Es así que la DL50 fue

reconocida y justificada como el mejor parámetro por Trevan (1927). Desafortunadamente esto ha conducido a describir como similares la determinación de la DL50 con la investigación de la toxicidad aguda. **(Lorke D. et al, 1983).**

La investigación válida científicamente la toxicidad es necesaria y de muchos puntos de vista de gran valor. Sin embargo es engañoso igualar la determinación de la toxicidad aguda con el de la DL50 a pesar de que esto generalmente ocurre. Debido a estos desacuerdos es que varios métodos estadísticos y matemáticos han sido desarrollados para estimar la DL50 y sus rangos de variación con el fin de reportar la toxicidad aguda con la mayor precisión posible justificada por métodos matemático - estadísticos. Los más empleados son el método gráfico de Litchfield y Wilcoxon (1949), el método de papel cuadrulado logarítmico de Miller y Trainter (1934), y el procedimiento de hallazgo del intervalo o rango de Weil (1952). Todos estos métodos requieren un considerable número de animales con la finalidad de calcular una DL50, y, implícito en sus diseños matemáticos es, que usando más animales se incrementa la precisión de los datos reportados **(Lorke D. et al, 1983).** Mas, aun si la DL50 pudiera ser medida exactamente y con reproductibilidad, el conocimiento de su valor numérico preciso sería difícilmente de importancia práctica, porque la interpolación desde el animal de experimentación hacia el humano es difícilmente posible. Por otro lado, el conocimiento de los signos de intoxicación, órganos diana de toxicidad aguda, reversibilidad de las lesiones, etc., son de gran interés y esta información puede obtenerse de estudios cuidadosos con un número pequeño de animales **(Lorke D. et al, 1983).**

### **2.6.3 EL METODO DE LORKE PARA LA DETERMINACION DE DL50**

El método de Lorke describe un método para la investigación de la toxicidad aguda de una sustancia desconocida, con la determinación de la DL50. Usando este método, es posible obtener con tres animales de experimentación información adecuada de la toxicidad aguda y de la DL50. Este método no presenta limitaciones y es aplicable a fármacos y sustancias de la agricultura e industria. Este método también puede usarse por todas las vías de administración **(Lorke D. et al, 1983).**

Este método propone la determinación de toxicidad aguda en dos pasos. Además está basada en la suposición de que la sustancia química a ser investigada es completamente desconocida y que la investigación será llevada con número mínimo de animales experimentales. **(Lorke D. et al, 1983).**

Inicialmente es necesario determinar el rango aproximado de toxicidad aguda. Esto se logra administrando dosis diferentes al animal, por ejemplo 10, 100 y 1000 mg/Kg por vía oral. Los resultados muestran si una sustancia es muy toxica, toxica, poco toxica, o débilmente toxica. Para esta primera fase se deben utilizar tres animales por cada nivel de dosis. El resultado de esta primera etapa es utilizado para determinar las dosis subsecuentes experimentales. **(Lorke D. et al, 1983).**

Los siguientes postulados son hechos con respecto a los programas de administración subsecuentes:

1. Las sustancias más tóxicas que 1 mg/Kg son altamente tóxicas de tal modo que no es importante determinar la DL50 exactamente
2. Los valores de DL50 mayores a 5000 mg/Kg no son de interés práctico
3. Un valor aproximado de DL50 es usualmente adecuado para estimar el riesgo de intoxicación aguda

## 2.7 GLOSARIO DE TERMINOS

**Antihemorrágica:** Que favorece la coagulación sanguínea y, por tanto, se usa en el tratamiento de las hemorragias.

**Astringente:** Es cualquiera de las sustancias que con su aplicación externa local (tópica), retraen los tejidos y pueden producir una acción cicatrizante, antiinflamatoria y antihemorrágica.

**Colagogo:** Fármacos o extractos de plantas que facilitan la expulsión de la bilis retenida en la vesícula biliar, y casi siempre van acompañados de acción purgante intestinal.

**Diazotación:** Reacción química entre una amina aromática con ácido nitroso para obtener un compuesto diazónico.

**Diurético:** Son drogas con capacidad de incrementar el volumen de orina y disminuir el líquido excesivo del espacio extracelular. (Malgor Valsecia, 2008)

**Efecto tóxico agudo:** cuando el efecto tóxico de una sustancia es inmediato sobre el organismo que la ingiere. Es el efecto causado en un organismo por la incorporación al mismo de cierta cantidad de un tóxico, generalmente alta. En muchos causa la muerte.

**Estrés oxidativo:** Pérdida del equilibrio entre la producción de radicales libres o de especies reactivas de oxígeno y los sistemas de defensa antioxidante, y que tiene efectos deletéreos sobre los carbohidratos, los lípidos y las proteínas.

**Galactógena:** Hierbas galactogogas para aumentar la leche en las madres.

**Hipertensión arterial:** La hipertensión arterial (HTA) es una enfermedad crónica caracterizada por un incremento continuo de las cifras de presión sanguínea en las arterias.

**Hipoglicemiante:** Que disminuye los niveles séricos de glucosa.

**Presión arterial sistólica:** Representa la presión máxima ejercida cuando el

corazón se contrae.

**Presión arterial diastólica:** Representa la presión en las arterias cuando el corazón se encuentra en reposo.

**Presión arterial media:** Es la presión sanguínea promedio en un individuo durante un ciclo cardíaco.

**Inflorescencia:** Disposición de las flores sobre las ramas o la extremidad del tallo; su límite está determinado por una hoja normal. La inflorescencia puede presentar una sola flor, como en el caso de la magnolia o el tulipán, o constar de dos o más flores como en el gladiolo y el trigo. En el primer caso se denominan inflorescencias unifloras y en el segundo se las llama plurifloras.

**Insuficiencia cardíaca (IC):** es la incapacidad del corazón de bombear sangre en los volúmenes más adecuados para satisfacer las demandas del metabolismo mental si lo logra, lo hace a expensas de una disminución crónica de la presión de llenado de los ventrículos cardíacos

**Malondialdehído:** Es un compuesto carbonílico. En la lipoperoxidación, los radicales lipídicos son inestables y por lo tanto son descompuestos a diferentes estructuras más estables, entre ellos compuestos carbonílicos siendo el más representativo el malondialdehído (MDA).

**Metabolitos secundarios:** Compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, ya que no intervienen en el metabolismo primario de las plantas. Los metabolitos secundarios de las plantas intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente.

**Principio activo:** Sustancia con actividad farmacológica extraída de un organismo vivo que una vez purificada y/o modificada químicamente, se le denomina fármaco o medicamento.

**Pro fármaco:** Sustancia biológicamente inactiva que es metabolizada en el

organismo a una sustancia activa.

**Hipotensor:** Que disminuye los niveles de la presión arterial.

**Tóxico:** cualquier sustancia química, natural o sintética, orgánica o inorgánica que causa efectos dañinos a cualquier organismo, actuando sobre alguna acción fisiológica alterando su función de crecimiento, reproducción, etc. Su metabolismo se ve alterado y conducen a la muerte del individuo.

**MDA:** Malondialdehído.

**NO:** Oxido nítrico.

**L-NAME:** N-Nitro-L-Arginina Metil Ester.

**DL 50:** Dosis letal media.

**PAM:** Presión Arterial Media

**PAS:** Presión Arterial Sistólica

**PAD:** Presión Arterial Diastólica

**NOS:** oxido nítrico sintetasa

**HTA:** Hipertensión arterial

## **CAPITULO III MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. MATERIAL BIOLÓGICO**

#### **3.1.1. Material Botánico**

Parte aérea de la planta *Urtica magellanica* (ortiga).

#### **3.1.2. Animales de experimentación**

Ratas albinas machos de raza *Holtzman* de 2 meses de edad, con peso promedio  $220 \pm 30$  gramos.

### **3.2. MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO**

#### **3.2.1. MATERIALES DE CAMPO**

- Tijeras de podar
- Bolsas de papel craf, bolsas de polietileno
- Papel periódico
- Cuaderno de anotaciones
- Guantes de hule

#### **3.2.2. MATERIALES DE LABORATORIO**

- Vaso de precipitado 50, 100, 200 y 500 ml
- Tubos de ensayo 10, 15, 20 ml
- Matraz aforado 50, 100 y 250 ml
- Bagueta
- Pipeta Pasteur
- Embudo de vidrio
- Frasco de color ámbar
- Placas Petri
- Sonda orogastrica
- Cepo para ratas

### **3.2.3. EQUIPOS DE LABORATORIO**

- Balanza analítica con sensibilidad de 0,1g.
- Medidor de presión incruenta (LETICA Model 5002 - PANLAB)
- Estufa con termostato adaptado.
- Espectrofotómetro PRIM-SECOMAN N° 3525 RS 232 de 12V-2.5A.
- Centrífuga
- Cocina eléctrica
- Baño maria

**3.2.4. OTROS MATERIALES:** Jaulas con piso de malla, jaulas de metal, recipiente de plástico, cronometro, mallas de alambre.

### **3.2.5 FARMACO UTILIZADO**

- Enalapril (Lotrial)

### **3.2.6. REACTIVOS**

- Agua destilada
- L-NAME (Sigma)
- Cloruro de sodio (Merck)
- Fosfato monosódico  $\text{H}_2\text{NaPO}_4$
- Fosfato disódico  $\text{HNa}_2\text{PO}_4$
- Ácidotricloroacético
- Ácidotiobarbitúrico
- Ácido clorhídrico
- Hidróxido de sodio
- Ácidosulfanílico
- N-1-Naftiletilendiamina 0,1%.
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Lieberman-BurchardNinhidrina 1%
- Reactivo de Fehling A,B

### 3.2.7. RECURSOS DE INFRAESTRUCTURA PARA EL ESTUDIO

Laboratorio del Departamento de Farmacología de la facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

### 3.3. DISEÑO DE ESTUDIO

#### 3.3.1 TIPO DE ESTUDIO

El estudio es comparativo – correlacional con diseño cuasi – experimental de tratamientos múltiples.

**Comparativo:** Porque se compara el efecto hipotensor entre el extracto seco acuoso 20% (P/V) de *Urtica magellanica* y efecto hipotensor dado por el Enalapril.

**Correlacional:** Porque mide el grado de relación entre las diferentes dosis, en los grupos de experimentación. (Correlación positiva)

**Cuasi - experimental:** Porque en esta investigación se manipula deliberadamente una variable independiente para ver el efecto hipotensor del extracto seco acuoso al 20% P/V de *Urtica magellanica* (ortiga) y los sujetos no son asignados al azar a los grupos, sino que dichos grupos ya estaban formados antes del experimento (Villena Tejada; 2008)

### 3.4. CODIFICACION DEL DISEÑO DE INVESTIGACION

#### 3.4.1. EFECTO HIPOTENSOR

Para este estudio se elabora un diseño con tratamientos múltiples utilizando varios grupos.

#### EXTRACTO ACUOSO

**G:** Grupo de sujetos: animales de experimentación (ratas)

**Y:** Tratamiento (extracto seco acuoso de *Urtica magellanica*: variable independiente)

**O:** Medición a los sujetos.

**F:** Fármaco Patrón (Enalapril)

--: Sin tratamiento solo agua.--\*: Grupo control negativo con L-NAME

G <sub>1</sub>	--	O <sub>1</sub>	--	O <sub>2</sub>	--	O <sub>3</sub>	--	O <sub>4</sub>	--	O <sub>5</sub>	--	O <sub>6</sub>
G <sub>2</sub>	--*	O <sub>7</sub>	--*	O <sub>8</sub>	--*	O <sub>9</sub>	--*	O <sub>10</sub>	--*	O <sub>11</sub>	--*	O <sub>12</sub>
G <sub>3</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>13</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>14</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>15</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>16</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>17</sub>	Y <sub>1</sub>	O <sub>18</sub>
G <sub>4</sub>	Y <sub>2</sub>	O <sub>19</sub>	Y <sub>2</sub>	O <sub>20</sub>	Y <sub>2</sub>	O <sub>21</sub>	Y <sub>2</sub>	O <sub>22</sub>	Y <sub>2</sub>	O <sub>23</sub>	Y <sub>2</sub>	O <sub>24</sub>
G <sub>5</sub>	Y <sub>3</sub>	O <sub>25</sub>	Y <sub>3</sub>	O <sub>26</sub>	Y <sub>3</sub>	O <sub>27</sub>	Y <sub>3</sub>	O <sub>28</sub>	Y <sub>3</sub>	O <sub>29</sub>	Y <sub>3</sub>	O <sub>30</sub>
G <sub>6</sub>	F	O <sub>31</sub>	F	O <sub>32</sub>	F	O <sub>33</sub>	F	O <sub>34</sub>	F	O <sub>35</sub>	F	O <sub>36</sub>

### SIMBOLOGIA

**G<sub>1</sub>**: grupo blanco de ratas que recibieron agua destilada.

**G<sub>2</sub>**: Grupo control negativo con L- NAME (40 mg/Kg)

**G<sub>3</sub>**: Grupo problema que recibieron una dosis de extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* 20% (P/V) 50 mg/Kg

**G<sub>4</sub>**: Grupo problema de ratas que recibieron una dosis de extracto seco acuoso *Urtica magellanica* 20% (P/V). 100 mg/Kg

**G<sub>5</sub>**: Grupo problema de ratas que recibieron una dosis de extracto seco acuoso *Urtica magellanica* 20% (P/V). 200 mg/Kg

**G<sub>6</sub>**: Grupo problema de ratas que recibieron una dosis de Enalapril. 25 mg/Kg.

**Y<sub>1</sub>**: 50mg/Kg de extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* al 20% P/V.

**Y<sub>2</sub>**: 100mg/Kg de extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* al 20% P/V.

**Y<sub>3</sub>**: 200mg/Kg de extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* al 20% P/V.

**F**: 25mg/Kg de Enalapril (comprimido diluido en agua destilada).

O<sub>1</sub> O<sub>2</sub> O<sub>3</sub> O<sub>4</sub> O<sub>5</sub> O<sub>6</sub> O<sub>7</sub> O<sub>8</sub> O<sub>9</sub> O<sub>10</sub> O<sub>11</sub> O<sub>12</sub> O<sub>13</sub> O<sub>14</sub> O<sub>15</sub> O<sub>16</sub> O<sub>17</sub> O<sub>18</sub> O<sub>19</sub> O<sub>20</sub> O<sub>21</sub> O<sub>22</sub>

O<sub>23</sub> O<sub>24</sub> O<sub>25</sub> O<sub>26</sub> O<sub>27</sub> O<sub>28</sub> O<sub>29</sub> O<sub>30</sub> O<sub>31</sub> O<sub>32</sub> O<sub>33</sub> O<sub>34</sub> O<sub>35</sub> O<sub>36</sub> : Medida de la presión arterial utilizando el medidor de presión arterial incruenta LETICA Model 5002 – PANLAB.

## OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable		Naturaleza de la variable	Medición	Escala	Indicador	Expresión final
Variable independiente	Extracto seco acuoso al 20% P/V de la parte aérea de <i>Urtica magellanica</i> (ortiga)	Cuantitativa	Directa	De razón	Dosis administrada de extracto seco acuoso de <i>Urtica magellanica</i> .	mg/Kg de peso del animal de experimentación
	Variables dependientes	Efecto hipotensor del extracto seco acuoso al 20% P/V de <i>Urtica magellanica</i> (ortiga) en ratas.	Cuantitativa	Directa	De razón	Disminución de las Presiones Arteriales Medias, Sistólica y Diastólica.
Cuantitativa			indirecta	De razón	Incremento de los niveles de óxido nítrico en plasma de los animales de experimentación.	Absorbancia en $\mu$ moles NO/L
cuantitativa		indirecta	de razón	disminución de los niveles de malondialdehído en el suero de los animales de experimentación	nmoles MDA/ml	
Toxicidad de la planta en estudio.		cualitativa	indirecta	de razón	Normal, Estimulación, Depresión, muerte.	Número de animales muertos.

**Fuente:** Elaboración propia

### **3.5. VARIABLES IMPLICADAS**

#### **3.5.1. VARIABLES INDEPENDIENTES**

Extracto seco acuoso al 20%(p/v) de la parte aérea de *Urtica magellanica*.

##### **Definición Conceptual**

Se define como la preparación en agua de la sustancia de una planta o un animal que contiene la porción biológicamente activa sin el residuo celular.

**(Villar del Fresno, 1999)**

##### **Definición Operacional**

**1. Indicador: Dosis del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* al 20 % (p/v).**

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Medición:** Directa
- **Escala:** De Razón
- **Instrumento de medición:** Balanza Analítica
- **Procedimiento de Medición:** Se calcula la cantidad de extracto según el peso de cada uno de los animales de experimentación y luego se procede a pesar la cantidad calculada en una balanza analítica para posteriormente formar una solución adecuada para la administración oral de la dosis.
- **Unidad de Medida:** mg/Kg de peso de rata.

#### **3.5.2. VARIABLES DEPENDIENTES**

- **Efecto Hipotensor del extracto seco acuoso al 20% (P/V) de *Urtica magellanica* en ratas.**

##### **Definición conceptual**

Se define como efecto Hipotensor a la capacidad de las drogas hipotensoras de provocar una disminución de la presión arterial. **(Litter2001).**

##### **Definición Operacional**

**1. Indicador: Disminución de las Presiones Arteriales Media, Sistólica y Diastólica.**

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Medición:** Directa
- **Escala:** De Razón

- **Instrumento de la Medición:** Equipo de medición de presión arterial incruenta
  - **Procedimiento de Medición:** se colocaron las ratas en el aparato de medición de presión arterial incruenta, luego se mantuvieron las ratas máximo 15 minutos en un ambiente cerrado libre de ruidos fuertes con una temperatura de 40°C para provocar vasodilatación en la cola de las ratas.
  - **Unidad de Medida:** mmHg
- **Óxido nítrico presente en la sangre (plasma) de los animales de experimentación (ratas).**

#### **Definición conceptual**

Concentración medida del gas vasodilatador y mediador químico óxido nítrico según la técnica de Griess en plasma de rata. (Zarzuelo A. et al 2006; Miranda K. et al, 2001)

#### **Definición Operacional**

**1. Indicador:** Incremento de los niveles de Óxido nítrico en plasma de los animales de experimentación.

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
  - **Medición:** indirecta
  - **Escala:** De Razón
  - **Instrumento de la Medición:** Espectrofotómetro.
  - **Procedimiento de Medición:** se indujo la transformación del NO plasmático en nitritos que reaccionaron con sulfanilamida (SULF) formando un catión inestable que en contacto con N-(1-naftil)-etilendiamina (NEDD) formo un diazocomplejo coloreado que fue leído a 548 nm de longitud de onda.
  - **Unidad de Medida:**  $\mu$ moles NO/L
- **Malondialdehído presente en la sangre (suero) de los animales de experimentación.**

#### **Definición conceptual**

Capacidad de un agente inherente a una sustancia de origen sintético o natural

que tiene la capacidad de producir el efecto reductor y bloqueador de radicales libres indicado este en la reducción de los niveles de malondialdehído en suero de rata. (Lock de U., 1994; Tug T. et al, 2005; Cayman Chemical 2011; Cabieses F., 1993)

### **Definición Operacional**

**1. Indicador:** Disminución de los niveles Malondialdehído en suero de los animales de experimentación.

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Medición:** indirecta
- **Escala:** De Razón
- **Instrumento de medición:** Espectrofotometro.
- **Procedimiento de Medición:** se evidenció el grado de lipoperoxidación mediante la cuantificación de los niveles séricos de malondialdehído (MDA) que reaccionaron con ácido tiobarbiturico (TBA) formando un complejo coloreado que fue leído a 535 nm
- **Unidad de Medida:** nmoles MDA/ml

## **3.6 VARIABLES NO IMPLICADAS**

### **3.6.1. VARIABLES INTERVINIENTES**

Al ser un estudio cuasi experimental donde se controlan las variables externas como las del ambiente y del observador, además de que se ha de usar un diseño cuasi experimental donde las diferencias individuales pasan a segundo plano, solo se tomó en cuenta variables de los animales de experimentación (ratas), de estudio, para ubicar las unidades experimentales en un respectivo grupo tratando de hacerlos lo más homogéneos posibles.

- **De los animales de experimentación.**

#### **Edad de los animales de experimentación (ratas)**

Variable de sujeto cuya definición es el tiempo transcurrido desde el nacimiento de la unidad experimental hasta el momento de la experimentación.

#### **Peso de los animales de experimentación (ratas)**

Variable de sujeto que se define como la masa que presenta cada unidad experimental.

- **De la Planta *Urtica magellanica*.**

- Temperatura de secado de la planta en estudio.**

- Variable en el proceso de secado de la planta que se define como estado calorífico a nivel térmico del calor de un cuerpo. **(Diccionario Océano, 2008)**

- Humedad que contiene la planta en estudio.**

- Variable de la especie vegetal en el proceso de secado que se define como agua que se impregna en la planta o vaporizada que se mezcla con el aire. **(Diccionario Océano, 2008).**

- Tipo de recolección de *Urtica magellanica***

- Recolección con mucha precaución, utilizando guantes y tijeras.

### **3.6.2 CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION**

#### **MUESTRA VEGETAL**

- ❖ **Criterios de Inclusión**

- Se recolectaron todas aquellas plantas integra y antes de la maduración completa entre raíces hojas, tallos de *Urtica mejellanica* (ortiga), además que estén libres de contaminación por insecticidas exceptuándose las partes dañadas de las plantas.

- ❖ **Criterios de Exclusión**

- Se excluye las muestras vegetales que estén en mal estado, con contaminación parasitaria, muestras muy tiernas y aquellas que están muy maduras.

#### **ANIMALES DE EXPERIMENTACION**

- ❖ **CRITERIOS DE INCLUSION**

- Se trabajara con ratas albinas machos de la cepa *Holtzmann* con peso promedio entre  $220 \pm 30$  gramos.

- ❖ **CRITERIOS DE EXCLUSION**

- Se excluirán ratas albinas de la cepa *Holtzmann* de bajo peso y peso elevado.

### 3.6.3 DISEÑO METODOLOGICO PARA EL METODO DE TOXICIDAD AGUDA

#### A. PARA LA DETERMINACION DE LA DL50 POR EL METODO DE LORKE

**FASE I:** los tres grupos de la pre prueba estarán formados por 3 animales de experimentación según la tabla del método de Lorke.

<b>G<sub>1</sub></b>	<b>X<sub>1</sub></b>	<b>O<sub>1</sub></b>	<b>O<sub>4</sub></b>	<b>O<sub>7</sub></b>	<b>O<sub>10</sub></b>	<b>O<sub>13</sub></b>	<b>O<sub>16</sub></b>	<b>O<sub>19</sub></b>	<b>O<sub>22</sub></b>	<b>O<sub>25</sub></b>	<b>O<sub>28</sub></b>	<b>O<sub>31</sub></b>	<b>O<sub>34</sub></b>
<b>G<sub>2</sub></b>	<b>X<sub>2</sub></b>	<b>O<sub>2</sub></b>	<b>O<sub>5</sub></b>	<b>O<sub>8</sub></b>	<b>O<sub>11</sub></b>	<b>O<sub>14</sub></b>	<b>O<sub>17</sub></b>	<b>O<sub>20</sub></b>	<b>O<sub>23</sub></b>	<b>O<sub>26</sub></b>	<b>O<sub>29</sub></b>	<b>O<sub>32</sub></b>	<b>O<sub>35</sub></b>
<b>G<sub>3</sub></b>	<b>X<sub>3</sub></b>	<b>O<sub>3</sub></b>	<b>O<sub>6</sub></b>	<b>O<sub>9</sub></b>	<b>O<sub>12</sub></b>	<b>O<sub>15</sub></b>	<b>O<sub>18</sub></b>	<b>O<sub>21</sub></b>	<b>O<sub>24</sub></b>	<b>O<sub>27</sub></b>	<b>O<sub>30</sub></b>	<b>O<sub>33</sub></b>	<b>O<sub>36</sub></b>

**Dónde:**

**G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>:** Grupos experimentales formados por 3 ratas albinas

**X<sub>1</sub>:** Dosis de 10 mg /Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica*.

**X<sub>2</sub>:** Dosis de 100 mg /Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica*.

**X<sub>3</sub>:** Dosis de 1000 mg /Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica*.

**G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a los 5 minutos

**O<sub>4</sub>, O<sub>5</sub>, O<sub>6</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a los 10 minutos

**O<sub>7</sub>, O<sub>8</sub>, O<sub>9</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a los 15 minutos

**O<sub>10</sub>, O<sub>11</sub>, O<sub>12</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a los 30 minutos.

**O<sub>13</sub>, O<sub>14</sub>, O<sub>15</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a los 60 minutos.

**O<sub>16</sub>, O<sub>17</sub>, O<sub>18</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a las 2 Horas.

**O<sub>19</sub>, O<sub>20</sub>, O<sub>21</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a las 6 Horas.

**O<sub>22</sub>, O<sub>23</sub>, O<sub>24</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a las 24 Horas.

**O<sub>25</sub>, O<sub>26</sub>, O<sub>27</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a los 2 Días.

**O<sub>28</sub>, O<sub>29</sub>, O<sub>30</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a los 4 Días.

**O<sub>31</sub>, O<sub>32</sub>, O<sub>33</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a los 7 Días.

**O<sub>34</sub>, O<sub>35</sub>, O<sub>36</sub>:** observación de efecto tóxico agudos o muerte a los 14 Días.

**FASE II:** Los grupos de la segunda prueba estarán formados por un único animal de experimentación. Las dosis, se determinarán con ayuda de la tabla de la Fase 2 y estarán en función de los resultados de la 1º Fase.

<b>G<sub>1</sub></b>	<b>X<sub>1</sub></b>	O <sub>1</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>9</sub>	O <sub>13</sub>	O <sub>17</sub>	O <sub>21</sub>	O <sub>25</sub>	O <sub>29</sub>
<b>G<sub>2</sub></b>	<b>X<sub>2</sub></b>	O <sub>2</sub>	O <sub>6</sub>	O <sub>10</sub>	O <sub>14</sub>	O <sub>18</sub>	O <sub>22</sub>	O <sub>26</sub>	O <sub>30</sub>
<b>G<sub>3</sub></b>	<b>X<sub>3</sub></b>	O <sub>3</sub>	O <sub>7</sub>	O <sub>11</sub>	O <sub>15</sub>	O <sub>19</sub>	O <sub>23</sub>	O <sub>27</sub>	O <sub>31</sub>
<b>G<sub>4</sub></b>	<b>X<sub>4</sub></b>	O <sub>4</sub>	O <sub>8</sub>	O <sub>12</sub>	O <sub>16</sub>	O <sub>20</sub>	O <sub>24</sub>	O <sub>28</sub>	O <sub>32</sub>

Dónde:

**G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>:** Grupos experimentales formados por 1 rata albina

**X<sub>1</sub>:** Dosis de A mg /Kg del extracto seco acuoso *Urtica magellanica*.

**X<sub>2</sub>:** Dosis de B mg /Kg del extracto seco acuoso *Urtica magellanica*.

**X<sub>3</sub>:** Dosis de C mg /Kg del extracto seco acuoso *Urtica magellanica*.

**O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, O<sub>4</sub>:** observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 5 minutos

**O<sub>5</sub>, O<sub>6</sub>, O<sub>7</sub>, O<sub>8</sub>:** observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 10 minutos

**O<sub>9</sub>, O<sub>10</sub>, O<sub>11</sub>, O<sub>12</sub>:** observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 15 minutos.

**O<sub>13</sub>, O<sub>14</sub>, O<sub>15</sub>, O<sub>16</sub>:** observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 30 minutos.

**O<sub>17</sub>, O<sub>18</sub>, O<sub>19</sub>, O<sub>20</sub>:** observación de efecto tóxico agudo o muerte a la 1 hora.

**O<sub>21</sub>, O<sub>22</sub>, O<sub>23</sub>, O<sub>24</sub>:** observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 2 Horas.

**O<sub>25</sub>, O<sub>26</sub>, O<sub>27</sub>, O<sub>28</sub>:** observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 6 Horas.

**O<sub>29</sub>, O<sub>30</sub>, O<sub>31</sub>, O<sub>32</sub>:** observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 24 Horas.

## **VARIABLE DEPENDIENTE**

### **TOXICIDAD AGUDA**

#### **DEFINICION CONCEPTUAL**

Efecto nocivo de un agente toxico, que se manifiesta en segundos, minutos, horas o días después de su administración por vía oral .La toxicidad aguda se manifiesta con la dosis letal media (DL50).

#### **DEFINICION OPERACIONAL**

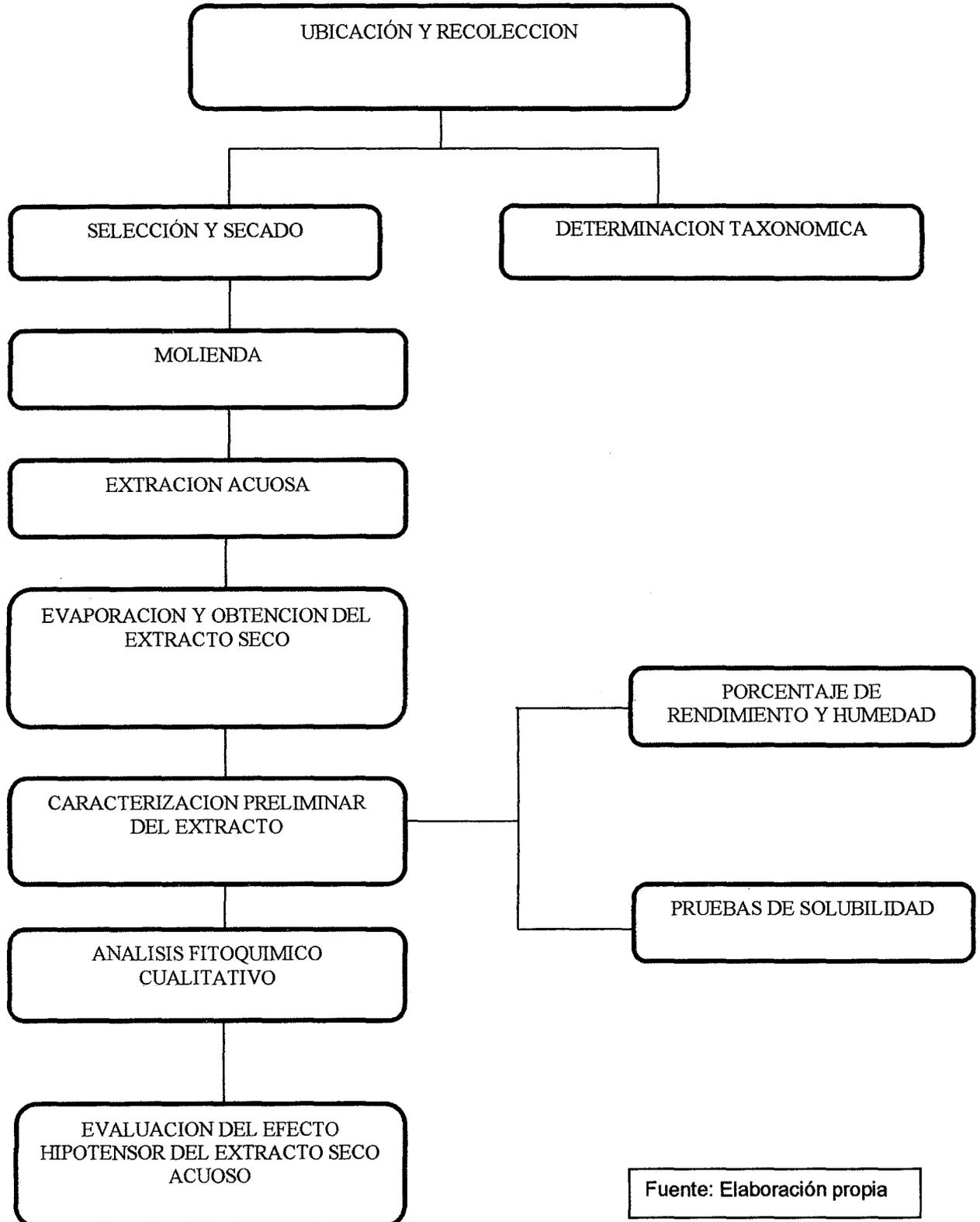
##### **Dosis letal media (DL50)**

- **Naturaleza** : Cuantitativa.
- **Medición** : Directa.
- **Indicadores:** Normal, Estimulación, Depresión, muerte.
- **Unidad de medida:** mg.
- **Escala de medición** : Razón
- **Instrumento de medición** : Observación del número de muertes
- **Procedimiento de medición:** Administración del extracto a diferentes dosis.
- **Expresión final de la variable:** Número de animales muertos.

### 3.7 PROCEDIMIENTO

#### Flujograma N° 3.1

Para la preparación de la muestra, extracción, identificación fitoquímica y efecto antihipertensivo de *Urtica magellanica* (ortiga) y toxicidad aguda.



## **IDENTIFICACION TAXONOMICA**

La identificación taxonómica de la planta se realizó en el Herbario Vargas de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSAAC.

### **3.7.1. MUESTREO Y PREPARACION DE LA MUESTRA VEGETAL**

#### **3.7.1.1. RECOLECCIÓN**

La planta en estudio fue recolectada en la localidad de Choquepata – Oropesa - Quispicanchis, Departamento del Cusco, Perú. Se recolectó la planta entera en su estado silvestre (hojas, tallos y flores) sin raíz.

#### **3.7.1.2. SECADO DEL MATERIAL**

El material colectado, (parte aérea de la planta en estudio) para el análisis fue sometido a un proceso de secado en malla de alambre en un área sombreada y ventilada a temperatura ambiente (20°C promedio) hasta obtener muestra seca. Una vez seca la muestra se realizó la molienda en un molino de granos.

#### **3.7.1.3. DETERMINACION DE LA HUMEDAD**

Se realizó por triplicado en placas petri con 5 gr de muestra fresca (parte aérea), las mismas que fueron introducidas a la estufa a una temperatura de 40°C hasta peso constante para luego determinar el porcentaje de humedad mediante la siguiente relación. (Villar del Fresno, 1999).

$$\%H = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

**Dónde:**            %H= porcentaje de humedad

                      M<sub>1</sub>= peso de muestra fresca

                      M<sub>2</sub>= peso de muestra seca

#### **3.7.1.4. OBTENCION DEL EXTRACTO**

Para los ensayo de la actividad farmacológica se preparó el extracto a partir del material seco y molido.

#### **PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Urtica magellanica* Y ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO.**

Para la preparación del extracto acuoso se utilizó la muestra seca pulverizada en una proporción del 20% (P/V) (Arroyo J. et al., 2004) para lo cual se procedió a la infusión de dicha muestra y se mantuvo en ebullición durante 5 minutos, tal como es usada tradicionalmente, se separa del fuego y se dejó enfriar durante 30 minutos. El solvente de la infusión se evaporó a una temperatura constante de 40 °C hasta obtener un residuo de peso constante, el extracto acuoso seco se conservó a una temperatura de 4 a 8 °C en un frasco ámbar herméticamente cerrado (Hernández F. et al., 1990).

#### **3.7.1.5 ANALISIS FITOQUIMICO CUALITATIVO**

El análisis fitoquímico cualitativo se realizó mediante pruebas fisicoquímicas de caracterización según Villar del Fresno, mediante cambios de coloración o formación de precipitados (tabla 1). Este análisis se realizó en el laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNSAAC.

Tabla 1. Ensayos del análisis fitoquímico cualitativo

REACTIVOS	METABOLITOS PRIMARIOS Y/O SECUNDARIOS
Tricloruro de aluminio	Flavonoides
Magnesio + HCl (Shinoda)	Flavonoides
Tricloruro férrico 1%	Compuestos Fenólicos
Benedict	Carbohidratos
Gelatina – sal 1%	Taninos
Dragendorff	Alcaloides
Mayer	Alcaloides
Lieberman – Burchard	Esteroides
Fehling A, B	Azucares reductores
Ninhidrina 1%	Aminoácidos
Prueba de la espuma	Saponinas

Fuente: Elaboración propia

### 3.7.1.5 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Para realizar las pruebas de solubilidad se tomó una muestra representativa del extracto acuoso seco al 20 % (p/v) de la planta, en diferentes tubos de ensayo a los cuales se les agregó un ml de solvente, de diferente polaridad: agua destilada, metanol, etanol 70% acetona, acetato de etilo, cloroformo, hexano. (Villar del Fresno, 1999)

### **3.7.2 ESTUDIO FARMACOLOGICO**

#### **3.7.2.1. DETERMINACIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR DEL EXTRACTO SECO ACUOSO DE *Urtica magellanica* (ortiga) EN RATAS.**

##### **PREPARACION DEL PATRON**

Triturar la tableta (Enalapril) en un mortero, realizar los cálculos según el peso de cada animal de experimentación (rata), y administrar una dosis de 25mg/Kg de peso.

##### **3.7.2.2. INDUCCIÓN DE LA HIPERTENSIÓN**

La inducción de la hipertensión en las ratas se realizó por el método descrito por Sharifi (Phalow M., 1985) Ramírez (Litter M., 2001) que consiste en la administración de N-nitro-L-Arginina Metil Ester (L-NAME) a dosis de 40 mg/kg/día por vía oral. Este periodo de inducción de la hipertensión se realizó por 5 días.

##### **3.7.2.3. MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL**

Para la medición de la presión arterial se utilizó el medidor de presión arterial incruenta LETICA Model 5002 - PANLAB, un instrumento con memoria basado en un microprocesador específico diseñado para realizar la medición indirecta de la presión sanguínea en animales de experimentación y que permite obtener valores de presión arterial sistólica (PS), presión arterial diastólica (PD) y presión arterial media (PAM).

Para el inicio de la medida de la presión arterial todos los animales de experimentación fueron acondicionados al ambiente de laboratorio por una semana con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas a una temperatura de aproximadamente 23 a 25 °C, de igual manera recibieron alimentación balanceada y agua. La medición se realizó colocando al animal de experimentación en un cepo para ratas (previo acondicionamiento del animal en el cepo por una semana), la temperatura del ambiente oscilo entre 30 a 35 °C en forma constante para poder producir la dilatación de la cola del animal;

se colocó el sensor que presenta el instrumento de medición de presión arterial incruenta en el tercio medio de la cola del animal y se realizó 5 mediciones y el promedio de estas fue el resultado de la medición de cada animal de experimentación. Los datos de presión sistólica, presión diastólica y presión arterial media fueron expresados en mmHg.

### 3.7.2.4. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR DEL EXTRACTO SECO ACUOSO DE *Urtica magellanica* (Ramírez J., 2006).

Para la determinación del efecto hipotensor se comenzó privando de alimentos 12 horas antes del experimento. Se utilizó 36 ratas que fueron marcadas y distribuidas al azar en 06 grupos de 06 animales (tabla 2) a quienes se les midió la presión arterial antes y después de la inducción con L-NAME, iniciando la medición a una misma hora. El tratamiento se inició al sexto día post-inducción durante 30 días consecutivos a una misma hora por la mañana, midiendo la presión arterial cada 5 días.

Tabla 2. Distribución de grupos para la determinación del efecto hipotensor

Grupo	Nº de Animales	Tratamiento	Dosis	Vía de Administración
1*	06	Agua destilada	2 ml/Kg <sup>A</sup>	Oral
2**	06	Agua destilada	2 ml/Kg <sup>A</sup>	Oral
3	06	Extracto acuoso seco	50 mg/kg	Oral
4	06	Extracto acuoso seco	100 mg/kg	Oral
5	06	Extracto acuoso seco	200 mg/kg	Oral
6	06	Enalapril	25 mg/kg <sup>R</sup>	Oral

\* Grupo control sin L-NAME, \*\* Grupo control con L-NAME.

(Ramírez J. 2006; Arroyo J. et al., 2004)

### **3.7.2.5 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE ÓXIDO NÍTRICO Y DE MALONDIALDEHIDO (MDA) (Chávez et al, 2003)**

La determinación del óxido nítrico y de malondialdehido se realizo en el día 30 a todos los grupos de animales que se usaron para la determinación del efecto hipotensor.

#### **DETERMINACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO**

El óxido nítrico se determinó a través de su producto de degradación, los nitritos mediante diazotización. El suero fue homogeneizado con HCL 2N, luego centrifugado a 6000 rpm durante 10 minutos con ácido sulfanílico 1% para la desproteización, se agregó N-1-naftil-etilendiamina 0,1% y se incubo durante 30 minutos más. La absorbancia fue medida a 546 nm por espectrofotometría.

#### **DETERMINACIÓN DEL MALODIALDEHIDO (MDA)**

La determinación del MDA (producto final de lipoperoxidación) (**Lock de U., 2008**) fue a través de la formación de derivados del ácido tiobarbitúrico. Se realizo la precipitación de las proteínas séricas con ácido tricloroacético al 20% para la liberación del MDA unido a las proteínas, se añadió el ácido tiobarbitúrico 0,67% para producir el complejo MDA-ácidotioabarbitúrico y la absorbancia fue medida a 535 nm por espectrofotometría.

### **3.7.2.6. PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA POR VIA ORAL USANDO EL METODO DE LORKE PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA (DL50)**

Este método propone la determinación de toxicidad aguda en dos pasos. Inicialmente es necesario determinar el rango aproximado de toxicidad aguda. Esto se logra administrando dosis diferentes al animal, por ejemplo 10,100 y 1000 mg/Kg por vía oral. Los resultados muestran si una sustancia es muy tóxica, tóxica, poco tóxica, o débilmente tóxica. Para esta primera fase se utilizaron tres animales por cada nivel de dosis. El resultado de esta primera

etapa es utilizado para determinar las dosis subsecuentes experimentales.

**FASE I:** Los tres grupos de la pre prueba estuvieron formados por 3 animales de experimentación según la tabla del método de Lorke. (TABLA N°4)

**FASE II:** Los grupos de la segunda prueba estuvieron formados por un único animal de experimentación. Las dosis, se determinaron con ayuda de la tabla de la Fase 2 (TABLA N° 4) y estuvieron en función de los resultados de la 1° Fase.

**TABLA N°4  
DISTRIBUCION DE GRUPOS PARA LAS PRUEBAS DE TOXICIDAD  
AGUDA**

Determinación de la DL50 del extracto seco acuoso en ratas según el método de Lorke.				
Tipo de extracto	Primera Fase		Segunda Fase	
	Dosis (mg/Kg)	Mortalidad	Dosis (mg/Kg)	Mortalidad
Extracto seco acuoso de <i>Urtica magellanica</i> (ortiga)	10	0/3	A	0/1
	100	0/3	B	0/1
	1000	0/3	C	0/1

La DL50 se determina de la siguiente manera: se obtiene el promedio geométrico de las dosis para las cuales se encuentren 0/1 y 1/1 muertes de manera subsecuentes en la segunda prueba.

**Fuente:** Lorke, Dietrich. A New Approach to Practical Acute Toxicity Testing. Arch Toxicol 54:275-287, 1983(54)

Basado en estas consideraciones y en experiencias prácticas se tiene la siguiente tabla, utilizada para determinar las nuevas dosis en el segundo test en el cada grupo está formado por un único ratón.

TABLA N° 5

<b>TABLA PARA DETERMINAR LAS NUEVAS DOSIS EN EL SEGUNDO TEST DE LORKE</b>						
Dosis en mg/Kg Resultados de l investigación inicial			Dosis escogidas para el segundo test			
10	100	1000				
0/3*	0/3	0/3		1,600	2,900	5,000
0/3	0/3	1/3	600	1,000**	1,600	2,900
0/3	0/3	2/3	200	400	800	1,600
0/3	0/3	3/3	140	225	370	600
0/3	1/3	3/3	50	100**	200	400
0/3	2/3	3/3	20	40	80	160
0/3	3/3	3/3	15	25	40	60
1/3	3/3	3/3	5	10**	20	40
2/3	3/3	3/3	2	4	8	16
3/3	3/3	3/3	1	2	4	8

\* Numero de animales que mueren / número de animales usados, \*\* Los resultados del primer test son considerados para estas dosis. Fuente: Lorke

### 3.7.2.7. ANALISIS ESTADÍSTICO

La diferencia entre los grupos tratados fueron determinados mediante el análisis de varianza ANOVA, test de Student y test de Duncan en el programa estadístico SPSS (Statistical Package for Socials Sciences), versión 15.0 en español, siendo considerado significativo un  $p < 0,05$ .

## CAPITULO IV

### RESULTADOS

#### ENSAYOS PRELIMINARES

##### 4.1.1 Determinación del Porcentaje de Humedad de *Urtica magellanica* (ortiga)

Cuadro N° 4.1: Resultados del porcentaje de Humedad

Peso de Muestra	I	II	III
Fresca (M <sub>1</sub> )	4.850	4.845	4.860
Seca (M <sub>2</sub> )	0.885	0.890	0.970
%H	81.75 %	81.63%	80.04%
Promedio de %H	81.14		

Fuente propia: Laboratorio de Industria farmacéutica en el pabellón de Química.

Porcentaje de humedad: 81.14 %

#### **Análisis y Discusión**

Porcentaje de humedad: 81.14 %

El alto contenido de agua de esta planta hace importante el proceso de secado para eliminar el agua libre, porque de esta manera se interrumpen los procesos de degradación de metabolitos causados por la actividad enzimática, proliferación bacteriana, hongos, levadura, reacciones de oxidación y de hidrólisis. (Agapito F., 2005). La ortiga a pesar de tener un alto contenido de humedad es fácil de secar debido a que fácilmente libera su contenido de agua.

#### 4.1.2 Porcentaje de Rendimiento

Extracto acuoso al 20 % (p/v) de *Urtica magellanica* (ortiga)

$$\% \text{ EEP} = \frac{P_f}{P_i} \times 100$$

Dónde:

- %EEP = Porcentaje de extracción de extracto seco
- $P_f$  = Peso final (extracto seco)
- $P_i$  = Peso inicial (muestra seca pulverizada)

#### **Análisis y Discusión**

Porcentaje de rendimiento: 18.57 %

El porcentaje de rendimiento obtenido con agua 20% (p/v), es un valor considerable frente a los resultados obtenido por Arestegui y Sanchez de *Urtica magellanica* (ortiga). Por lo tanto se deduce que el agua extrae mejor los metabolitos secundarios de *Urtica magellanica* (ortiga); lo que se puede verificar con el coeficiente de solubilidad presentado en el cuadro 4.2

#### 4.1.3 Pruebas de solubilidad

##### **Extracto seco acuoso al 20% (p/v) de *Urtica magellanica* (ortiga)**

Las pruebas de solubilidad se realizaron en diferentes solventes de polaridad creciente. Al realizar las pruebas de solubilidad de extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* se obtuvieron los siguientes resultados detallados en el siguiente cuadro.

**Cuadro N° 4.2: Coeficiente de solubilidad del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica*.**

Solventes de polaridad creciente	Resultados	Naturaleza del solvente
Hexano	45%	Solución apolar
Benceno	47%	Solución apolar
Éter etílico	50%	Intermedio
Cloroformo	44%	Intermedio
Acetato de etilo	46%	Solución polar
Acetona	42%	Solución polar
Metanol	70%	Solución polar
Etanol 70%	75%	Solución polar
Etanol 90%	80%	Solución polar
Agua	85%	Solución polar
Agua (tamponada pH 7)	75%	

**Fuente propia: Elaboración propia**

##### **Análisis y Discusión:**

En la determinación del coeficiente de solubilidad del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* se utilizaron solventes de polaridad creciente que permite deducir la presencia del tipo de grupo de metabolitos secundarios en el extracto, teniendo en cuenta que los diferentes solventes solubilizan según su polaridad a los componentes similares de la planta. Se observa que es poco soluble en hexano, benceno y cloroformo; y muy soluble en etanol y agua.

#### 4.1.4 Análisis Fitoquímico Cualitativo

En la determinación de los metabolitos secundarios realizados en el extracto acuoso seco de *Urtica magellanica*, se obtuvo los siguientes resultados que se pueden observar en el siguiente cuadro N° 4.3

**Cuadro N° 4.3: Determinación Cualitativa de metabolitos secundarios.**

<b>Análisis Fitoquímico Cualitativo</b>		
<b>Componentes</b>	<b>Reactivos de Prueba</b>	<b>Resultados</b>
Esteroides	Lieberman Burchard	++-
Triterpenoides	Lieberman Burchard	+++
Resinas	Acetato de Plomo	+--
Aminoácidos	Ninhidrina	++-
Compuestos fenólicos	Cloruro Ferrico 1%	+++
Taninos	Gelatina, NaCl	++-
Flavonoides	Reactivo de Shinoda	+++
Saponinas	Pruebas de Espuma	+--
Quinonas	Borntrager	---
Alcaloides	Reactivo de Dragendorf	++-
Glicosidos	Soluc. Yodo 0.1N	+--
Azúcares reductores	Felhing A y B	---

**Fuente propia: Elaboración propia**

<b>Leyenda</b>	
+++	Abundante cantidad
++-	Moderada cantidad
+--	Escasa cantidad
---	Negativo

#### **Análisis y Discusión**

En el análisis fitoquímico se determinó la presencia de **(cuadro 4.3)**

- Abundante cantidad de flavonoides que para su identificación se realizó la reacción de Shinoda, la cual presentó una coloración rojo cereza que de acuerdo a Angel Villar del Fresno nos indica la presencia de flavonoides.

- Al realizar la prueba de Lieberman Burchard dio una coloración rojo purpura prueba positiva para triterpenos.
- En la determinación de taninos se observó la presencia de un moderado presipitado lo cual nos indica la prueba positiva para taninos. (Villar del Fresno A., 1999)
- El análisis fitoquímico también indica la presencia de abundante cantidad de compuestos fenólicos, aminoácidos y regular cantidad de alcaloides, saponinas y no se evidencio la presencia de azúcares reductores y quinonas. Con estos resultados se contribuye al conocimiento fitoquímico de esta especie.

## **4.2 ESTUDIO FARMACOLOGICO**

### **4.2.1 DETERMINACION DEL EFECTO HIPOTENSOR DEL EXTRACTO SECO ACUOSO DE *Urtica magellanica* (ortiga) EN RATAS.**

#### **PREPARACION DEL PATRON**

Se Trituró la tableta (Enalapril) en un mortero, se realizaron los cálculos según el peso de cada animal de experimentación (rata), y se administró el tratamiento por la mañana (a una misma hora) a una dosis de 25mg/Kg de peso. (Al grupo control positivo).

Datos:

- Tableta: Enalapril (Lotrial) 10 mg.
- Peso de 1 tableta: 0.1589 gr.
- Se diluye 1 tableta de 0.1589 en 0.5 ml de agua destilada.

#### **INDUCCION DE LA HIPERTENSION**

Se realizó con la administración de L-NAME a los grupos de experimentación (No el blanco) por la mañana a una dosis de 40mg/Kg/día por vía oral durante 5 días consecutivos.

**CUADRO N° 4.4: CALCULO DE LA ADMINISTRACION DE L-NAME.**

GRUPO	N°DE RATAS	PESO	L-NAME 40MG/KG	L-NAME 50mg/ml
Blanco	1	226	0	0
	2	232	0	0
	3	260	0	0
	4	268	0	0
	5	267	0	0
	6	250	0	0
Con L-NAME	1	220	8.8	0.176
	2	247	9.88	0.1976
	3	226	9.04	0.1808
	4	229	9.16	0.1832
	5	217	8.68	0.1736
	6	258	10.32	0.2064
Extracto 50mg/Kg	1	239	9.56	0.1912
	2	262	10.48	0.2096
	3	249	9.96	0.1992
	4	251	10.04	0.2008
	5	256	10.24	0.2048
	6	245	9.8	0.196
Extracto 100mg/Kg	1	220	8.8	0.176
	2	253	10.12	0.2024
	3	256	10.24	0.2048
	4	247	9.88	0.1976
	5	255	10.2	0.204
	6	229	9.16	0.1832
Extracto 200mg/Kg	1	250	10	0.2
	2	238	9.52	0.1904
	3	220	8.8	0.176
	4	246	9.84	0.1968
	5	243	9.72	0.1944
	6	270	10.8	0.216
Enalapril 25mg/Kg	1	211	8.44	0.1688
	2	237	9.48	0.1896
	3	245	9.8	0.196
	4	245	9.8	0.196
	5	241	9.64	0.1928
	6	237	9.48	0.1896

**Fuente: Elaboración propia:** el grafico muestra el cálculo para la dosificación del L-NAME a los animales de experimentación.

**CUADRO N° 4.5: REGISTRO DE LAS PRESIONES ARTERIALES MEDIAS DE LAS RATAS DURANTE EL TRATAMIENTO.**

	GRUPO	PAM-B	PAM-PI	PAM-1	PAM-2	PAM-3	PAM-4	PAM-5
Control sin L-NAME	1	55.20	58.80	63.00	62.80	65.00	59.73	61.27
	2	59.40	60.40	62.53	61.20	65.20	57.13	60.13
	3	59.80	60.87	59.87	67.80	62.87	58.60	62.33
	4	57.40	61.60	62.40	60.87	62.60	59.80	63.13
	5	60.00	61.80	62.47	60.47	60.40	61.27	59.33
	6	58.40	59.40	62.87	63.33	61.93	59.47	61.67
Control con L-NAME	1	58.40	125.00	113.00	111.47	110.67	111.73	111.20
	2	55.20	123.40	112.17	109.13	110.87	113.53	116.27
	3	59.20	123.80	112.50	107.47	111.27	113.80	116.53
	4	55.80	124.80	109.58	112.87	112.60	112.67	112.20
	5	60.00	121.80	113.00	115.67	112.80	114.13	115.80
	6	54.40	124.00	114.08	110.60	112.07	114.13	114.87
Enalapril 25/Kg	1	61.20	123.20	88.33	54.93	77.07	67.49	62.00
	2	60.80	124.40	89.33	55.87	74.87	67.15	60.07
	3	61.80	125.00	88.67	55.20	77.20	67.48	59.20
	4	58.60	120.20	89.07	55.40	78.00	67.00	60.27
	5	59.40	124.80	88.93	54.60	78.20	67.73	60.80
	6	59.40	121.20	89.27	56.73	76.20	70.45	60.00
Extracto 200mg/Kg	1	60.80	123.00	91.93	80.13	81.33	75.33	59.80
	2	60.80	123.80	93.47	79.00	81.13	74.67	60.93
	3	60.60	123.40	88.60	79.53	84.27	74.40	58.40
	4	59.60	124.60	87.73	81.67	82.20	77.67	57.53
	5	59.80	125.20	91.60	79.93	83.27	75.80	60.20
	6	61.00	124.80	92.47	81.07	82.60	78.13	59.33
Extracto 100mg/Kg	1	59.20	120.60	103.20	84.47	79.27	66.93	61.47
	2	58.00	123.60	107.27	84.20	79.20	65.20	62.33
	3	58.40	124.00	105.07	84.60	82.20	66.73	62.27
	4	61.53	123.20	106.20	84.60	79.00	66.93	62.20
	5	59.00	123.60	109.13	83.40	78.73	66.07	60.07
	6	59.00	125.20	104.13	85.13	80.13	67.00	60.00
Extracto 50mg/Kg	1	57.40	122.20	95.07	91.93	76.53	70.07	64.87
	2	61.80	125.53	97.07	91.60	76.87	67.60	63.47
	3	62.40	125.93	98.73	92.60	78.07	68.87	63.73
	4	61.60	126.87	99.40	91.67	78.07	70.20	63.60
	5	63.20	122.33	96.07	94.73	76.73	69.33	64.07
	6	61.00	123.53	96.13	94.47	77.80	69.80	62.47

Fuente: Elaboración Propia **Leyenda:** *Control sin L-NAME:* Blanco; *Control con L-NAME:* Control Negativo; *Enalapril 25/Kg:* Control Positivo; *Extractos:* 200 mg/Kg; 100 mg/Kg; 50 mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga). **PAM-B:** presión arterial media basal; **PAM-PI:** presión arterial media post inducción; **PAM-1-5:** presión arterial media en la primera, segunda, tercera, cuarta y quinta medición.

**CUADRO N° 4.6: REGISTRO DE LAS PRESIONES ARTERIALES SISTOLICAS DE LAS RATAS DURANTE EL TRATAMIENTO**

	GRUPO	PAS-B	PAS-PI	PAS-1	PAS-2	PAS-3	PAS-4	PAS-5
<b>Control sin L-NAME</b>	1	67.80	68.00	70.40	71.20	71.40	69.20	70.60
	2	67.00	69.80	68.20	70.80	72.00	66.20	67.60
	3	69.00	69.40	67.20	70.60	70.20	67.80	70.60
	4	67.00	71.00	70.60	70.20	69.40	69.00	71.40
	5	68.20	70.40	70.00	69.00	69.20	69.80	67.60
	6	67.20	68.80	68.60	71.60	68.60	68.40	69.80
<b>Control con L-NAME</b>	1	67.80	139.00	131.80	131.60	124.40	124.00	122.00
	2	67.00	137.40	130.40	129.00	124.60	125.40	126.80
	3	68.40	136.40	131.80	127.20	127.80	125.00	127.20
	4	65.00	139.80	130.20	132.20	127.80	125.60	123.00
	5	68.00	137.80	132.40	136.60	128.40	126.40	125.40
	6	65.80	138.80	131.20	130.60	127.40	126.00	125.00
<b>Enalapril 25/Kg</b>	1	70.00	138.00	98.20	71.20	89.60	77.40	70.00
	2	69.20	138.60	99.60	70.80	87.40	77.20	68.60
	3	71.00	139.00	100.80	72.80	89.60	77.20	67.60
	4	68.80	134.00	99.60	72.20	90.80	76.00	69.60
	5	69.20	138.20	99.60	71.40	91.00	77.00	70.00
	6	69.00	134.40	101.40	71.80	89.00	79.80	69.20
<b>Extracto 200mg/Kg</b>	1	69.40	137.40	111.80	89.60	91.20	86.40	71.40
	2	69.60	137.60	113.20	87.80	91.80	85.60	72.40
	3	69.40	137.60	108.20	88.60	96.00	86.00	70.00
	4	67.80	139.60	107.60	91.40	93.00	88.60	69.00
	5	68.80	138.40	111.20	89.40	94.60	87.40	71.00
	6	70.40	138.20	112.60	91.60	95.00	90.00	70.80
<b>Extracto 100mg/Kg</b>	1	67.20	135.40	114.40	97.00	90.20	76.00	70.80
	2	67.00	136.20	117.80	97.00	89.20	75.60	72.20
	3	66.60	137.00	115.20	97.40	93.40	76.20	71.20
	4	67.60	136.80	116.20	96.80	88.60	75.60	70.60
	5	67.80	138.20	120.20	95.40	87.60	75.40	69.00
	6	70.40	139.00	114.00	97.80	90.40	76.20	68.40
<b>Extracto 50mg/Kg</b>	1	65.40	136.20	118.80	112.60	87.60	80.20	75.40
	2	69.40	140.00	122.80	111.60	87.80	78.40	74.80
	3	69.80	142.80	122.20	112.20	89.00	78.60	74.40
	4	68.20	141.20	123.80	112.60	89.00	80.20	75.20
	5	69.40	136.80	117.80	114.20	88.20	79.20	75.00
	6	70.00	139.60	119.60	114.20	88.60	79.80	74.20

Fuente: Elaboración Propia **Leyenda:** *Control sin L-NAME:* Blanco; *Control con L-NAME:* Control Negativo; *Enalapril 25/Kg:* Control Positivo; *Extractos:* 200 mg/Kg; 100 mg/Kg; 50 mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga). **PAS-B:** presión arterial sistólica basal; **PAS-PI:** presión arterial sistólica post inducción; **PAS-1-5:** presión arterial sistólica en la primera, segunda, tercera, cuarta y quinta medición.

**CUADRO N° 4.7: REGISTRO DE LAS PRESIONES ARTERIALES  
DIASTOLICA DE LAS RATAS DURANTE EL TRATAMIENTO**

	GRUPO	PAD-B	PAD-PI	PAD-1	PAD-2	PAD-3	PAD-4	PAD-5
Control sin L- NAME	1	53.80	54.40	56.60	58.60	61.80	55.00	56.60
	2	56.20	56.20	55.20	56.40	61.80	52.60	56.40
	3	56.80	56.80	53.40	57.40	59.20	54.00	58.20
	4	54.00	57.40	57.40	56.20	59.20	55.20	59.00
	5	58.60	57.80	57.20	56.20	56.00	57.00	55.20
	6	55.00	54.80	56.00	59.20	58.60	55.00	57.60
Control con L- NAME	1	57.20	118.20	109.80	101.40	103.80	105.60	105.80
	2	51.40	117.20	110.20	99.20	104.00	107.60	111.00
	3	57.80	117.80	108.20	97.60	103.00	108.20	111.20
	4	55.40	117.60	105.20	103.20	105.00	106.20	106.80
	5	57.20	114.20	111.40	105.20	105.00	108.00	111.00
	6	54.40	117.20	111.00	100.60	104.40	108.20	109.80
Enalapril 25/Kg	1	57.00	116.20	83.40	46.80	70.80	62.20	58.00
	2	57.20	117.60	84.20	48.40	68.60	62.00	55.80
	3	57.80	118.40	82.60	46.40	71.00	62.80	55.00
	4	54.40	114.00	83.80	47.00	71.60	62.60	55.60
	5	55.20	118.60	83.60	46.20	71.80	63.20	56.20
	6	55.00	114.00	83.20	49.20	69.80	65.80	55.40
Extracto 200mg/Kg	1	57.00	116.20	82.00	75.40	76.40	69.80	54.00
	2	57.20	117.20	83.60	74.60	75.80	69.20	55.20
	3	56.80	117.00	78.80	75.00	78.40	68.20	52.60
	4	55.80	117.60	77.80	76.80	76.80	72.20	51.80
	5	56.20	119.60	81.80	75.20	77.60	70.00	54.80
	6	57.00	117.60	82.40	75.80	76.40	72.20	53.60
Extracto 100mg/Kg	1	54.00	113.60	97.60	78.20	73.80	62.40	56.80
	2	55.80	117.80	102.00	77.80	74.20	60.00	57.40
	3	56.00	117.20	100.00	78.20	76.60	62.00	57.80
	4	57.00	116.20	101.20	78.20	74.20	62.60	58.00
	5	55.20	116.00	103.60	77.40	74.20	61.40	55.60
	6	58.20	118.60	99.20	78.80	75.00	62.40	55.80
Extracto 50mg/Kg	1	54.80	114.80	83.20	81.60	71.00	65.00	59.60
	2	58.40	117.80	84.20	81.60	71.40	62.20	57.80
	3	59.00	120.80	87.00	82.80	72.60	64.00	58.40
	4	57.40	120.40	87.20	81.20	72.60	65.20	57.80
	5	59.80	115.60	85.20	85.00	71.00	64.40	58.60
	6	58.00	116.00	84.40	84.60	72.40	64.80	56.60

Fuente: Elaboración Propia **Leyenda:** *Control sin L-NAME:* Blanco; *Control con L-NAME:* Control Negativo; *Enalapril 25/Kg:* Control Positivo; *Extractos:* 200 mg/Kg; 100 mg/Kg; 50 mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga). *PAD-B:* presión arterial diastólica basal; *PAD-PI:* presión arterial diastólica post inducción; *PAD-1-5:* presión arterial diastólica en la primera, segunda, tercera, cuarta y quinta medición.

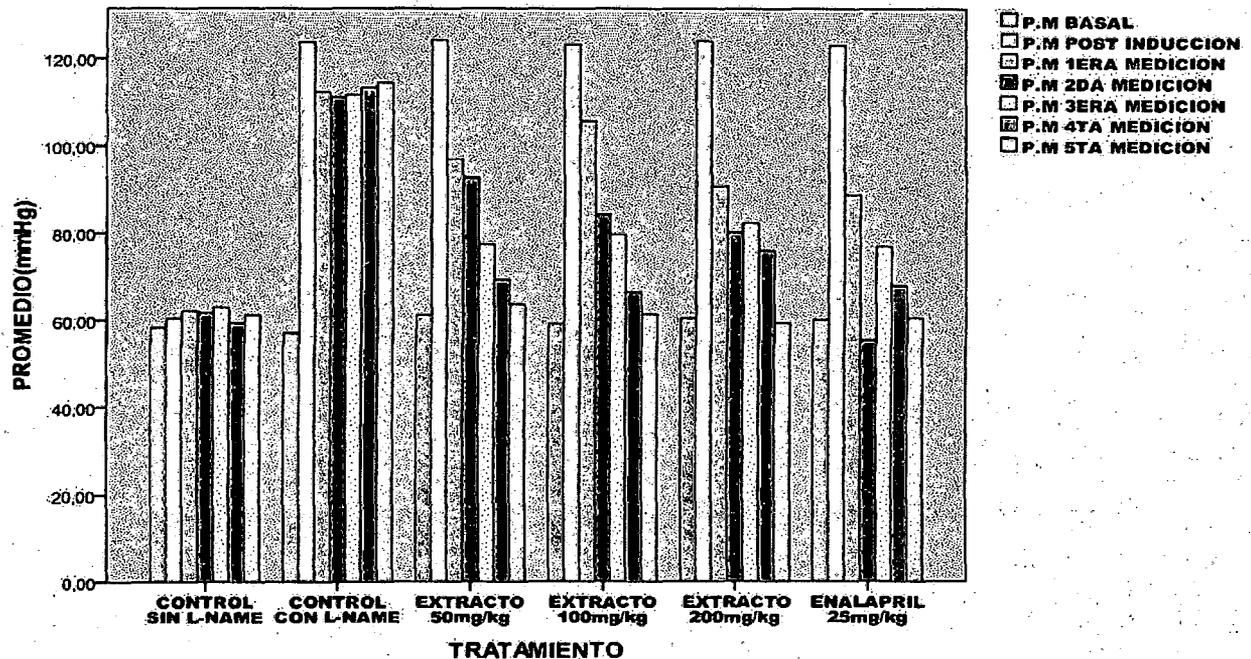
#### 4.2.2 DETERMINACION DEL EFECTO HIPOTENSOR DEL EXTRACTO SECO ACUOSO DE *Urtica magellanica* (ortiga)

#### CUADRO N° 4.8: EFECTO HIPOTENSOR SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL MEDIA DEL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME.

TRAT.	estadísticos	PB	PPI	PM1	PM2	PM3	PM4	PM5	
Control sin L-NAME	Media	58,37	60,48	62,19	61,75	63,00	59,33	61,31	
	Desviación estándar	+/- 1,83	+/- 1,20	+/- 1,16	+/- 1,12	+/- 1,84	+/- 1,38	+/- 1,40	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	56,45	59,22	60,97	60,57	61,07	57,88	59,84
		LIM.SUP	60,29	61,73	63,41	62,92	64,93	60,78	62,78
Control con L-NAME	Media	57,17	123,80	112,39	111,20	111,71	113,33	114,48	
	Desviación estándar	+/- 2,33	+/- 1,15	+/- 1,52	+/- 2,88	+/- 0,90	+/- 0,95	+/- 2,25	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	54,72	122,59	110,79	108,18	110,76	112,33	112,12
		LIM.SUP	59,61	125,01	113,98	114,22	112,66	114,33	116,84
EXTRACTO A 50 mg/kg	Media	61,23	124,40	97,08	92,83	77,35	69,31	63,70	
	Desviación estándar	+/- 2,02	+/- 1,98	+/- 1,68	+/- 1,42	+/- 0,71	+/- 0,97	+/- 0,79	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	59,11	122,32	95,32	91,35	76,60	68,29	62,88
		LIM.SUP	63,35	126,48	98,84	94,32	78,09	70,33	64,53
EXTRACTO 100 mg/kg	Media	59,19	123,37	105,83	84,37	79,76	66,48	61,39	
	Desviación estándar	+/- 1,23	+/- 1,52	+/- 2,17	+/- 0,57	+/- 1,29	+/- 0,71	+/- 1,09	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	57,90	121,77	103,56	83,77	78,40	65,73	60,24
		LIM.SUP	60,48	124,96	108,11	84,96	81,11	67,23	62,54
EXTRACTO 200 mg/kg	Media	60,43	124,13	90,97	80,22	82,47	76,00	59,37	
	Desviación estándar	+/- 0,59	+/- 0,86	+/- 2,28	+/- 0,99	+/- 1,19	+/- 1,56	+/- 1,24	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	59,82	123,23	88,58	79,18	81,22	74,36	58,07
		LIM.SUP	61,05	125,04	93,36	81,26	83,71	77,64	60,66
ENALAPRIL 25 mg/kg	Media	60,20	123,13	88,93	55,46	76,92	67,88	60,39	
	Desviación estándar	+/- 1,25	+/- 2,01	+/- 0,38	+/- 0,76	+/- 1,24	+/- 1,28	+/- 0,94	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	58,89	121,02	88,53	54,66	75,63	66,54	59,40
		LIM.SUP	61,51	125,24	89,33	56,25	78,22	69,23	61,38

Los valores son expresados como media, error estándar y límite inferior y superior de 5 mediciones. PB=Presión Basal, PPI=Presión Post inducción, PM=Presión según día de tratamiento (1, 2, 3, 4, 5). Existe diferencia significativa entre las medias con respecto al grupo control con L-NAME ( $p < 0.05$ ).

**FIGURA N°1: EFECTO HIPOTENSOR SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL MEDIA DEL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME.**



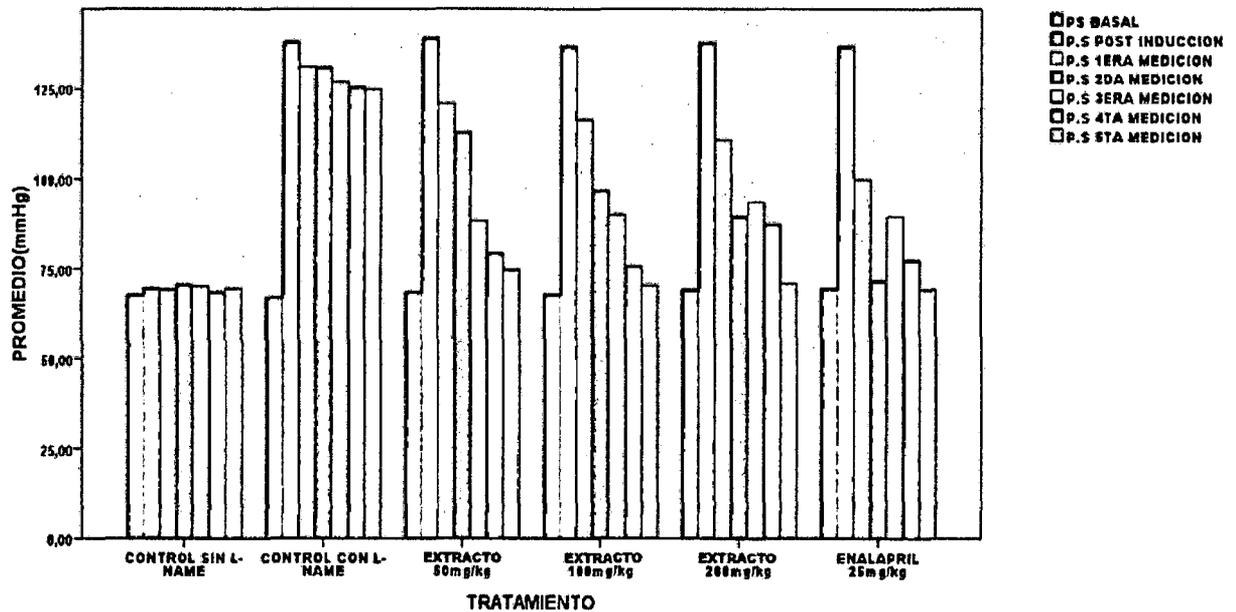
En este grafico podemos observar que a concentración de 100mg/kg y 200 mg/kg de extracto seco acuoso al 20 % p/v de *Urtica magellanica* (ortiga) y el Enalapril, disminuyen el nivel de la presión arterial media significativamente con respecto al grupo control con L- NAME.

**CUADRO N° 4.9: EFECTO HIPOTENSOR SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA DEL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME.**

TRAT.	estadísticos	PB	PPI	PS1	PS2	PS3	PS4	PS5	
Control sin L-NAME	Media	67,7	69,56	69,16	70,56	70,13	68,4	69,6	
	Desviación estándar	+/- 0,797	+/- 1,083	+/- 1,370	+/- 0,907	+/- 1,330	+/- 1,277	+/- 1,62	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	66,86	68,42	67,72	69,61	68,73	67,05	67,88
		LIM.SUP	68,53	70,70	70,60	71,51	71,52	69,74	71,31
Control con L-NAME	Media	67	138,2	131,3	131,2	126,7333	125,4	124,93	
	Desviación estándar	+/- 1,344	+/- 1,232	+/- 0,864	+/- 3,209	+/- 1,760	+/- 0,839	+/- 2,058	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	65,58	136,90	130,39	127,83	124,88	124,51	122,74
		LIM.SUP	68,41	139,49	132,20	134,56	128,58	126,28	127,02
EXTRACTO A 50 mg/kg	Media	68,7	139,43	120,83	112,9	88,36	79,4	74,83	
	Desviación estándar	+/- 1,733	+/- 2,537	+/- 2,426	+/- 1,071	+/- 0,598	+/- 0,789	+/- 0,46	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	66,88	136,77	118,28	111,77	87,73	78,57	74,34
		LIM.SUP	70,51	142,09	123,37	114,02	88,99	80,22	75,31
EXTRACTO 100 mg/kg	Media	67,76	137,1	116,3	96,9	89,93	75,83	70,36	
	Desviación estándar	+/- 1,358	+/- 1,313	+/- 2,348	+/- 0,817	+/- 1,958	+/- 0,344	+/- 1,41	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	66,34	135,72	113,83	96,04	87,87	75,47	68,88
		LIM.SUP	69,19	138,47	118,76	97,75	91,98	76,19	71,85
EXTRACTO 200 mg/kg	Media	69,23	138,1	110,76	89,73	93,6	87,33	70,76	
	Desviación estándar	+/- 0,871	+/- 0,846	+/- 2,330	+/- 1,510	+/- 1,901	+/- 1,695	+/- 1,16	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	68,31	137,21	108,32	88,14	91,60	85,55	69,53
		LIM.SUP	70,14	138,9	113,21	91,31	95,59	89,11	71,99
ENALAPRIL 25 mg/kg	Media	69,5333	137,0333	99,8667	71,7	89,5667	77,4333	69,116	
	Desviación estándar	+/- 0,826	+/- 2,225	+/- 1,114	+/- 0,723	+/- 1,310	+/- 1,261	+/- 0,933	
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	68,66	134,69	98,69	70,94	88,19	76,10	68,18
		LIM.SUP	70,40	139,36	101,03	72,45	90,94	78,75	70,14

Los valores son expresados como media, error estándar y límite inferior y superior de 5 mediciones. PB=Presión Basal, PPI=Presión Postinducción, PS=Presión según día de tratamiento (1, 5, 10, 15, 20). Existe diferencia significativa entre las medias con respecto al grupo control con L-NAME ( $p < 0.05$ )

**FIGURA N°2: EFECTO HIPOTENSOR SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA DEL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME.**



*En este grafico podemos observar que a concentración de 100mg/kg, 200 mg/kg de extracto seco acuoso al 20 % p/v de Urtica magellanica (ortiga) y Enalapril, el nivel de la presión arterial disminuye significativamente con respecto al grupo control con L- NAME.*

**CUADRO N° 4.10: EFECTO HIPOTENSOR SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL  
DIASTÓLICA DEL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS  
INDUCIDAS POR L-NAME.**

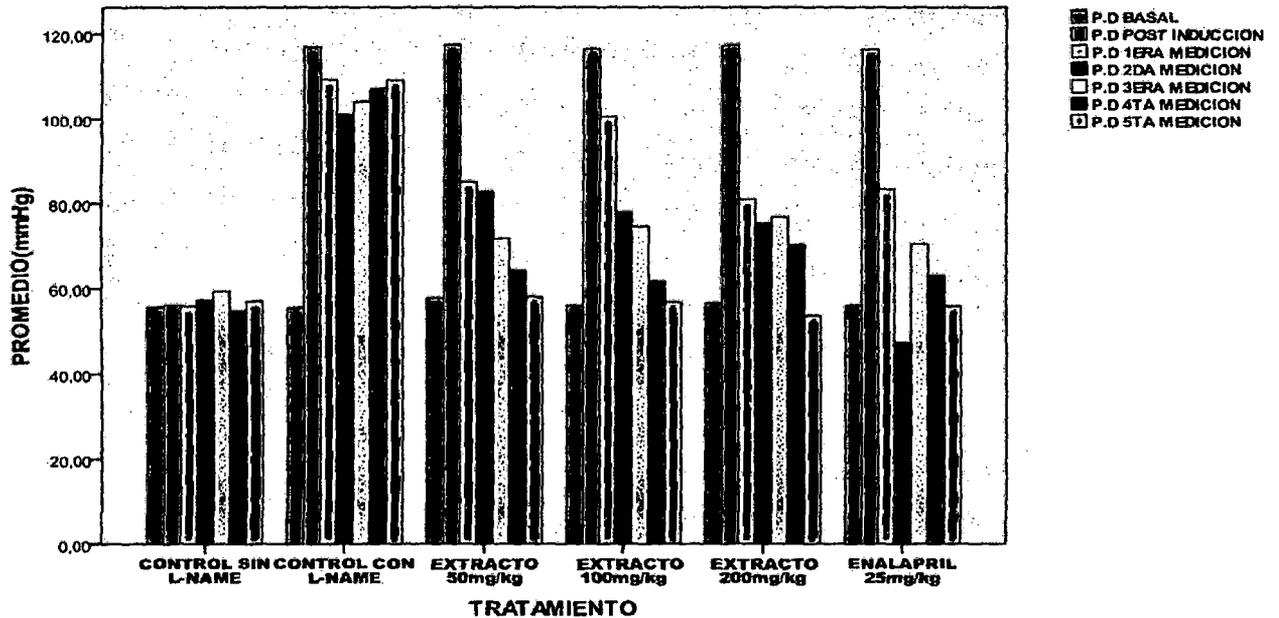
TRAT.	estadísticos		PB	PPI	PD1	PD2	PD3	PD4	PD5
Control sin L-NAME	Media		55,73	56,23	55,96	57,33	59,43	54,8	57,16
	Desviación estándar		+/- 1,835	+/- 1,382	+/- 1,493	+/- 1,306	+/- 2,181	+/- 1,453	+/- 1,37
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	53,80	54,78	54,39	55,96	57,14	53,27	55,72
		LIM.SUP.	57,66	57,68	57,53	58,70	61,72	56,32	58,6
Control con L-NAME	Media		55,56	117,03	109,3	101,2	104,2	107,3	109,26
	Desviación estándar		+/- 2,411	+/- 1,438	+/- 2,296	+/- 2,73	+/- 0,769	+/- 1,122	+/- 2,37
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	53,03	115,52	106,88	98,33	103,39	106,12	106,77
		LIM.SUP.	58,09	118,54	111,71	104,06	105,00	108,47	111,75
EXTRACTO A 50 mg/kg	Media		57,9	117,56	85,2	82,8	71,83	64,26	58,13
	Desviación estándar		+/- 1,728	+/- 2,550	+/- 1,604	+/- 1,644	+/- 0,784	+/- 1,10	+/- 1,001
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	56,08	114,89	83,51	81,07	71,01	63,11	57,08
		LIM.SUP.	59,71	120,24	86,88	84,52	72,65	65,42	59,18
EXTRACTO 100 mg/kg	Media		56,03	116,56	100,6	78,1	74,66	61,8	56,9
	Desviación estándar		+/- 1,450	+/- 1,750	+/- 2,127	+/- 0,469	+/- 1,025	+/- 0,97	+/- 1,014
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	54,51	114,73	98,36	77,60	73,59	60,77	55,83
		LIM.SUP.	57,55	118,40	102,83	78,59	75,74	62,82	57,96
EXTRACTO 200 mg/kg	Media		56,66	117,53	81,06	75,46	76,9	70,33	53,66
	Desviación estándar		+/- 0,546	+/- 1,136	+/- 2,254	+/- 0,765	+/- 0,944	+/- 1,526	+/- 1,29
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	56,09	116,34	78,70	74,66	75,90	68,73	52,30
		LIM.SUP.	57,24	118,72	83,43	76,27	77,89	71,93	55,02
ENALAPRIL 25 mg/kg	Media		56,1	116,46	83,46	47,33	70,6	63,1	56
	Desviación estándar		+/- 1,401	+/- 2,088	+/- 0,546	+/- 1,197	+/- 1,206	+/- 1,389	+/- 1,058
	Inter. de confianza para la media al 95%	LIM.INF.	54,62	114,27	82,89	46,07	69,33	61,64	54,88
		LIM.SUP.	57,57	118,65	84,04	48,59	71,86	64,55	57,11

Los valores son expresados como media, su respectivo error estándar y límite inferior y superior de 5 mediciones. PB=Presión Basal, PPI=Presión Postinducción, PS=Presión según día de tratamiento (1, 2, 3, 4, 5).

Existe diferencia significativa entre las medias con respecto al grupo control con L-NAME ( $p < 0.05$ ).

Existe diferencia significativa entre las medias con respecto al grupo de 50 mg/kg y enalapril ( $p < 0.05$ ).

**FIGURA N°3: EFECTO HIPOTENSOR SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL DIASTÓLICA DEL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME**



En este grafico podemos observar que a concentración de 100mg/kg, 200 mg/kg de extracto seco acuoso al 20 % p/v de *Urtica magellanica* (ortiga) y el enalapril, disminuyen el nivel de la presión arterial sistólica significativamente con respecto al grupo control con L- NAME.

**CUADRO 4.11: MEDIAS DE LOS PORCENTAJES DE ELEVACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS HIPERTENSAS ANTES DEL INICIO DEL TRATAMIENTO (DÍA 0)**

Tratamiento	Presión arterial sistólica (%)	Presión arterial diastólica (%)	Presión arterial media (%)
Control con L NAME	106.26	110.6	116.54
Extracto seco acuoso 50 mg/kg	102.95	103.6	103.20
Extracto seco acuoso 100 mg/kg	102.03	108.03	108.4
Extracto seco acuoso 200 mg/kg	99.47	107.46	106.6
Enalapril 25 mg/kg	98.55	107.54	105

Fuente: Elaboración propia

Los porcentajes de elevación se obtuvieron con la siguiente expresión matemática:

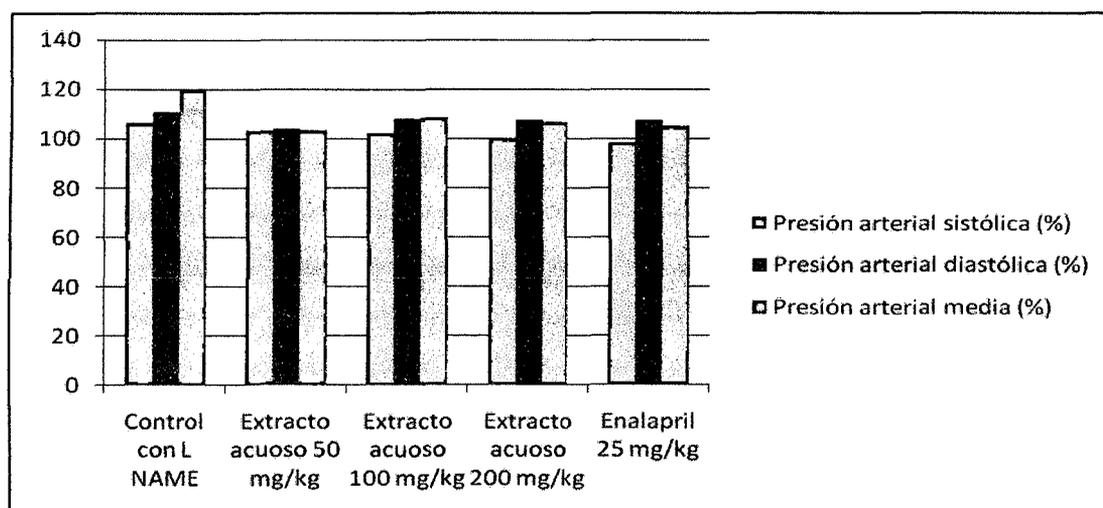
$$\%EPA = \frac{\text{Presión arterial postinducción} - \text{Presión arterial basal}}{\text{Presión arterial basal}} \times 100\%, \text{ EPA} = \text{Elevación presión}$$

Presión arterial basal sistólica: 61.3

Presión arterial basal diastólica: 54.2

Presión arterial basal media: 58.6

**FIGURA N°4: PORCENTAJES DE ELEVACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL**



Fuente: Elaboración Propia **Leyenda:** *Control sin L-NAME:* Blanco; *Control con L-NAME:* Control Negativo; *Enalapril 25/Kg:* Control Positivo; *Extractos:* 200 mg/Kg; 100 mg/Kg; 50 mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga).

El porcentaje de elevación de la presión arterial en relación a la presión basal se debe indicar que en promedio la presión sistólica se elevó en un 101.85 %, la presión diastólica en un 107.45 % y la presión arterial media en un 107.95 %. Estos resultados no son comparables según lo indicado por Ramírez (Ramírez J., et al, 2006), quién señala que la presión sistólica y diastólica se eleva en un 20 a 40 %. Por otro lado Sharifi et al, Rodríguez et al, reportan elevaciones de la presión arterial sistólica en un 90 a 100%. Así mismo Ramírez et al señala que el L-NAME produce un mayor aumento de la presión diastólica.

**CUADRO N° 4.12: MEDIAS DE LOS PORCENTAJES DE REDUCCIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS HIPERTENSAS AL FINAL DEL TRATAMIENTO (DÍA 30)**

Tratamiento	Presión arterial sistólica (%)	Presión arterial diastólica (%)	Presión arterial media (%)
Control con L NAME	48.48	93.36	92.47
Extracto seco acuoso 50 mg/kg	49.27	49.44	51.20
Extracto seco acuoso 100 mg/kg	49.42	48.81	49.76
Extracto seco acuoso 200 mg/kg	49.78	45.66	47.82
Enalapril 25 mg/kg	50.36	48.08	49.05

Fuente: propia

Los porcentajes de reducción se obtuvieron con la siguiente expresión matemática:

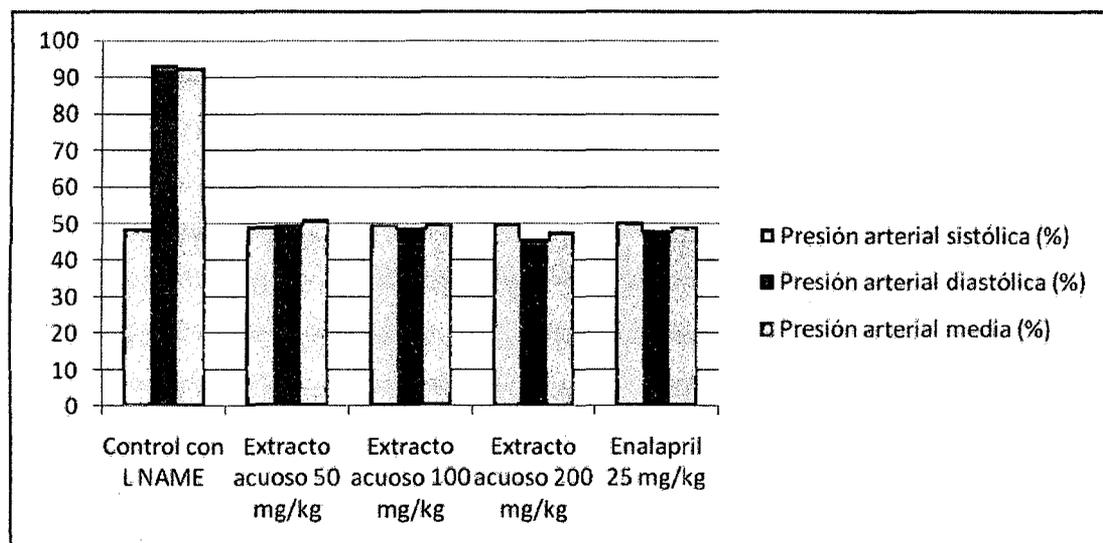
$$\%RPA = \frac{\text{Presión arterial día 30} - \text{Presión arterial postinducción}}{\text{Presión arterial postinducción}} \times 100, \text{ RPA} = \text{Reducción presión arterial.}$$

Presión arterial postinducción sistólica: 115.5

Presión arterial postinducción diastólica: 97.3

Presión arterial postinducción media: 101.4

**FIGURA N°5: PORCENTAJES DE REDUCCIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL**



Fuente: Elaboración Propia **Leyenda:** Control sin L-NAME: Blanco; Control con L-NAME: Control Negativo; Enalapril 25/Kg: Control Positivo; Extractos: 200 mg/Kg; 100 mg/Kg; 50 mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga).

En el cuadro se aprecia que, a los 30 días de tratamiento, las dosis de 50mg/Kg, 100mg/Kg y 200mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* disminuyeron la presión sistólica, diastólica y media.

La dosis de 50mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* disminuyó la presión arterial sistólica, diastólica y media en un 49.27%, 49.44% y 51.20% respectivamente. La dosis de 100mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* disminuyó la presión arterial diastólica en 49.42%, 48.81% y 49.76% respectivamente. La dosis de 200mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* disminuyó la presión arterial sistólica, diastólica y media en 49.78%, 45.66% y 47.82% respectivamente.

## **ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DE LAS PRESIONES ARTERIALES MEDIAS, SISTÓLICAS Y DIASTÓLICAS DURANTE EL TRATAMIENTO.**

Se ha buscado comprobar el efecto hipotensor de *Urtica magellanica*, utilizando el método de inducción de hipertensión por N-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME) (Sharifi A, et-al, 2005; Ramirez J, et-al, 2006), en donde se demuestra que la administración durante 05 días consecutivos de L-NAME por vía oral produce un aumento de la presión arterial (**cuadro 4.11**) (Sharifi A, et-al, 2005). El L-NAME es un inhibidor irreversible de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) encargada de la producción de óxido nítrico en el endotelio a partir de la L-arginina. La inhibición de la NOS disminuye la producción de óxido nítrico (NO) ocasiona vasoconstricción, aumento de la liberación de renina e hipertensión arterial.

Según los resultados de la presente investigación el extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* en dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg y 200 mg/kg presentó efecto hipotensor a nivel de presión arterial sistólica, diastólica y media a lo largo del tratamiento durante 30 días, como se indica en el **cuadro 4.8, 4.9, 4.10 (figuras 1, 2 y 3)**. El efecto hipotensor se hizo sostenible a partir del día 10 de tratamiento a lo largo del experimento. Durante el tratamiento no hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los grupos experimentales y el enalapril que es un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina II (Katzung B., 2001), indicándonos que los animales expuestos a hipertensión reducirán sus cifras de presión arterial tanto al recibir enalapril o el extracto de la planta.

El estudio de las plantas medicinales con efecto hipotensor desarrollado en modelos preclínicos y clínicos muestran constituyentes químicos responsables del efecto hipotensor como son los flavonoides (Kuklinski C., 2006; Martinez S., et al, 2002) y compuestos fenólicos (Kuklinski C., 2006; Rojas J., et al, 2006; Fatehi M., et al, 2005), saponinas esteroidales (Phillips O. et al, 2006) estos metabolitos secundarios se encuentran en abundante cantidad en la especie vegetal evaluada, determinado en el análisis fitoquímico cualitativo (Cuadro 4.3). El mecanismo de acción hipotensor de los 3 compuestos aludidos sería por un efecto vasodilatador (Martinez S., et al, 2002) e inhibición del sistema renina angiotensina (Fatehi M., et al, 2005).

Recientemente, se ha considerado que la hipertensión arterial esencial es un síndrome de anormalidades metabólicas y estructurales (genéticas y adquiridas); dentro de las alteraciones metabólicas han surgido evidencias que indican que las especies reactivas derivadas del oxígeno (EROs) juegan un papel fisiopatológico preponderante en el desarrollo de la hipertensión (Cosgrove T., et al, 2005). Esto se debe al exceso de  $O_2^-$  y a la disminución de la liberación de óxido nítrico (ON) en la remodelación cardiovascular y en la vasculatura del riñón, mediado por el Eros (Fortuño A., et al, 2005). Investigaciones recientes en pacientes con hipertensión esencial evidencian una situación de estrés oxidativo, con incremento de la concentración sanguínea de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), como indicador de peroxidación lipídica.

**4.2.3. EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ÓXIDO NÍTRICO Y MALONDIALDEHIDO.**

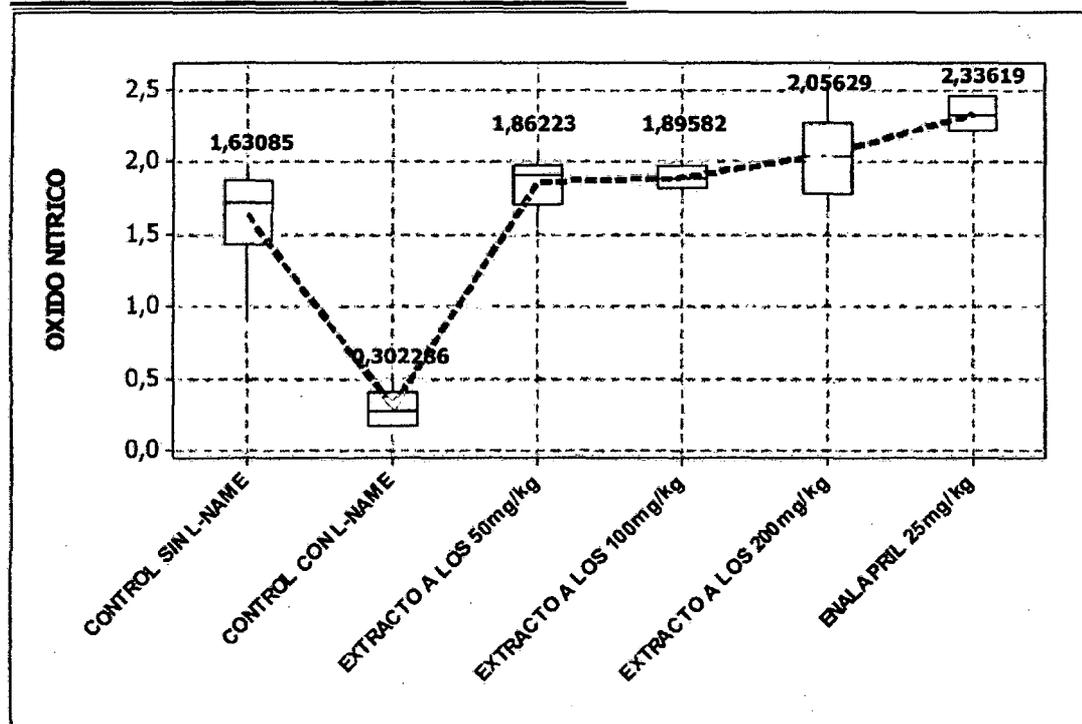
**NIVELES DE OXIDO NITRICO AL DÍA 30 DE ADMINISTRAR EL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME.**

**CUADRO N° 4.13: CONCENTRACIONES DE ÓXIDO NÍTRICO PLASMÁTICO AL 30° DÍA DE TRATAMIENTO**

	Grupo	µmoles/L NO		Grupo	µmoles/L NO
Control sin L-NAME	1	1.6122	Extracto 200mg/Kg	1	2.1944
	2	1.7913		2	2.5526
	3	0.8957		3	2.1720
	4	1.8361		4	1.8361
	5	1.6569		5	1.9257
	6	1.9928		6	1.6570
Control con L-NAME	1	0.1791	Extracto 100mg/Kg	1	1.9705
	2	0.1791		2	1.8361
	3	0.2463		3	1.8361
	4	0.5374		4	2.0152
	5	0.3583		5	1.7689
	6	0.3135		6	1.9481
Enalapril 25/Kg	1	2.3735	Extracto 50mg/Kg	1	1.9033
	2	2.4631		2	1.9256
	3	2.4631		3	1.9481
	4	2.2392		4	1.7689
	5	2.1944		5	1.5450
	6	2.2839		6	2.0824

Fuente: Elaboración Propia **Leyenda:** *Control sin L-NAME: Blanco; Control con L-NAME: Control Negativo; Enalapril 25/Kg: Control Positivo; Extractos: 200 mg/Kg; 100 mg/Kg; 50 mg/Kg del extracto seco acuoso de Urtica magellanica (ortiga).*

**FIGURA N° 6: COMPARATIVO DE LOS NIVELES DE ÓXIDO NÍTRICO AL DÍA 30 DE ADMINISTRAR EL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME.**



Existe diferencia significativa entre la media del grupo control negativo con respecto a la dosis de 50,100 y 200 mg/kg. ( $p < 0.05$ ).

**CUADRO N° 4.14: PRUEBA POST-HOC O POST TEST DE DUNCAN PARA LA COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE LA CONCENTRACION DE MDA A DISTINTOS TRATAMIENTOS**

GRUPOS EN COMPARACIÓN PARA EL OXIDO NITRICO		SUB CONJUNTO PARA ALFA = 0,05			
GRUPO	N	1	2	3	4
CONTROL CON L-NAME	6	0,30228623			
CONTROL SIN L-NAME	6		1,63085285		
EXTRACTO A 50MG/KG	6		1,86223243	1,86223243	
EXTRACTO A 100 MG/KG	6		1,89581979	1,89581979	
EXTRACTO A 200MG/KG	6			2,05629273	
ENALAPRIL 25MG/KG	6				2,33618738
Sig.		1	0,07	0,182	1

En este cuadro podemos observar que el nivel de oxido nítrico aumenta significativamente con las dosis de 200mg/kg y 100 mg/kg, 50 mg/kg y Enalapril, con respecto al grupo control.

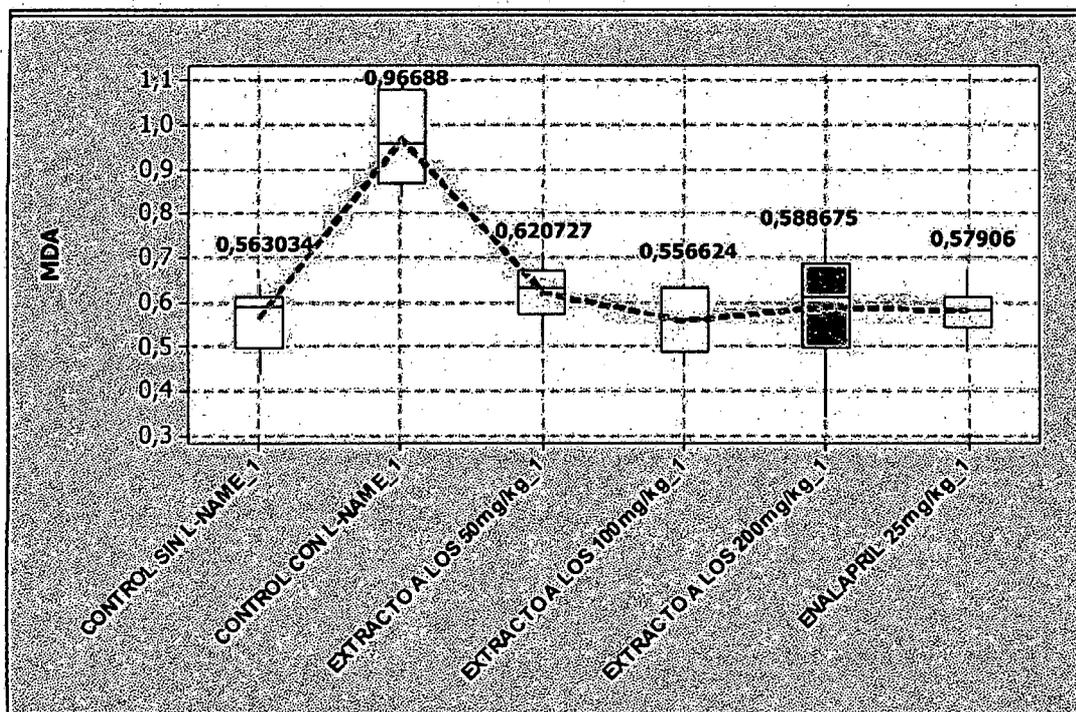
**NIVELES DE MALONDIALDEHIDO AL DÍA 30 DE ADMINISTRAR EL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME.**

**CUADRO N° 15: CONCENTRACIONES DE MDA EN SUERO DE LAS RATAS DE LOS GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN AL 30° DÍA DE TRATAMIENTO**

	Grupo	nmoles/mL MDA		Grupo	nmoles/mL MDA
Control sin L-NAME	1	0.6411	Extracto 200mg/Kg	1	0.6667
	2	0.5769		2	0.5513
	3	0.6025		3	0.7500
	4	0.5192		4	0.6346
	5	0.6026		5	0.3397
	6	0.4358		6	0.5897
Control con L-NAME	1	1.0897	Extracto 100mg/Kg	1	0.6282
	2	1.0769		2	0.5513
	3	0.9358		3	0.6410
	4	0.9807		4	0.5641
	5	0.8397		5	0.5000
	6	0.8782		6	0.4551
Enalapril 25/Kg	1	0.6731	Extracto 50mg/Kg	1	0.5000
	2	0.5833		2	0.6538
	3	0.5897		3	0.5961
	4	0.5641		4	0.6474
	5	0.4872		5	0.6154
	6	0.5769		6	0.7115

Fuente: Elaboración Propia **Leyenda:** *Control sin L-NAME:* Blanco; *Control con L-NAME:* Control Negativo; *Enalapril 25/Kg:* Control Positivo; **Extractos:** 200 mg/Kg; 100 mg/Kg; 50 mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga).

**FIGURA N° 7: COMPARATIVO DE LOS NIVELES DE MALONDIALDEHIDO AL DÍA 30 DE ADMINISTRAR EL EXTRACTO SECO ACUOSO EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME.**



Existe diferencia significativa entre la media con respecto a la dosis de 50mg/kg. ( $p < 0.05$ ).

**CUADRO N° 4.16: PRUEBA POST-HOC O POST TEST DE DUNCAN PARA LA COMPARACIÓN MULTIPLE DE LA CONCENTRACION DE MDA A DISTINTOS TRATAMIENTOS**

GRUPOS EN COMPARACIÓN PARA EL MDA		SUB CONJUNTO PARA ALFA = 0,05	
GRUPO	N	1	2
EXTRACTO A 100 MG/KG	6	0,55662393	
CONTROL SIN L-NAME	6	0,56303419	
ENALAPRIL 25MG/KG	6	0,57905983	
EXTRACTO A 200MG/KG	6	0,58867521	
EXTRACTO A 50MG/KG	6	0,6207265	
CONTROL CON L-NAME	6		0,96688034
Sig.		0,284	1

Existe diferencia significativa (disminución de los niveles de MDA a dosis de 100 mg /kg, 200 mg/kg y Enalapril con respecto al grupo control.

## **ANALISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS NIVELES PLASMATICOS DE OXIDO NITRICO Y MALONDIALDEHIDO EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION AL FINALIZAR EL TRATAMIENTO**

En la **figura N°6** se observa que los niveles de óxido nítrico presentaron un aumento con respecto al grupo control con L-NAME que es estadísticamente significativa para todos los grupos experimentales incluyendo al grupo del enalapril, también se debe indicar que a la dosis de 100 mg/kg se obtuvieron mejores resultados siendo significativo ( $p < 0.05$ ) con relación al grupo control sin L-NAME.

En la **figura N°7** se observa que los niveles de malondialdehido presentan una disminución con relación al grupo control con L-NAME que es estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) para todos los grupos experimentales incluyendo al grupo del enalapril.

**En el cuadro N° 4.14** según el test de Duncan para la comparación de las concentraciones plasmáticas de Oxido Nítrico al final del tratamiento se observa que: hay cuatro grupos en los cuales la media o promedio de dichas concentraciones plasmáticas de Óxido Nítrico tienen diferencias que son estadísticamente significativas, es decir que los niveles de Óxido Nítrico aumentaron con los diferentes tratamientos y que son distintos al compararse simultáneamente entre ellos, la comparación producida entre los grupos sometidos a los extracto de 50mg/Kg, extracto a 100mg/Kg y el grupo Blanco (Control sin L-NAME) en los cuales las medias de las concentraciones plasmáticas de Óxido Nítrico fueron muy similar o parecidas, siendo que dicha comparación no presenta diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ;  $P = 0.07$ ). La comparación producida entre los grupos sometidos a los extractos de 50mg/Kg, extracto a 100mg/Kg y el extracto a 200mg/Kg en los cuales las medias de las concentraciones plasmáticas de Óxido Nítrico fueron muy similar o parecidas, siendo que dicha comparación no presenta diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ;  $P = 0.182$ ).

**En el cuadro N° 4.16** según el test de Duncan para la comparación de las concentraciones plasmáticas de Malondialdehído al final del tratamiento se observa que: existen dos grupos en los cuales la media o promedio de dichas concentraciones plasmáticas de Malondialdehído tienen diferencias que son estadísticamente significativas es decir que los niveles plasmáticos de Malondialdehído disminuyeron con los diferentes tratamientos y que son distintos al compararse simultáneamente entre estos dos grupos que se formaron; la comparación producida entre los grupos sometidos a los extractos de 200mg/Kg, extracto a 100mg/Kg, extracto a 50mg/Kg, el grupo control positivo y el blanco; en los cuales las medias de las concentraciones plasmáticas de Malondialdehído fueron muy similar o parecidas, siendo que dicha comparación no presenta diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ;  $P = 0.284$ ), observándose que el tratamiento con estos extractos disminuyeron de manera similar la concentración plasmática de Malondialdehído y que hubo una menor disminución de la concentración plasmática de Malondialdehído en el grupo control negativo.

De ambas tablas se indica que el extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* presentó el aumento de los niveles séricos de óxido nítrico y la disminución de los niveles séricos de malondialdehído que va a favorecer su efecto hipotensor, que podría deberse a los constituyentes químicos presentes, principalmente a los compuestos fenólicos como los flavonoides y taninos.

Los flavonoides y taninos principalmente presentan actividad antioxidante, pero principalmente a los flavonoides se les atribuye actividad antioxidante de acuerdo a reportes de Gorduza, Gonzáles, Torok, Ren, Kuskoski, Dragsted, Akdemir, Silva y Pérez. Estos flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, que les confiere una gran capacidad antioxidante, desempeñando un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis y el cáncer (Phillips O. et al, 2006). Los criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los flavonoides, son: presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y

participa en la deslocalización de los electrones; Doble ligadura, en conjunción con la función 4-oxo del anillo C41-42; Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante. Siguiendo estos criterios, el flavonoide quercitina es el que mejor reúne los requisitos para ejercer una efectiva función antioxidante (Fortuño A., et al, 2005; Gorduza V., et al, 2000; Torok J., 2008; Ren W., et al, 2003; Pérez G., 2003).

**4.2.4 DE LA DETERMINACION DE LA TOXICIDAD AGUDA POR VIA ORAL USANDO EL METODO DE LORKE PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA (DL50) DEL EXTRACTO SECO ACUOSO DE LAS PARTES AEREAS DE *Urtica magellanica***

**CUADRO N° 4.17: FASE I: TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO SECO ACUOSO DE *Urtica magellanica* (ortiga)**

SUSTANCIA	GRUPOS	PRIMERA FASE		
		Dosis (mg/Kg)	Número de Ratones	Mortalidad en 24 horas
Extracto seco acuoso de <i>Urtica magellanica</i> (ortiga)	1	10	3	0
	2	100	3	0
	3	1000	3	0

Fuente: Hoja de recolección de datos.

**FASE I: TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Urtica magellanica* (ortiga)**

**ANALISIS y DISCUSION DE LOS RESULTADOS**

En la determinación de toxicidad aguda por vía oral en ratas sometidas a dosis crecientes del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga) según el método de LORKE se observa que de un grupo de 9 ratas ninguna muere a los 5, 10, 15, 30 minutos, 1, 2, 6 horas, 1, 2, 4, 7, 14 días a la dosis de 1000 mg/kg sugiriendo un límite para las dosis a emplear en el desarrollo del presente trabajo.

Observándose que a dosis de 10 mg/kg y 100 mg/kg los animales de experimentación presentan estado aparentemente normal y a la dosis de 1000 mg/kg existe la presencia de una ligera disminución de la actividad motora a los 60 minutos después de la administración.

**CUADRO N° 4.18: FASE II TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO SECO ACUOSO DE *Urtica magellanica* (ortiga)**

SUSTANCIA	GRUPOS	SEGUNDA FASE		
		Dosis (mg/Kg)	Número de Ratones	Mortalidad en 24 horas
Extracto acuoso seco de <i>Urtica magellanica</i> (ortiga)	1	1600	1	0
	2	2900	1	0
	3	5000	1	0

Fuente: Hoja de recolección de datos

DL 50 (mg/kg)	Grado de toxicidad
Menor a 10	Altamente tóxica
Entre 10 – 100	Tóxica
Entre 100 – 1000	Poco tóxica
Mayor a 1000	atóxica

Fuente: Adaptado de LORKE ,1983

**FASE II TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO SECO ACUOSO DE *Urtica magellanica* (ortiga)**

**ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

En la segunda fase de la determinación de la toxicidad aguda por vía oral en ratas sometidas a dosis crecientes del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga) según el método de Lorke se observa que la sustancia es no tóxica debido a que no hubo ninguna muerte ni en la dosis máxima de 5000 mg/kg .En las tres dosis usadas tanto con 1600 mg/kg, 2900 mg/kg y 5000

mg/kg, hubo disminución motora.

Se observó también que a dosis menores de 1000 mg/kg los animales de experimentación presentan estado aparentemente normal con lo cual se estaría confirmando la dosis de 1000 mg/kg es un límite para la determinación de las dosis utilizadas en el presente trabajo.

Dentro de las diferentes dosis evaluadas se observó que el animal de experimentación al cual se le administró la dosis de 5000 mg/kg presenta incoordinación motora, pérdida de equilibrio y su respiración se hace más lenta, pero permanece así durante 2 horas y luego empieza a reaccionar por tanto podemos decir que la planta en estudio es poco tóxica.

En la revisión de antecedentes se encontraron 78 referencias sobre la *Urtica*, que evidencia que esta planta se ha usado con fines medicinales desde tiempos remotos además, reportan datos de toxicidad oral crónica que sugieren que la infusión fue bien tolerada hasta la dosis de 1310 mg/Kg (Bombardelli y Marazzoni; 1997); esto puede ser comparado con los valores obtenidos en el presente estudio.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

De la investigación realizada con el extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga) se concluye:

1. Se determinó el efecto hipotensor in vivo del extracto seco acuoso en ratas hipertensas in vivo del extracto seco acuoso en ratas hipertensas inducidas por L-NAME hallándose que las dosis de 50mg/Kg, 100mg/Kg y 200mg/Kg del extracto acuoso poseen efecto hipotensor sobre la presión arterial media, sistólica y diastólica.
2. En el estudio de la toxicidad según el método de Lorke no se evidenció la muerte de ningún animal de experimentación en la primera ni segunda fase en 24 horas por lo que se determinó que el extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga) no presenta Toxicidad aguda.
3. Se realizó la Recolección, Selección, Porcentaje de Humedad, Extracción y Pruebas de solubilidad; determinándose que la Humedad de la especie vegetal *Urtica magellanica* es de 81.14%, que el Porcentaje de rendimiento de exacción es de 18.57% y que el extracto de *Urtica magellanica* (ortiga) presenta solubilidad en solventes polares (agua y etanol) y es insoluble en solventes apolares (hexano, benceno y cloroformo).
4. Se determinó cualitativamente la composición fitoquímica de los metabolitos secundarios del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga) dando como resultado abundante cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos, taninos; regular cantidad de alcaloides, saponinas y no se observa azúcares reductores ni quinonas.
5. Se determinó que la disminución de las presiones arteriales media, sistólica y diastólica de las ratas con hipertensión inducida se dieron con las concentraciones de 50mg/Kg, 100mg/Kg y 200mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* al finalizar el tratamiento.
6. Se determinó que el porcentaje de disminución de las presiones

arteriales media, sistólica y diastólica de las ratas con hipertensión inducida fue de 51.20%, 49.76% y 49.44% respectivamente con la dosis de 50mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica*; de 49.76%, 49.42% y 48.81% respectivamente con la dosis de 100mg/Kg extracto seco acuoso de *Urtica magellanica*; de 47.82%, 49.78% y 45.66% respectivamente con la dosis de 200mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica*.

7. Se determinó que la disminución de las presiones arteriales media, sistólica y diastólica de las ratas con hipertensión inducida fueron con las concentraciones de 50mg/Kg, 100mg/Kg y 200mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* que son comparables al efecto logrado con el Enalapril a la dosis de 25mg/Kg.
8. Se determinó que el incremento de los niveles de óxido nítrico (NO) en plasma de las ratas con hipertensión inducida fue con la dosis de 200mg/Kg del extracto seco acuoso a 2.0563  $\mu$ moles de NO/L, con la dosis de 100mg/Kg de extracto acuoso a 1.8958  $\mu$ moles de NO/L y con la dosis de 50mg/Kg de extracto seco acuoso a 1.8622  $\mu$ moles de NO/L en comparación con las ratas hipertensas que tuvieron un nivel de 0.3023  $\mu$ moles de NO/L.
9. Se determinó que la disminución de los niveles de malondialdehído (MDA) como indicador de la actividad antioxidante in vivo en suero de rata con hipertensión inducida fue con la dosis de 200mg/Kg de extracto seco acuoso a 0.5887 nmoles de MDA/ml, con la dosis de 100mg/Kg des extracto seco acuoso a 0.5566 nmoles de MDA/ml y con la dosis de 50mg/Kg del extracto seco acuoso a 0.6207 nmoles de MDA/ml en comparación con las ratas hipertensas que tuvieron un nivel de 0.9669 nmoles de MDA/ml.
10. Se determinó, según las condiciones de experimentación que las dosis de 50mg/Kg, 100mg/Kg y 200mg/Kg del extracto seco acuoso de *Urtica magellanica* son efectivas para el tratamiento hipotensor.

## **SUGERENCIAS**

### **A la Autoridad Universitaria:**

- ❖ Implementar un laboratorio de Farmacología Experimental en la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, para el desarrollo de trabajos de investigación en plantas medicinales.
- ❖ Adquirir un equipo de medición de presión arterial para ratas.

### **A los alumnos que deseen continuar con el presente trabajo de investigación:**

- ❖ Realizar estudios fitoquímico cuantitativos y caracterización de los metabolitos secundarios de la especie vegetal para poder extraer el metabolito específico que es responsable de producir el efecto hipotensor.
- ❖ Determinar el efecto vasodilatador de diferentes extractos de la planta en anillos aórticos de rata utilizando utilizando para tal fin un equipo de órgano aislado.
- ❖ Realizar estudios de análisis fisiopatológicos de los órganos (cerebro, aorta, hígado, páncreas) para evaluar los efectos causados por la administración de L-NAME y el extracto de la planta en estudio.
- ❖ Realizar una forma farmacéutica haciendo previos ensayos a otros intervalos de dosis de la especie vegetal para así evitar el contacto del extracto con el jugo gástrico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Academia Mayor de la Lengua Quechua qeshwua Simi Hamut'anaKurakSuntur Diccionario Quechua-Español-Quechua (2007).
2. Agapito F., Sung I., Fitomedicina: 1100 Plantas Medicinales, Perú: Editorial Isabel, 2005.
3. Agusti C. Regulo; Acta Medica Peruana, Epidemiologia de Hipertensión Arterial en el Peru; Lima Peru, 2009. 23 (2): 69-75.
4. Alonso Jorge R; ortiga; Tiempo Farmacéutico-Revista Oficial del Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Corcoba-Numero 21; 2007, España.  
Disponible desde:  
<http://www.colfactor.org.ar/tiempofarmaceutico072007.pdf>
5. Andriambelason Emile, Magnier Celine, Haan-Archipoff Gisele, Lobstein Annelise, Anton Robert, Beretz Alain. Natural Dietary Polyphenolic Compounds Cause Endothelium Dependent Vasorelaxation in Rat Thoracic Aorta. The Journal Nutrition-American Society for Nutritional Sciences. Pharmacology, Physiopathology and Pharmacognosy Laboratories, Pharmacy School, Louis Pasteur University. 1998. Disponible en <http://jn.nutrition.org/content/128/12/2324.full.pdf+html>
6. Arestegui I, Sanchez E. Comparacion del Efecto Diuretico de los extractos Hidroalcoholico y Acuoso de *Urticamagellanica* y Determinacion de electrolitos excretados en orina en ratas. UNSAAC CP Farmacia y Bioquimica, 2007.
7. Arroyo J, Rojas J, Chenguayen J. Manual de Modelos Experimentales de Farmacología. Primera Edición. Lima-Perú. Publicaciones ASDIMOR. 2004.
8. Arroyo Jorge, Ruez Ernesto, Rodriguez Miguel. Actividad Antihipertensiva y Antioxidante del extracto Hidroalcoholico atomizado de Maiz Morado (*Zea mays*) en ratas. Revista Peru Med Exp. Salud Pública, 2008.
9. Baglivo H. Clasificación de la hipertensión arterial en base a la definición del JNC VII y las guías de las Sociedades Europeas de Hipertensión

- Arterial y Cardiología 2003. Revista Argentina de Anestesiología. 2003; 61 (6): 341-345.
10. Blumenthal M., Goldberg A., Brinckmann J. Herbal Medicine, Expanded, Commission E. Monographs, Integrative Medicine Communications, Newton. Tercera Edición 2009. Disponible desde: [http://www.Portafarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/vodocumentos/BFOED8889267BF7FC125C125CB670057FB4F/\\$file/ortiga\\_MAYOr.htm](http://www.Portafarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/vodocumentos/BFOED8889267BF7FC125C125CB670057FB4F/$file/ortiga_MAYOr.htm)
  11. Bombardelli, E. y Marazzoni, P. *Urtica*. Fitoterapia; vol. 68 (5): 387-402. <http://www.slideshare.net/LudoCiencias/fitoquimica-erick-quimbiulco#btnNext>
  12. Cabieses F. Apuntes de Medicina Tradicional Peruana. Tomo II. Peru. Edt. Lima 1993.
  13. Cayman Chemical Company, Ann Arbor MI. Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay Kit. Dic. 2011. Disponible en: <http://www.caymanchem.com/pdfs/10009055.pdf>
  14. Chávez J, Suárez G, Gonzáles Z, Nuñez R, Socarras E, Amel A, et al. Determinación de Malondialdehído y Óxido Nítrico en Individuos Fumadores. Sociedad Venezolana de Medicina Interna. 2001; 17 (2): 1-7.
  15. Colmenares AJ, Ramírez AB. *Salvia scutellarioides*. En: Treinta plantas medicinales de la sierra del Perú. Fundamentos fitoquímicos y farmacológicos que sustentan sus usos. Cali: 2008. p. 49-50. Bernal HY, Correa JE. *Salvia palaefolia*. En: Especies vegetales promisorias en los países del convenio Andrés Bello. Bogotá: SECAB; 1994. p. 1-156.
  16. Condorhuaman Figueroa, Martin Yovani. Efecto Hipotensor del Extracto Acuoso de *Calceolaria Myriophylla kraenz* en ratas hipertensas inducidas por L-NAME. Tesis para optar el grado académico de Magister en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental. UNMSM – Peru. 2009.
  17. Cosgrove T, Nwachukwu C, Olakanmi O. The nitric oxide inhibitor L-NAME prolongs synaptic facilitation. *Pioneering Neuroscience*. 2005; 6: 27-29.
  18. Domínguez, Xorge. (1999). Métodos de investigación Fitoquímica. Editorial Limusa. México.

19. Dr. Delfín Pérez Caballero y colaboradores Haydee del Pozo Jerez, Dr. Jorge L. León Álvarez, Dr. Vicente Osorio Acosta, Lic. Celia Alonso Rodríguez. Hipertensión Arterial Secundaria, Servicio: Medicina Interna, Policlínicos en la Provincia Ciudad de La Habana. 2008.
20. Dr. Luis Segura Vega, Dr. Regulo Agustí C., Dr. José Parodi Ramírez Factores de Riesgo de las Enfermedades Cardiovasculares en el Perú. (Estudio TORNASOL), Revista Peruana de Cardiología Vol. XXXII-2008.
21. Dr. Eduardo Valdez, Hipertensión arterial. 2009. Madrid. Unidad Editorial, Revistas: 2010: 14:26h.
22. Dra. Isabel Hartman; Agentes Antihipertensivos; Facultad de Medicina – UNNE: 2008.
23. Dra. Lizette Elena Leiva Suero, Dra. Haydeé Aurora del Pozo Jeréz y Dr. Delfín Pérez Caballero. Óxido nítrico y su relación con la hipertensión arterial. Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras": 2003.
24. Duarte Susana (2005) "Guía Familiar de Remedias Caseros Naturales"
25. Elvira Daniela, Cabello Jesus. Efectos de alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus tricolor* sobre la presión arterial en ratas normotensas e hipertensas. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Cybertesis Chile-UACH. 2003. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fvc114/doc/fvc114.pdf>
26. Fatehi M, Saleh T, Fatehi Z, Farrokhfal K, Jafarzadeh M, Davodi S. A pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract. Journal of Ethnopharmacology. 2005; 102: 46–52.
27. Florez Chavez Pedro, Infante Oscar, Torres Gustavo, Memije Raul, Rossini Genaro. Detección de signos vitales en ratas mediante métodos no invasivos. Vet. Mex. 2002. Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/vol33-02/RVM33209.pdf>
28. Fortuño A, San José G, Moreno M, Díez J, Zalba G. Oxidative stress and vascular remodeling. Exp Physiol. 2005; 90: 457-462.
29. Fox JG. Laboratory animal medicine. New York: Academic Press, 1984.
30. Ganong W. Fisiología Médica. 16a Edición. Ciudad de México. El Manual Moderno, SA. 1998. Pág. 358.
31. García P, Urrego J, D'Achiardi R, Delgado V. Hipertensión arterial: diagnóstico y manejo. Universitas Médica. 2004; 45 (2): 77 – 84.

32. González M, Soto M, Kite G. Flavonoides contenidos en tallos de orégano (*Lippia graveolens* H.B.K. f. *Berlandieri* Schauer.) con propiedades antiinflamatorias. Instituto Politécnico Nacional. UK. 2003.
33. Gorduza V, Tarabasanu C, Gorduza A, Cernatescu C, Rusu M. Structure-reactivity relationships of antioxidant flavonoides. Ovidius University Annals of Chemistry. 2000; 11 (1): 56-59.
34. Hernandez F. de Alvarado E., Pineda E., Metodología de la investigación manual para el desarrollo del personal de salud; organización panamericana de la salud PASCCAP ;1990.
35. Huaranca Urquiza Efrén (2009) Elaboración de Liposomas del Extracto Seco de *Urtica urens* Linneo "ortiga" y Evaluación de su Efecto Hipoglucemiante en Diabetes experimental inducida en ratas. UNSAAC, CP. Farmacia y Bioquímica, Cusco-Peru.
36. Infante Vázquez Oscar / Pedro L. Flores Chávez / Gustavo Sánchez Torres / Raúl Martínez Memije / Genaro Rodríguez Rossini Detección de signos vitales en ratas mediante métodos no Invasivos. Instituto Nacional de Salud, abril-junio, año/vol. 33, número 002 Universidad Nacional mayor de San Marcos, Lima-Perú 2005.
37. Interhiper Medicina (2003) "Fitoterapia Vademécum de Prescripción de Plantas Medicinales".
38. Jorge Ramírez, M.D., MSc., Mauricio Palacios, M.D, MSc., Oscar Gutiérrez, M.D., M.Sc. Estudio del efecto antihipertensivo de la Salvia scutellarioides en un modelo de ratas hipertensas. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Medicina, Universidad del Valle, Cali, Colombia. 2006.
39. Katzung B. Farmacología básica y clínica. México. Editorial El Manual Moderno. 2001. Pág. 181 – 208.
40. Kerr Susanne, Brosnan M. Julia, McIntyre Martin, Reid John L., Dominiczak Anna F., Hamilton Carlene A. Superoxide Anion Production is Increased in a Model of Genetic Hypertension – Role of the Endothelium. Hypertension by American Heart Association. 1999. Disponible en <http://hyper.ahajournals.org/cgi/reprint/33/6/1353>
41. Kearney PM, Whelton M., Reynolds K., Whelton PK, He J. Department of Epidemiology University School of Public Health and Tropical Medicine,

- New Orleans, LA 70112, USA, 2007.
42. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Primera Edición. Barcelona – España. Editorial Omega S.A. 2003. Pág. 32-41.
  43. Litter Manuel, compendio de farmacología 5° edición, editorial “el eteneo” 2001 Argentina.
  44. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica – Métodos en el estudio de Productos Naturales. Lima-Perú. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, 2da edición.2008. Lima-Perú.
  45. López PJ. Las enfermedades cardiovasculares en los países subdesarrollados. En: Bioquímica del endotelio vascular: implicaciones fisiológicas y clínicas. 5ª ed. Bogotá, D.C.: Horizonte Impresores; 2009. p.21-34.
  46. Lorke D., A New Approach to practical acute toxicity testing. Archives of toxicology, 1983.
  47. Luna A. Luis M.; 2008; Plantas Medicinales Mexicanas para tratar algunos dolores de cabeza; Mexico, disponible desde: <http://www.tlahui.com/medic/medic18/plantu1.htm>.
  48. Maicas C, Lázaro E, Alcalá J, Hernández P, Rodríguez L. Etiología y fisiopatología de la hipertensión arterial esencial. Monocardio. 2003; V (3): 141-160.
  49. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición hospitalaria 2002; XVII (6): 271-278.
  50. Martinez, Santiago, M. N. Chiguasuque, R. Casallas. Fiscagoscua. Manual Medico para la Cmunidad Indígena Muisca de Bosa. Bogotá. Hospital Pablo VI Bosa. (2006).
  51. Martorell Y Matas, Terapia Natural, Plantas Medicinales Barcelona 2009.
  52. Mcs.Villena Tejada magaly . Metodos de Investigacio Científica y Tecnológica, 2008.
  53. MINSA. Guía de Hipertensión Arterial. Ministerio de Salud del Perú. 2005. [www.minsa.gob.pe/portal/03Estrategias-Nacionales/06ESN-NoTransmisibles/Archivos/Guía de HTA2005.pdf](http://www.minsa.gob.pe/portal/03Estrategias-Nacionales/06ESN-NoTransmisibles/Archivos/Guía de HTA2005.pdf). 19 de Julio 2007.
  54. Miranda Katrina M., Espey Michael G., Wink David A. A Rapid Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and

Nitrite. National Cancer Institute, Bethesda, Maryland. Jan 2001.  
Disponible en:

<http://www.uwyo.edu/chem4100fall2006/exp%205/expt5ref4.pdf>

55. Molina R, Martí J. Traducción del JonitNationalCommittee - 7º Informe. Grupos de HTA de semFYC y SAMFyC. España. 2003.
56. Moore David M. Fox JG. Laboratory animal medicine and science series II. Office of Animal Resources Virginia Polytechnic Institute and State University and the Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine Blacksburg, Virginia. 1984. Disponible en: <http://ehs.uc.edu/lams/data/pdfs/9041.pdf>
57. Moscoso M. Secretos Medicinales De La Flora Peruana Y Guia De La Maternidad 4ª ED. PERU-1997.
58. Navarro Moll, M. Concepción (2006) Actualidad en Farmacología y Terapéutica.
59. Navarro Moll, N. Concepción; 2003, disponible desde: <http://www.Correfarmaceutico.com/edición/noticia/0,22458406534,00>.
60. Newton. Tercera Edición 2009. Disponible desde: [http://www.Portafarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/vodocumentos/BFOED8889267BF7FC125C125CB670057FB4F/\\$file/ortiga\\_MAYOr.htm](http://www.Portafarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/vodocumentos/BFOED8889267BF7FC125C125CB670057FB4F/$file/ortiga_MAYOr.htm).
61. Norma R. Risler, Roberto M. Mlatello\*, Montserrat C. Cruzado La pared vascular en la hipertensión arterial, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza. Área de Fisiopatología. Departamento de Patología. (2005) Mendoza. Argentina.
62. Nosratola D. Vaziri, Zhenmin Ni, Fariba Oveisi and Debra L., Trnnavsky – Hobbs. Effect of Antioxidant Therapy on Blood Pressure and NO Synthase Expression in Hypertension by American Heart Association. 2000. Disponible en <http://hyper.ahajournals.org/36/6/957.full.pdf+html>
63. Pahlow, M. (1985). El gran libro de las plantas medicinales. Editorial Everest S.A. 6ta.edición.
64. Pahlow, M. (2005). El gran libro de las plantas medicinales. Editorial Everest S.A. 10ma.edición.

65. Paola García Padilla, Juan Carlos Urrego Rubio , Roberto D'Achiardi Rey , Víctor Delgado Reyes. Hipertensión arterial: diagnóstico y manejo .editorial: universitas médica 2004 vol. 45 nº 2.
66. Pechanova O, Dobesova Z, Cejka J, Kunes J, Zicha J. Vasoactive systems in L-NAME hypertension: the role of inducible nitric oxide synthase. J Hypertens 2004; 22: 167-173. Pharmacological Research. 2005; 52: 438 – 444.
67. Phillips O, Mathewb C, Oriowo M. Antihypertensive and vasodilator effects of methanolic and aqueous extracts of *Tribulus terrestris* in rats. Journal of Ethnopharmacology. 2006; 104: 351–355.
68. Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. Cardiovasc Res 1998; 39: 77-88.
69. Pravenec M, Kren V. Genetic analysis of complex cardiovascular traits in the spontaneously hypertensive rat. ExpPhysiol 2005; 90: 273-276.
70. Ramírez J, Palacios M, Gutiérrez O. Estudio del efecto antihipertensivo de la *Salvia scutellarioides* en un modelo de ratas hipertensas. Colombia Médica. Cali – Colombia. 2006; 37 (1): 53 – 60.
71. Raúl Gamboa A. Fisiopatología de la hipertensión arterial esencial .Acta Med Per. 23(2) 2006.
72. Raúl Gamboa A. Profesor Emérito e Investigador de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Médico cardiólogo .Fisiopatología de la hipertensión arterial esencial , Acta Med Per. 23(2) 2006.
73. Régulo Agusti C. Medico Cardiologo. Profesor Emerito. Epidemiología de la Hipertensión Arterial en el Perú. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Ex Presidente de la Sociedad Peruana de Cardiología. 2010.
74. Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. Medicinal Research Reviews. 2003. 23 (4): 519-534.
75. Rincon de Ratas. Anatomía de la Rata. Disponible en: <http://rinconderatas.wordpress.com/descripción-de-la-especie/anatomía-de-la-rata/la-cola/>
76. Rivas J, Gutiérrez C, Rivas J. Tratamiento y costos farmacológicos de la hipertensión arterial no complicada. RevSocPeruMed Interna 2007; 20 (4): 139-144.

77. Rodriguez I, Wangenstein R, Atucha N, O'Valle F, Del Moral R, García J, et al. Effects of Omapatrilat on blood pressure and renal injury in L-NAME and L-NAME plus DOCA-treated rats. 2003; 16: 33-38.
78. Rojas j, Ronceros S, Palomino R, Tomás G, Chenguayen J. Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas de *Pasiflora edulis* (maracuyá), en ratas. *An Fac Med.* 2006; 67 (3): 206-213.
79. Rondón S, Cluet de Rodríguez I, Rossell M, Alvarez T. Niveles séricos de óxido nítrico en adolescentes con antecedentes hereditarios de hipertensión arterial sistémica. *Archivos venezolanos de puericultura y pediatría.* 2002; 65(4): 159-164.
80. Sanchez Mendoza M. Alicia, Martinez Ayala Sonia O., Hernandez Hernandez Jose, Zuñiga Sosa Leonor, Pastelin Hernandez Gustavo, Escalante Acosta Bruno A. participación de óxido nítrico y los metabolitos del ácido araquidónico via citocromo P450 en la regulación de la presión arterial. Instituto Nacional de Cradiologia Ignacio Chavez. Abr – Jun 2003. Vol 73; pp. 98 – 104. Disponible en: <http://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/1/6/DEA2009.pdf>
81. Schahuemberg Paul (1972) Guía de las Plantas Medicinales Condorhuamán Figueroa Yovani Martin (2009), Efecto Hipotensor del Extracto Acuoso de *Calceolaria myriophylla* Kraenz en ratas Hipertensas Inducidas por L-NAME.
82. Serrano Carlos (2002) Composición Química de algunas Plantas Medicinales del Perú.
83. Sharifi A, Akbarloo N, Darabi R. Investigation of local ACE activity and structural alterations during development of L-NAME induced hypertension. 2005.
84. Sociedad Venezolana de Medicina Interna. 2001; 17 (2): 1 – 7. Maicas C, Lázaro E, Alcalá J, Hernández P, Rodríguez L. Etiología y fisiopatología de la hipertensión arterial esencial. *Monocardio.* 2003; V (3): 141-160.
85. Staessen JA, Wang J, Bianchi G, Birkenhager WH. Essential hypertension. *Lancet* 2005; 36: 1629-1641.  
Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J.

- Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. Lancet 2007; 365:217-223.
86. Torok J. Participation of Nitric Oxide in Different Models of Experimental Hypertension.
87. Tug Tencer, Karatas Fikret, Tersli Selim Murat, Ozdemir Necmi. Comparison of Serum Malondialdehyde Levels Determined by two Different Methods in Patients with CODP: HPLC or TBARS Methods. Faculty of Medicine, Elazg-Turkey. Lab Medicine Review. Vol. 36, num 1, pp 41-44. Disponible en:  
<http://labmed.ascpjournals.org/content/36/1/41.full.pdf>
88. Veloz de Reto, R. (2009). Guía moderna de medicina natural. Editorial Asdimor. 4ta Edición. España.
89. Yamanaka S., Hashimoto M., Tobe M., Kobayashi K., Sekizawa J., A simple method for screening assessment of acute toxicity of chemicals. Archives of toxicology, 1990.
90. Zalles A. Jaime; Vademécum Botánico 2001. Disponible desde:  
<http://www.redeingena.net/kallawya/vademecum.htm>.
91. Zarzuelo A. Duarte J., Jimenez J., Gonzalez M. Utrilla M. P. Vasodilatar Effect of Olive Leaf. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, University of Granada. 2006.

# ANEXOS

ANEXO N° 1

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLANTA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- APARTADO POSTAL  
N° 921 - Cusco - Perú
- FAX: 238156 - 238173 - 222512
- RECTORADO  
Calle Tigre N° 127  
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398
- CIUDAD UNIVERSITARIA  
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210  
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- LOCAL CENTRAL  
Plaza de Armas s/n  
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- MUSEO INKA  
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA  
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"  
Av. De la Cultura N° 721  
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

EL QUE SUSCRIBE, PROFESOR INVESTIGADOR ASOCIADO AL  
HERBARIO VARGAS (CUZ).

CERTIFICA:

Que las Señoritas **Lisset Anali Yllatupa Palomino** y **Ritka Ramirez Candia**; Bachilleres de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Físicas, Químicas Farmacia e Informática de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, han solicitado a la Dirección del Herbario (CUZ), la determinación taxonómica de una especie vegetal, la misma al ser diagnosticada utilizando bibliografía especializada y muestras del Herbario, corresponde a la especie: *Urtica magellanica*, cuya posición taxonómica de acuerdo con el Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas ( Angiosperm Phylogeny Group , APG III (2009), es la siguiente:

División : Magnoliophyta (= Angiospermas)  
Clase : Magnoliopsida =Tricolpados (Eudicotiledoneas)  
Subclase : Magnoliidae  
Super orden : Rosanae  
Orden : Rosales  
Familia : Urticaceae  
Género : Urtica

Especie : *Urtica magellanica* Juss. & Poir.

Sinonimia: *Urtica dioica* var. *pygnantha* Wedd. & DC.

Nombres comunes: "api quisa", "mula quisa", "orko quisa"

Se expide la presente certificación, para fines que vieran por conveniente las interesadas.

Cusco, 20 noviembre del 2012

  
Al. C. Dña. Alfredo Tupayachi Herrera  
Prof. Investigador Asociado al Herbario Vargas (CUZ)

## ANEXO N°2

### FICHA ESTRUCTURADA PARA LA RECOLECCION DE DATOS DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

PRUEBAS DE SOLUBILIDAD		
EXTRACTO: FECHA:		
SOLVENTE	RESULTADOS	NATURALEZA DEL SOLVENTE
Hexano		
Benceno		
Eter etílico		
Cloroformo		
Acetato de etilo		
Acetona		
Metanol		
Metanol		
Etanol 70%		
Etanol 90%		
Agua		
Agua (tamponada pH 7)		

Leyenda	
80-100	Totalmente soluble
60-80	Parcialmente soluble
40-60	Poco soluble
20-40	Muy poco soluble
0-20	Insoluble

**ANEXO N° 3**  
**FICHA EXTRACTURADA PARA LA RECOLECCION DE DATOS DE**  
**ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO**

<b>Análisis Fitoquímico Cualitativo</b>		
<b>Componentes</b>	<b>Reactivos de Prueba</b>	<b>Resultados</b>
Esteroides	Lieberman Burchard	
Triterpenoides	Lieberman Burchard	
Resinas	Acetato de Plomo	
Aminoácidos	Ninhidrina	
Compuestos fenólicos	Cloruro Ferrico 1%	
Taninos	Gelatina, NaCl	
Flavonoides	Reactivo de Shinoda	
Saponinas	Pruebas de Espuma	
Quinonas	Borntrager	
Alcaloides	Reactivo de Dragendorf	
Glicosidos	Soluc. Yodo 0.1N	
Azúcares reductores	Felhing A y B	

<b>Leyenda</b>	
+++	Abundante cantidad
++-	Moderada cantidad
+--	Escasa cantidad
---	Negativo

## **ANEXO N° 4**

### **ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO**

Estas pruebas rápidas para forrajes consisten en la evaluación cualitativa (por cambios de coloración) de la presencia de metabolitos secundarios como son los fenoles, esteroides, alcaloides, flavonoides, saponinas, etc.

#### **DETERMINACIÓN DE SAPONINAS**

##### **Índice afrosimétrico o prueba de la espuma**

En un tubo de ensayo se colocan 0.5 g de extracto vegetal y se le agrega 10 ml de agua. Se agita vigorosamente por 30 segundos y se deja en reposo durante 15 minutos. Se considera positivo si la espuma sobrenadante tiene una altura mayor 5mm.

#### **DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS**

##### **Reacción con FeCl (1% en H<sub>2</sub>O)**

Se toma 0.5 ml de extracto y se reparte en 5 lunas de reloj, añadiendo unas gotas de agua destilada. Se deja un testigo y se adiciona una gota de cloruro férrico en el segundo, dos en el tercero y así sucesivamente hasta llegar al quinto. Coloraciones verdes a marrón para derivados de catecol y coloraciones azuladas para derivados de pirogalol.

#### **DETERMINACIÓN DE TANINOS**

##### **Reacción con gelatina- NaCl (1 gr de gelatina + 100 ml H<sub>2</sub>O + 10 gr NaCl)**

A 0.5 ml de extracto agregar 3 a 5 gotas de la solución gelatina sal. Formación de un precipitado indica prueba positiva.

##### **Reacción con acetato de plomo**

A 0.5 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de acetato de plomo. Formación de precipitado indica prueba positiva.

#### **DETERMINACIÓN DE TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES**

##### **Reacción de Lieberman- Burchard**

Se coloca aproximadamente 0.5 ml de extracto; y se agrega 2 a 3 gotas del reactivo de Lieberman- Burchard. Una coloración azulada o verde para

esteroides, rojo, rosado o violeta para triterpenos y amarillo pálido para esteroides o triterpenos saturados.

## **DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES**

### **Reacción de Dragendorf**

Se toma 0.5 ml de la solución acida del extracto y agregar 2 a 3 gotas de reactivo de Dragendorf. La formación de un precipitado o coloración roja indica prueba positiva para alcaloides.

### **Reacción de Mayer**

Se toma 0.5 ml del extracto acuoso y agregar 2 a 3 gotas de reactivo de Mayer. La formación de un precipitado blanco o blanco amarillento indica prueba positiva para alcaloides.

### **Reacción de Wagner**

Se toma 0.5 ml de solución acida del extracto y agregar 2 a 3 gotas del reactivo de Wagner. La formación de un precipitado marrón indica prueba positiva para alcaloides.

## **DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES**

### **Reacción de Shinoda**

A una parte del extracto se le agrega un trozo de magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. Coloración amarilla a roja para flavonas y Flavonoides, rojo a magenta para flavanoles coloca un pequeño, rojo, magenta, Violeta, azul para azul no dan coloraciones isoflavononas, chalconas y auronas.

### **Prueba del amoniac**

En una tira de papel filtro se coloca una gota del extracto. Se seca y se expone a los vapores de amoniac. Coloración amarilla para flavonas, flavonoles y xantonas, amarillo-rojo para chalconas y auronas, naranja para dihidroflavonoides, incoloro-naranja para dihidroflavonas y azul para antocianinas.

## **DETERMINACIÓN DE QUINONAS**

### **Reacción de Benedict**

A 0.5 ml del extracto agregar 0.2 ml del reactivo de Benedict, se somete a ebullición por 5 minutos y se deja enfriar. La formación de un precipitado rojo ladrillo indica positivo para azúcares reductores.

## **DETERMINACIÓN DE GLICÓSIDOS**

### **Reacción de Benedict modificado**

A 200mg de extracto agregar 2ml de HCl al 1% y refluxar por 5 minutos, enfriar, neutralizar con NaOH al 1% y realizar la reacción de Benedict. La formación de un precipitado rojo ladrillo indica positivo para glicósidos.

## **DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS**

### **Reacción de ninhidrina**

A 0.5 ml de extracto acidificado (HCl 1%) calentar por 5 minutos en baño de agua a ebullición. Coloraciones rojizas, violetas o amarillas indican prueba positiva.

**ANEXO N° 5**  
**FICHA ESTRUCTURADA PARA LA RECOLECCION DE DATOS PARA LA**  
**EVALUACION DE LA PRESION**

grupo	peso	Presión sistólica					Prom	Presión diastólica					Prom	Presión media					Prom
CS L-NAME		M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5		M1	M2	M3	M4	M5		
1																			
2																			
3																			
4																			
5																			
6																			
CC L-NAME																			
1																			
2																			
3																			
4																			
5																			
6																			
EXT 50mg/Kg																			
1																			
2																			
3																			
4																			
5																			
6																			
EXT 100mg/Kg																			
1																			
2																			
3																			
4																			
5																			
6																			
EXT 200mg/Kg																			
1																			
2																			
3																			
4																			
5																			
6																			
ENA 25mg/Kg																			
1																			
2																			

3																			
4																			
5																			
6																			

<b>LEYENDA</b>	
CC L-NAME	Grupo control con L-NAME
CS L-NAME	Grupo control sin L-NAME
EXT 50 mg/Kg	Grupo tratamiento con extracto 50 mg/Kg
EXT 100 mg/Kg	Grupo tratamiento con extracto 100 mg/Kg
EXT 200 mg/Kg	Grupo tratamiento con extracto 200 mg/Kg
ENA 25 mg/Kg	Grupo tratamiento con Enalapril 25 mg/Kg

**ANEXO N°6**  
**FICHA DE ADMINISTRACION DE DOSIS**

GRUPO	PESO	Tratamiento (ml)					
CS L-NAME		H <sub>2</sub> O <sub>(d)</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>(d)</sub>	EXT 50mg/Kg	EXT 100mg/Kg	EXT 200mg/Kg	ENA 25mg/Kg
1							
2							
3							
4							
5							
6							
CC L-NAME							
1							
2							
3							
4							
5							
6							
EXT 50mg/Kg							
1							
2							
3							
4							
5							
6							
EXT100mg/Kg							
1							
2							
3							
4							
5							
6							
EXT 200mg/Kg							
1							
2							
3							
4							
5							
6							
ENA 25mg/Kg							
1							
2							
3							

4							
5							
6							

<b>LEYENDA</b>	
CC L-NAME	Grupo control con L-NAME
CS L-NAME	Grupo control sin L-NAME
EXT 50 mg/Kg	Grupo tratamiento con extracto 50 mg/Kg
EXT 100 mg/Kg	Grupo tratamiento con extracto 100 mg/Kg
EXT 200 mg/Kg	Grupo tratamiento con extracto 200 mg/Kg
ENA 25 mg/Kg	Grupo tratamiento con Enalapril 25 mg/Kg

**ANEXO N°7**  
**ARCHIVO FOTOGRAFICO**  
**FOTOGRAFÍA N° 1**



En la fotografía se muestra la recolección de la especie vegetal *Urtica magellanica* (ortiga).

**FOTOGRAFÍA N° 2**



En la fotografía se muestra el secado de las hojas de la especie vegetal *Urtica magellanica* (ortiga).

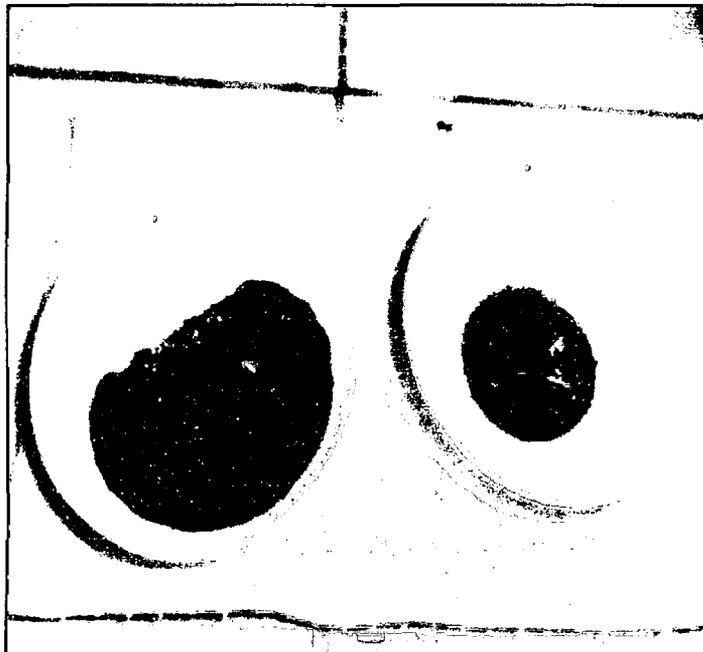
### FOTOGRAFÍA N° 3

En la fotografía se muestra el método de extracción



#### FOTOGRAFÍA N° 4

En la fotografía se muestra la evaporación de los extractos en una estufa a 30°C.



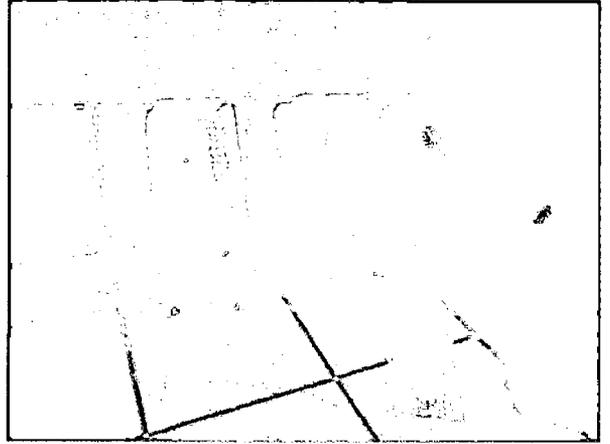
#### FOTOGRAFÍA N° 5

En la fotografía se muestra la distribución de las ratas Holtzman en los diferentes grupos experimentales



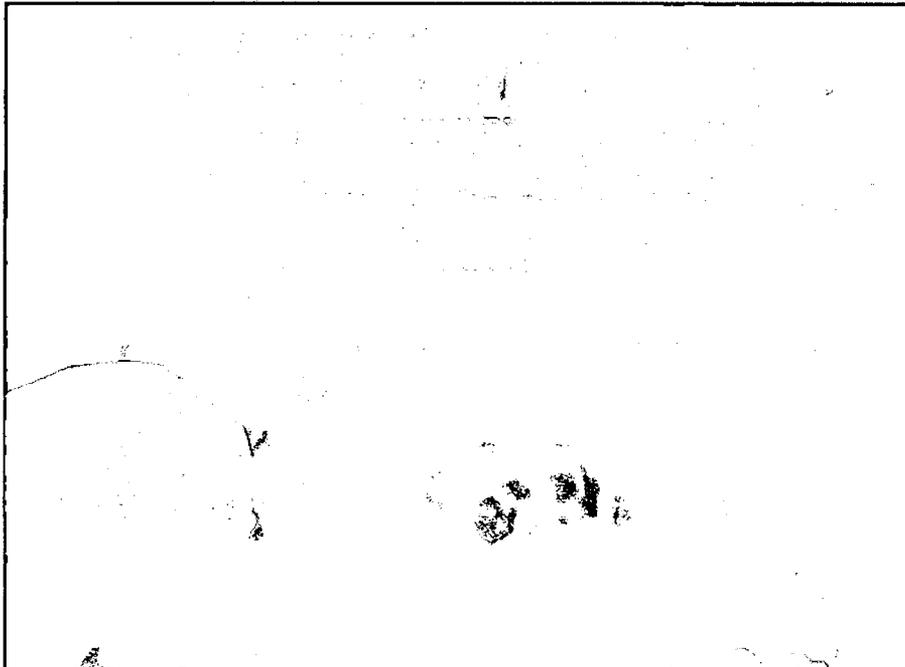
## FOTOGRAFIA N° 6

La fotografía muestra la elaboración de cepos para ratas.



## FOTOGRAFIA N° 7

La fotografía muestra la adaptación de las ratas a los cepos



## FOTOGRAFIA N° 8



La fotografía muestra a los animales de experimentación en los cepos a una temperatura de 40°C.

## FOTOGRAFIA N° 9



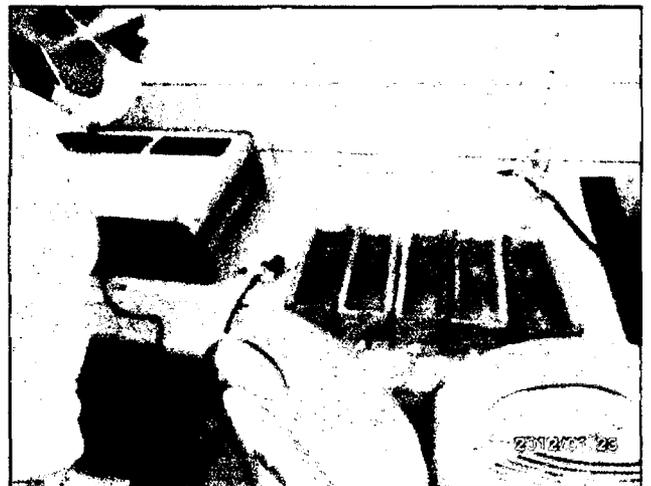
La fotografía muestra la administración del L-NAME por vía oral.

### FOTOGRAFÍA N° 10



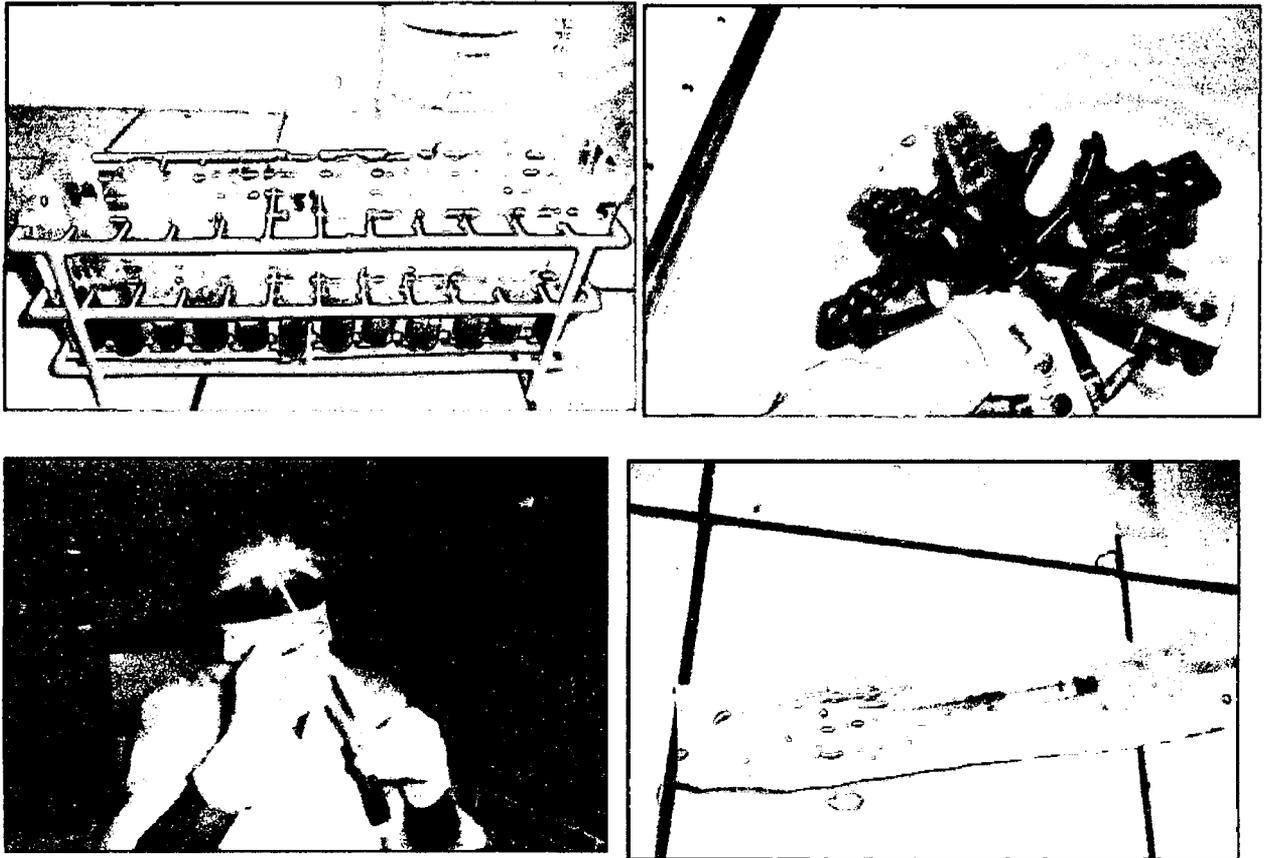
En la fotografía se muestra la administración del extracto por vía oral con una cánula orogástrica.

### FOTOGRAFIA N° 11



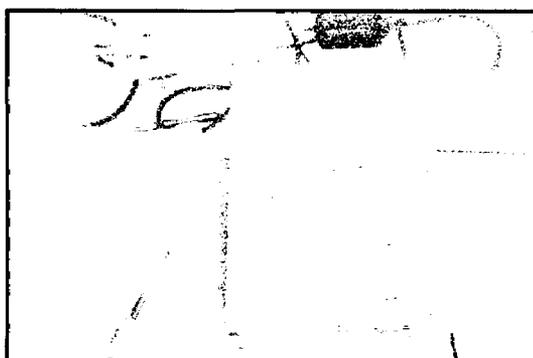
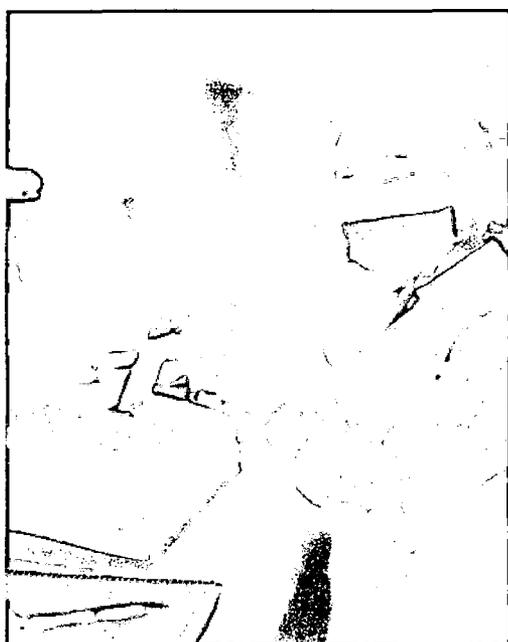
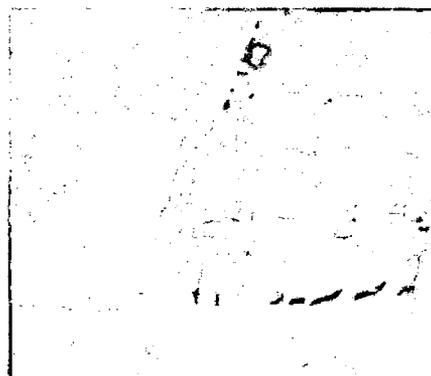
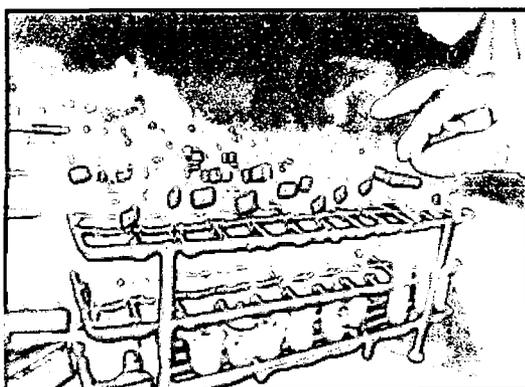
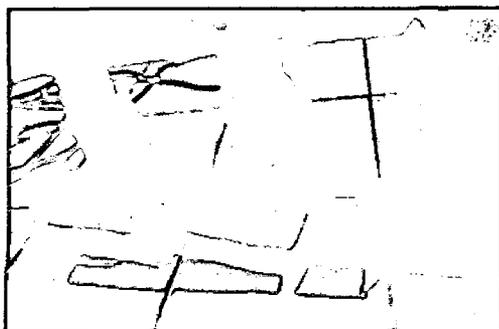
La fotografía muestra la medición de las presiones, ratas en cecos, a una temperatura de 40 °C.

FOTOGRAFIA N° 12



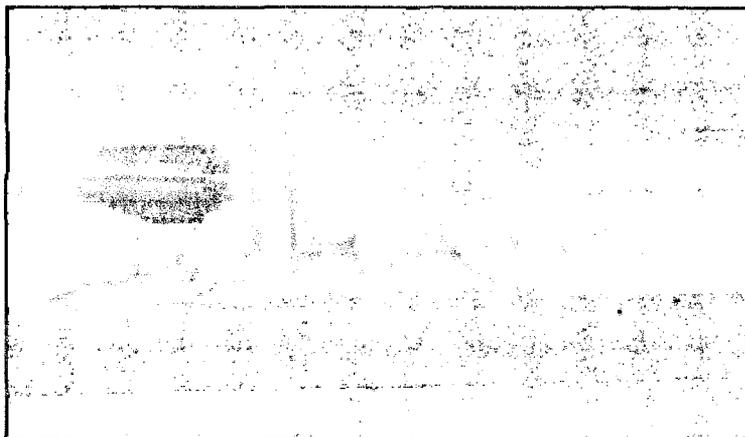
La fotografía muestra la muestra de sangre que se obtuvo por punción intracardiaca para luego ser centrifugada y sacar el suero para el cálculo de Oxido nítrico y Malondialdehido.

**FOTOGRAFIA N° 13**



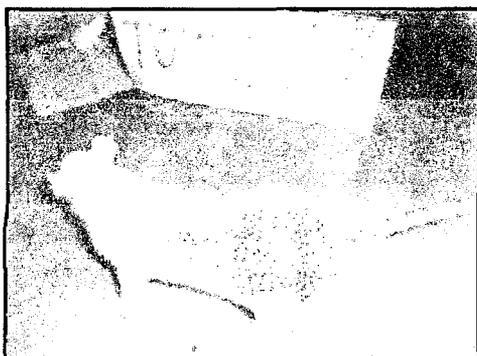
Las fotografías muestran el proceso para la determinación de los niveles séricos de óxido nítrico y malondialdehído.

#### FOTOGRAFIA N°14



La fotografía muestra la agrupación de los animales de experimentación para la evaluación de la toxicidad aguda.

#### FOTOGRAFIA N° 15



La fotografía muestra la administración del extracto acuoso de *Urtica magellanica* (ortiga) para la evolución de la toxicidad aguda.