



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**NIVELES PORCENTUALES DE LOS EFECTOS
ANTIESPASMÓDICOS DE *Clinopodium weberbaueri*,
N – BUTILBROMURO DE HIOSCINA Y ATROPINA
SOBRE EL DUODENO CONTRAÍDO DE *Rattus rattus***

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

AUTOR

LLAMA MILLA, AGUSTIN ORLANDO
ORCID: 0000-0001-7076-0214

ASESOR

ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA
ORCID: 0000-0003-2547-9831

CHIMBOTE – PERÚ

2020



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**NIVELES PORCENTUALES DE LOS EFECTOS
ANTIESPASMÓDICOS DE *Clinopodium weberbaueri*,
N – BUTILBROMURO DE HIOSCINA Y ATROPINA
SOBRE EL DUODENO CONTRAÍDO DE *Rattus rattus***

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

AUTOR

LLAMA MILLA, AGUSTIN ORLANDO
ORCID: 0000-0001-7076-0214

ASESOR

ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA
ORCID: 0000-0003-2547-9831

CHIMBOTE – PERÚ

2020

TÍTULO

**NIVELES PORCENTUALES DE LOS EFECTOS
ANTIESPASMÓDICOS DE *Clinopodium weberbaueri*,
N – BUTILBROMURO DE HIOSCINA Y ATROPINA
SOBRE EL DUODENO CONTRAÍDO DE *Rattus rattus***

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Llama Milla, Agustin Orlando

ORCID: 0000-0001-7076-0214

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Egresado, Chimbote,
Perú

ASESOR

Zevallos Escobar, Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote,
Perú

JURADO

DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

RODAS TRUJILLO, KAREM JUSTHIN

ORCID: 0000-0002-8873-8725

JURADO EVALUADOR

Dr. Díaz Ortega, Jorge Luis

PRESIDENTE

Mgtr. Ramírez Romero, Teodoro Walter

MIEMBRO DEL JURADO

Mgtr. Rodas Trujillo, Karem Justhin

MIEMBRO DEL JURADO

Mgtr. Zevallos Escobar, Liz Elva

ASESOR

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por haberme guiado y acompañado a lo largo de mi carrera profesional, por fortalecerme en los instantes de debilidad y por ofrecerme una existencia llena de conocimientos, experiencias y sobre todo bienestar, tranquilidad y buena salud.

A mi asesora Liz Zevallos Escobar, por su asesoría, orientación y paciencia permanente en todo el trayecto del desarrollo de la presente tesis.

Le agradezco mis padres Demetrio y Marcelina por su ayuda constante, los valores infundidos y haberme brindado la oportunidad de formarme en una extraordinaria educación durante el trayecto de mi vida.

A mis hermanas y hermano, a Sara, Charo y Dante por el apoyo incondicional que me ayudo a superar dificultades y obstáculos que se presentaban en el trayecto de mi carrera y del cual no estaba obviada esta investigación.

A la Sra. Maria Yacila por su espíritu de humanidad y bondad que sin condición alguna formo parte de esta investigación con sus buenos consejos y aportes que siempre serán recordados y tomados como ejemplo en beneficio para con nuestro prójimo.

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicado a mis padres Demetrio y Marcelina por ser los ejes principales y los pilares más importantes en mi vida, quienes me demostraron su afecto, apoyo y cariño brindándome consejos y comprensión, así mismo, me enseñaron a perseverar en la vida para alcanzar un objetivo y demostrarme que la unión hace posible conseguir y superar grandes retos que parecen inalcanzable.

A mis hermanas y hermano por brindarme sus buenos deseos y motivarme día a día y compartir tanta alegría en los momentos más difíciles que me ayudaron a superar dificultades y obstáculos que se exponían en el tránsito de mi carrera y de esta investigación.

Por ello y muchos aspectos y razones esta dedicatoria es para ustedes porque de alguna u otra manera formaron parte y contribuyeron a mi formación y con ello al estudio de esta tesis y por ende al informe de la misma.

RESUMEN

El presente informe de investigación, da respuesta a la interrogante: ¿El nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la *Clinopodium weberbaueri* será igual a los niveles porcentuales de la N-butilbromuro de hioscina y atropina en duodenos contraídos de *Rattus rattus*?, el objetivo principal fue Determinar el nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la *Clinopodium weberbaueri*, N-butilbromuro de hioscina y atropina en duodeno contraído de *Rattus rattus*. La metodología empleada fue el de órgano aislado con estímulo creciente, se utilizaron 4 especímenes de *Rattus rattus*, la parte trabajada del espécimen fue el duodeno, que, tras la adición de 6ml de Acetilcolina al 15% al grupo control (G1) fueron evaluadas el nivel de amplitud contracción, el nivel de amplitud de relajación se evaluó tras la adición de 0.6ml de *Clinopodium weberbaueri* al 15% y 20% respectivamente (grupo experimental G2 y G3), frente a 1ml de N-butilbromuro de Hioscina (grupo patrón G4) y 1ml de Atropina (grupo patrón G5), los resultados obtenidos dieron un nivel porcentual de amplitud de relajación de 57.69%, para la *Clinopodium weberbaueri* al 15% y de 92.12% para el extracto al 20%, para la N-butilbromuro de Hioscina y la Atropina fue el 100% respectivamente, en conclusión, los resultados de esta investigación demuestran que el nivel porcentual de amplitud de relajación del extracto de *Clinopodium weberbaueri* al 15% y 20% no son iguales a los niveles porcentuales de la N-butilbromuro de Hioscina y la Atropina en duodeno contraído de *Rattus rattus*.

Palabras claves: *Clinopodium weberbaueri*, amplitud, contracción, relajación.

ABSTRACT

This research report answers the question: Will the percentage level of the antispasmodic effect of *Clinopodium weberbaueri* be equal to the percentage levels of hyoscine N-butylbromide and atropine in contracted *Rattus rattus* duodenum? The main objective was To determine the percentage level of the antispasmodic effect of *Clinopodium weberbaueri*, hyoscine N-butylbromide and atropine in the contracted duodenum of *Rattus rattus*. The methodology used was that of an isolated organ with increasing stimulus, 4 specimens of *Rattus rattus* were used, the worked part of the specimen was the duodenum, which, after the addition of 6ml of Acetylcholine 15% to the control group (G1), the level of contraction amplitude, the level of relaxation amplitude was evaluated after the addition of 0.6ml of *Clinopodium weberbaueri* at 15% and 20% respectively (experimental group G2 and G3), compared to 1ml of Hyoscine N-butylbromide (standard group G4) and 1ml of Atropine (standard group G5), the results obtained gave a percentage level of relaxation amplitude of 57.69%, for *Clinopodium weberbaueri* at 15% and of 92.12% for the extract at 20%, for N-butylbromide of Hyoscine and Atropine were 100% respectively, in conclusion, the results of this research show that the percentage level of relaxation amplitude of the 15% and 20% *Clinopodium weberbaueri* extract are not equal to the percentage levels of Hyoscine N-butylbromide and Atropine in the contracted duodenum of *Rattus rattus*.

Keywords: Amplitude, *Clinopodium weberbaueri*, contraction, relaxation.

ÍNDICE

TÍTULO	
EQUIPO DE TRABAJO	
JURADO EVALUADOR	
ÍNDICE	
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN:.....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA:	5
2.1 Antecedentes:	5
2.2.-Bases teóricas de investigación:	7
2.2.1. Clinopodium weberbaueri (cangalle)	7
2.2.1.1-Descripción botánica.	7
2.2.1.2.-Estudio taxonómico.....	8
2.2.1.3.-Biodiversidad de la familia Lamiaceae.	8
2.2.1.4.-Distribución geográfica.	9
2.2.1.5.-Antecedentes etnobotánico.....	9
2.2.2.-Espasmos:.....	9
2.2.2.1.-Actividad antiespasmódica:	10
2.2.2.2.-Mecanismo de la contracción muscular según el fundamento químico molecular.	10
2.2.2.3.-Acetilcolina.	11
2.2.2.4.-Mecanismo de contracción por acción de la acetilcolina	11
2.2.3.-Mecanismo de la relajación muscular:	12
2.2.4.-Fármacos antiespasmódicos:	12
2.2.4.1.-Anticolinérgicos.	13
2.2.4.2.- N - butilbromuro de hioscina.	13
2.2.4.3.- <i>Atropina</i>	13
2.2.5.- <i>Rattus rattus</i> var. albinus o ratas de laboratorio:	14
2.2.5.1.-Ubicación del duodeno de <i>Rattus rattus</i>	15
III.- HIPÓTESIS:	16

IV.- METODOLOGÍA:	17
4.1.-Diseño de la investigación:	17
4.1.1.-Tipo de estudio:	17
4.1.2.-Nivel de investigación:.....	17
4.2.- Población y muestra:.....	18
4.2.1.-Población vegetal:	18
4.2.2.-Población biológica:.....	18
4.2.3.-Muestra vegetal:	18
4.2.4.- Muestra Biológica:	18
4.4.- Técnicas e instrumentos de recolección de datos:	19
4.4.1.- Preparación de la muestra vegetal ³⁹ :	19
4.4.1.1.- <i>Recolección de la muestra vegetal.</i>	19
4.4.1.2.- <i>Selección de la muestra vegetal.</i>	19
4.4.1.3.- <i>Lavado de las hojas de la muestra vegetal.</i>	20
4.4.1.4.- <i>Secado de la muestra vegetal.</i>	20
4.4.1.5.- <i>Pulverización de la muestra vegetal.</i>	20
4.4.2.-Metodología experimental:	20
4.4.2.1.- <i>Preparación del extracto seco.</i>	20
4.4.3.-Análisis fitoquímico para la determinación de metabolitos secundarios en la especie <i>Clinopodium weberbaueri</i> :	21
4.4.4.-Preparación de concentración de extracto Hidroalcohólico de <i>Clinopodium weberbaueri</i> :	22
4.4.5.-Preparación de la solución Tyrode.	22
4.4.6.-Preparación de sobredosis de Ketamina según el peso del espécimen (para el sacrificio del espécimen).	22
4.4.7.-Preparación del duodeno de <i>Rattus rattus</i> :	23
4.4.8.-Determinación de la amplitud:	25
4.4.8.1.- <i>Determinación de la amplitud basal.</i>	25
4.4.8.2.- <i>Determinación de la amplitud frente a espasmogeno.</i>	25
4.5.- Plan de análisis:	27
4.6.- Matriz de consistencia:	28
4.7.- Principios éticos:.....	29
V. RESULTADOS:	30

5.1.- Resultados:.....	30
5.2. Análisis de resultados:.....	36
VI. CONCLUSIÓN:	40
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	41
ANEXO:	55

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico 1. Consolidado de resultados promedio de amplitud de contracción y disminución de la amplitud.....	32
Grafico 2. Nivel de amplitud de contracción por acción de acetilcolina al 15%.....	33
Grafico 3. Amplitud de relajación por acción del extracto de <i>Clinopodium weberbaueri</i> , N-butilbromuro de hioscina y atropina respecto a la contracción ejercida por acción de acetilcolina.....	34
Grafico 4. Nivel porcentual de los efectos antiespasmódicos por acción del extracto de <i>Clinopodium weberbaueri</i> , N-butilbromuro de hioscina y atropina.....	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultado del Screening fitoquímico para identificación de metabolitos....	30
Tabla 2. Consolidado del resultado promedio de la amplitud de contracción por acción de la acetilcolina y disminución de la amplitud por acción del extracto hidroalcoholico de <i>Clinopodium weberbaueri</i> al 15%, 20%. N-butilbromuro de hioscina y atropina.....	31
Tabla 3. Determinación del nivel de amplitud de contracción del duodeno de <i>Rattus rattus</i> tras la inducción de acetilcolina.....	33
Tabla 4. Determinación del nivel de amplitud de relajación del duodeno de <i>Rattus rattus</i> tras la aplicación del extracto hidroalcoholico de <i>Clinopodium weberbaueri</i> , N-butilbromuro de hioscina y atropina.....	34
Tabla 5. Determinación del nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la <i>Clinopodium weberbaueri</i> , N-butilbromuro de hioscina y atropina en duodeno contraído de <i>Rattus rattus</i> tras el efecto de acetilcolina.....	35

I. INTRODUCCIÓN:

A nivel mundial, uno de los primeros motivos de consulta médica son los trastornos gastrointestinales, considerado a la vez como un problema de salud pública que perjudican a personas de distintas edades y condición social, siendo los grupos más vulnerables los niños, adolescentes y ancianos¹. Cuando hablamos de trastornos gastrointestinales nos referimos a una composición variable de manifestaciones crónicas o recurrentes como en las que se puede mencionar el síndrome de intestino irritable y la dispepsia funcional manifestada por dolores abdominales².

La prevalencia de los trastornos gastrointestinales a nivel mundial es muy elevada, pues alcanza un marco porcentual de 11% y 20% es por ello que a nivel asistencial genera una gran demanda que conlleva a un gasto elevado respecto a costes de consulta médica, posibles pruebas de diagnósticos y tratamiento farmacológico³. En revisiones halladas en el 2015, las cifras de prevalencia del síndrome de intestino irritable para Europa y América del norte está valorado en un porcentaje de 10% a 15% teniendo con 13.5% de estimación para Suecia⁴, por otra parte, revisiones científicas realizadas en el 2018 a 5 países (Panamá, Ecuador, El Salvador, Nicaragua y México) de Latinoamérica donde se incluía a niños y adolescentes entre 8 y 18 años de edad, refieren que la prevalencia del síndrome de intestino irritable para estos 5 países es de 4.4%, este resultado está basado en 1799 cuestionarios de la base de datos del grupo FINDERS⁵.

Los estudios sobre la prevalencia del síndrome de intestino irritable en el Perú son escasos, por ello, solo se hallaron datos en la selva y la zona costera del norte (Chiclayo) del Perú, siendo el % de un 37,6% y 34% respectivamente⁶; Por otra

parte, en otro estudio realizado a los pacientes atendidos en el Hospital Docente Trujillo del departamento de la Libertad los datos sobre la prevalencia del síndrome del intestino irritable fueron de un 22,5% de un total de 195 pacientes de ambos géneros y mayores de 18 años⁷.

Cuando se hace mención al síndrome de intestino irritable, nos referimos a cierto trastorno funcional muy prevalente, cuya característica predominante es la presencia de dolor abdominal, de compleja fisiopatología, de diversas manifestaciones clínicas y de múltiples posibilidades terapéuticas⁸. De acuerdo con lo descrito, el dolor abdominal, puede ser de intensidad variable, de forma constante, intermitente y de tipo cólico, entre los estímulos que generan este tipo de dolor, se encuentran los espasmos intestinales que son contracciones bruscas, involuntarias y persistentes de las fibras musculares intestinales⁹.

Para aliviar el dolor del tipo cólico abdominal a menudo se recurre a la medicina convencional como son los antiespasmódicos, conjunto farmacológico que tienen como fármacos principales a la atropina y N-butilbromuro de hioscina, anticolinérgicos que ayudan a prevenir o suspender las contracciones dolorosas e involuntarias del músculo liso intestinal, mediante el mecanismo farmacológico de antagonista competitivo¹⁰. En tiempos actuales muchas personas optan por la medicina natural y ven en ella una alternativa medicinal que alivian o curan sus males o problemas de salud¹¹.

En este estudio se presenta a la *Clinopodium weberbaueri* como medicina alternativa frente a problemas de espasmos intestinales¹², según los pobladores de los valles de la sierra de Ancash el uso tradicional e empírico de esta especie vegetal en su conjunto

(tallos, hojas y flores) ejercen acción positiva frente a dolores intestinales alcanzando el alivio a sus males.

Siendo los trastornos gastrointestinales un problema de salud pública y que entre ello se encuentra el dolor abdominal de tipo cólico y los espasmos gastrointestinales como manifestaciones más frecuentes, estos síntomas o males pueden ser tratables con fármacos convencionales tales como la N – butilbromuro de hioscina y atropina, y que a su vez estos fármacos ya tienen estudios clínicos realizados sobre la concentración para alcanzar su efectividad, minimizando de esta forma su reacción adversa; conociendo el nivel porcentual de la efectividad de la *Clinopodium weberbaueri* frente a los niveles porcentuales de la efectividad de los fármacos convencionales, se puede encontrar que se asemeje o se pueda mejorar la efectividad de la *Clinopodium weberbaueri* y que esta información pueda servir a otros estudios en el futuro o se pueda formular algún fitofármaco a una concentración correcta, y que a su vez estos fitofármacos sirvan y estén al alcance de las personas con los males antes mencionado.

El método de esta investigación está basado en una metodología experimental de órgano aislado con estímulo creciente tras la inducción de acetilcolina¹³. Así mismo los resultados obtenidos se evidencian mediante las tablas 2 (niveles de amplitud de contracción), tabla 3 (nivel de la amplitud de relajación) y los niveles porcentuales del efecto antiespasmódicos se muestran en la tabla 4 de esta investigación) estos resultados fueron hallados según las lecturas del programa LABSCRIBE de la cámara de órgano aislado, los niveles porcentuales hallados para la *Clinopodium weberbaueri* frente a los niveles de los fármacos convencionales, fueron

satisfactorios ya que a la concentración de 20% del extracto muestra una gran similitud con los niveles porcentuales de la N-butilbromuro de hioscina y atropina.

En el direccionamiento de este estudio se ha planteado la siguiente interrogante de investigación:

¿El nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la *Clinopodium weberbaueri* será igual a los niveles porcentuales de la N-butilbromuro de hioscina y atropina en duodenos contraídos de *Rattus rattus*?

Por ello, en esta investigación se tuvo por:

Objetivo general:

- Determinar el nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la *Clinopodium weberbaueri*, N – butilbromuro de hioscina y de atropina en duodeno contraído de *Rattus rattus*.

Objetivo específico:

- Determinar el nivel de la amplitud de contracción del duodeno de *Rattus rattus* tras la inducción de la acetilcolina.
- Determinar el nivel de amplitud de relajación del duodeno de *Rattus rattus* tras la aplicación del extracto hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri*, N-butilbromuro de hioscina y atropina.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA:

2.1 Antecedentes:

En la indagación de antecedentes con actividad antiespasmódica, hasta la actualidad no se hallaron evidencias de estudios científicos con la especie *Clinopodium weberbaueri* que demuestre los niveles porcentuales del efecto antiespasmódico frente a los niveles porcentuales de la Atropina y N- butilbromuro de hioscina, pero existen reportes de estudios vinculados a la misma familia (Lamiaceae) de la especie que reportan tener actividad antiespasmódica, de las cuales se presentan a continuación.

Codruta S. et al¹⁴. Realizaron un estudio en el año 2019, en Rumania basada sobre el Efecto antiespasmódico de los aceites esenciales y sus Componentes: una revisión; la metodología estaba basada en la revisión de la base de datos científicas de Web of Science, PubMed y Scopus, donde fueron incluidos los estudios de los últimos 20 años (1998-2018) referentes a los efectos antiespasmódicos basado en aceites esenciales; en su revisión concluyeron que de las 39 especies de plantas de 12 familias, 13 pertenecían a la familia lamiaceae, 6 a la familia apiaceae, 5 a la familia estereaceae, y las restantes a otras familias; así queda demostrado que la gran parte de la especie de la familia lamiaceae tiene efecto antiespasmodico.

Un estudio realizado por Martínez et al¹⁵. Sobre Antiespasmódicos naturales: fuente, configuración estereoquímica y actividad biológica. Basado en la metodología de revisión de base de datos de Google Scholar, PubMed y SciFinder, de donde recabaron 248 publicaciones centradas en la actividad antiespasmódica y comprendidos hasta el año 2017; en su conclusión refieren que las especies de la

familia Lamiaceae y Estereaceae fueron los de mayor número de compuestos aislados con actividad antiespasmódica y los grupos químicos con más actividad antiespasmódica fueron los monoterpenos y flavonoides.

Gutiérrez et al¹⁶. Realizaron un estudio en el año 2016 cuyo objetivo fue Determinar el efecto espasmolítico del timol, principal compuesto del aceite esencial de *Thymus Vulgaris* “Tomillo” en útero aislado de *Rattus rattus*, para ello se basaron en la metodología experimental de órgano aislado en muestra de útero de *Rattus rattus*, donde se indujo a contracciones tras la inducción de oxitocina y para revertir dicha contracción administraron a volúmenes de 0.2ml ,0.4ml, 0.6ml, como resultado de su investigación hallaron que tras la aplicación de los diferentes volúmenes del aceite esencial, se produjo una relajación proporcional, siendo el volumen de 0.6ml quien produjo mayor relajación de la muestra biológica.

Salvador S. y Varas S¹⁷. realizaron un estudio en el año 2015 en Trujillo, cuyo objetivo fue Determinar las características fisicoquímicas y el efecto del aceite esencial de las hojas de *Satureja brevicalyx* al 0,5%, 1%, 2,5% y 5% sobre íleon de *Cavia porcellus*; para lograr este propósito utilizo el método de hidrodestilación para la obtención del aceite esencial que a su vez le permitió determinar las características físico químicas y para la determinación del efecto antiespasmódico utilizo 6 ejemplares de *Cavia porcellus* y para este experimento trabajo bajo el método de órgano aislado, utilizando diferentes concentraciones de aceite esencial y como agente contracturante acetilcolina, a la conclusión de su estudio, demuestra que a la concentración de 5% de *Satureja brevicalyx*, reduce la contracción del íleon de *Cavia porcellus* demostrando así el efecto antiespasmódico.

Un estudio realizado por Castro y Ruiz¹⁸ cuyo objetivo fue Evaluar el efecto del decocto de tallos y hojas de *Mentha pulegium* en íleon aislado de *Cavia porcellus* bajo el método experimental de estímulo creciente, la concentración utilizada en el estudio fue de 10% y 20%, tras la estimulación de los órganos aislados con acetilcolina, fueron inducido volúmenes del decocto de 0,2ml, 0,5ml y de 1ml, los resultados del a la concentración del decocto al 10% (1ml) y al 20% (0.5ml y 1ml) mostraron una reducción de la amplitud similar a la atropina y el decocto al 20% (1ml) redujo la amplitud igual al nifedipino.

Los antecedentes mostrados están basados en referencias de estudios realizados a la familia de la *Clinopodium weberbaueri*, como se pueden demostrar, dichas especies de esta familia citadas anteriormente, tienen actividad antiespasmódica y los niveles de la reducción de la amplitud conducen a una relajación del material biológico en estudio.

2.2.-Bases teóricas de investigación:

2.2.1. *Clinopodium weberbaueri* (cangalle)

2.2.1.1-Descripción botánica.

La *Clinopodium weberbaueri* es una orden vegetal que pertenece a la familia lamiaceae, planta arbustiva rigurosamente erecta con presencia de ramas delgadas y puberulentas, de hojas oblongo – elípticas y reducidas en los extremos, de 1.5 a 2 cm de largo por 7 a 9 de ancho de haz verde oscuro y envés verde claro, de flor bilabiada, pedicelos de 10 a 12 en las axilas alrededor de 1 mm de largo de corola morada y fruto tetraqueno¹⁹.

2.2.1.2.-Estudio taxonómico.

El ejemplar de la especie vegetal en estudio fue identificado el 7 de julio del 2017 por el Dr. Eric Rodríguez R. Biólogo – Botánico encargado del *Herbarium Truxillense* (HUT), la especie siendo *Clinopodium weberbaueri* fue inscrita bajo el código N° 59171; así mismo fue asentado el nombre de la familia y la especie de la misma; la determinación realizada por el Dr. Encargado del *Herbarium truxillense* nos permitieron revisar otra fuente de estudio que proporcionaron la similitud del estudio taxonómico de la especie brindada en el *Herbarium Truxillense*, en donde se consigna lo siguiente¹⁹.

Orden de la Taxonomía – <i>Clinopodium weberbaueri</i>	
CLASE:	Equisetopsida C.
SUBCLASE:	Magnoliidae
SUPERORDEN:	Asteraceae
ORDEN:	Lamiales
FAMILIA:	Lamiaceae
TRIBU:	Mentheae
GENERO:	<i>Clinopodium L.</i>
ESPECIE:	<i>Clinopodium weberbaueri</i> (Mansf.) Govaerts
NOMBRE COMÚN:	Cangalle, Orégano cangle, Runtuhuayra.

2.2.1.3.-Biodiversidad de la familia Lamiaceae.

La familia lamiaceae en el Perú es reconocida por presentar 21 géneros y 190 especies siendo gran parte arbustos y hierbas, considerándose también especies endémicas de las regiones altoandinas del Perú, entre las que se encuentran la especie *Clinopodium weberbaueri*²⁰.

2.2.1.4.-Distribución geográfica.

La *Clinopodium weberbaueri* es una especie ampliamente diverso en los valles y regiones altoandinas del Perú de clima relativamente templado con variación según la estación, entre altitudes de 1500 a 3600 m.s.n.m; reportes de estudios describen la existencia de *Clinopodium weberbaueri* en los departamentos de Ancash, Cajamarca, la Libertad y Apurímac; la especie vegetal se desarrolla en suelos rocosos, piedras areniscas y calizas, terrenos negros en forma de pendientes o laderas²¹.

2.2.1.5.-Antecedentes etnobotánico.

Siendo la *Clinopodium weberbaueri* (cangalle) recolectada en el distrito de Huandoval de la provincia de Pallasca del departamento de Ancash, pobladores del distrito en mención, manifiestan su uso tradicional y empírico frente a dolores gastrointestinales, dolores de cabeza, cólicos menstruales, problemas de resfriados, también advierten que en altas concentraciones pueden ser abortivas.

2.2.2.-Espasmos:

El espasmo es una contracción involuntaria de determinadas fibras musculares que puede provocar un aumento de la tensión muscular como también un acortamiento que no pueden eliminarse de forma voluntaria y están acompañado de dolor leve o intenso, puede darse por falta de oxigenación de los músculos o por la pérdida de líquidos y sales minerales que son de vital importancia para el buen funcionamiento del musculo, o puede darse también como consecuencia de un esfuerzo prolongado, movimientos bruscos o por sometimiento a un intenso frío²².

2.2.2.1.-Actividad antiespasmódica:

Los antiespasmódicos son sustancias de origen natural o sintético con actividad relajante, cuya función es de reducir la motilidad muscular o intestinal, aliviando transitoriamente el dolor del tipo calambre muscular, o del tipo cólico intestinal a consecuencia de la hiperactividad o irritabilidad^{23, 24}.

2.2.2.2.-Mecanismo de la contracción muscular según el fundamento químico molecular.

Según el fundamento químico molecular de la contracción, cuando los impulsos nerviosos llegan a la estructura de una fibra muscular se propagan por su sarcolema y avanzan hacia el interior a través de sus túbulos-T; ello aumenta la permeabilidad y provoca la liberación de los iones de calcio (Ca^{+2}) de los sacos de la retícula sarcoplásmica en el sarcoplasma; en la fibra muscular en reposo, los miofilamentos de la actina y miosina están inhibidos de interactuar debido a la presencia de una proteína denominada troponina; sin embargo, cuando son liberados, los iones de calcio se unen a la troponina e inhiben su acción; esto se da porque con dos cargas positivas, los iones de calcio son atraídos hacia las cargas negativas de los miofilamentos de actina y de los puentes cruzados de miosina^{24, 25}.

El proceso anterior genera un enlace electrostático entre los miofilamentos de actina y miosina; de forma específica los puentes cruzados de miosina se unen a los miofilamentos de actina; entonces los puentes se destruyen y los miofilamentos de actinas son empujados hacia el centro del sarcomero y a continuación el musculo se contrae y se genera la tensión. La fuente

inmediata de energía para la contracción muscular es el componente adenosina trifosfato (ATP); por lo tanto, es evidente que los músculos están total y absolutamente subordinados a los impulsos nerviosos para su activación; esto quiere decir que sin impulsos nerviosos no puede generarse tensión^{24, 25}.

2.2.2.3.-Acetilcolina.

La acetilcolina es un neurotransmisor constituido por la unión de la colina y acetato, se almacena en vesículas presinápticas de las terminaciones sináptica; la acetilcolina se libera cuando el potencial del nervio (PAN) se propaga hasta la terminal sináptica y que por exocitosis se libera el neurotransmisor al espacio sináptico para interactuar con sus receptores postsinápticos localizados en las estructuras efectoras; por otra parte, la acetilcolina es considerada también como un transmisor de los impulsos nerviosos²⁵.

2.2.2.4.-Mecanismo de contracción por acción de la acetilcolina.

Al producirse un impulso nervioso, la acetilcolina es liberada desde la terminación presináptica para unirse a los receptores nicotínicos postsinápticos, dando lugar a la apertura de los canales iónicos, donde el sodio y el calcio entra al interior de la célula y dejando salir al potasio, generándose de esta manera la despolarización y produciéndose la contracción muscular; cabe indicar que los receptores nicotínicos se encuentran fundamentalmente en la placa motora tanto a nivel presináptico como a nivel postsináptico (aumentan la liberación de acetilcolina frente a potentes estímulos, actúan como retroalimentación positiva) y son los responsables de la despolarización y contracción muscular²⁶.

2.2.3.-Mecanismo de la relajación muscular:

Si la contracción muscular es producida por la activación de la troponina a través de los iones de calcio permitiendo esto la unión de actina y miosina, la relajación muscular depende de la disminución y el bombeo rápido de los iones de calcio (Ca^{+2}) desde el citoplasma hacia el retículo sarcoplásmico, al salir los iones de calcio (Ca^{+2}) producirá que la tropomiosina regrese a su estado anterior tapando el lugar de unión de la actina y por ende la miosina no tendrá a donde unirse y posteriormente se llevara a cabo la relajación muscular²⁷.

Para que se genere la relajación muscular los niveles de calcio (Ca^{+2}) citoplasmático tiene que volver a ser bajos, quien se encarga de retirar los iones de Ca^{+2} del citoplasma es la bomba de Ca^{+2} -ATPasa que se encuentra en el retículo sarcoplásmico, la disminución de los iones de Ca^{+2} citoplasmático restablece la configuración inhibitoria de la troponina y tanto los filamentos gruesos como los filamentos finos vuelven a su estado de reposo causando de esta manera la relajación muscular²⁷.

2.2.4.-Fármacos antiespasmódicos:

Los fármacos antiespasmódicos, son un grupo de sustancias que pueden prevenir o interrumpir una contracción dolorosa e involuntaria (espasmo) del musculo liso intestinal; estos son clasificados en varios grupos según su mecanismo de acción, entre ellos se pueden mencionar: a) Agentes relajantes directos del musculo liso, b) Anticolinergicos, c) Agentes bloqueadores de los canales de calcio²⁸.

2.2.4.1.-Anticolinérgicos.

Los anticolinérgicos son fármacos cuya acción farmacológica es de bloquear algunos receptores muscarinicos o nicotínicos de la acetilcolina, de esta forma inhiben la actividad que ejerce la acetilcolina, es por esta razón son considerados como fármacos con efecto relajante sobre el musculo liso y a la vez son utilizados para evitar los espasmos; su clasificación se realiza de acuerdo al tipo de receptor a quien bloquea y pueden ser: Antagonista muscarinico o antagonista nicotínico, entre los antagonista muscarinicos más representativos están la N- butilbromuro de hioscina, la atropina y sus derivados^{29, 30}.

2.2.4.2.- N - butilbromuro de hioscina.

La N-butilbromuro de hioscina es un derivado de la belladona, su efecto reductor de la contracción estimulada por la acetilcolina, es debido a la acción anticolinérgica y por su alta afinidad por receptores muscarinicos M₃ las cuales se localizan en el musculo liso del tracto gastrointestinal, la hioscina o N-butilbromuro de hioscina no permite la unión de acetil colina con el receptor muscarinico y como efecto de este impedimento se genera el efecto espasmolítico en el sistema digestivo^{31, 32}.

2.2.4.3.- Atropina.

La Atropina es un fármaco antagonista muscarinico (anticolinergico) que se obtiene de la planta Atropa belladona, tiene una alta afinidad por los receptores muscarinicos y compite por estos receptores con la acetilcolina, considerándose de esta forma como un fármaco antagonista competitivo reversible; la atropina bloquea todos los subtipos de receptores muscarinicos

sin hacer distinción entre ellos, por su acción anticolinérgica y su alta afinidad por receptores muscarinico ejercen actividad antiespasmódica reduciendo la contracción estimulada por la acetilcolina^{33, 34}.

2.2.5.-*Rattus rattus* var. *albinus* o ratas de laboratorio:

Las los *Rattus rattus* de la variedad albina, son utilizadas ampliamente en experimentos de estudios científicos las cuales dentro de esta variedad podemos encontrar entre ellas a las ratas *Sprague dawley* y *wistar* que son ratas híbridas albinas que provienen de las cepas de la especie *Rattus nevergicus* y son de mayor utilización en experimentos; estas especies son de cabezas largas de una alta tasa de reproducción, cuyo temperamento calmado son de fácil manejo para el científico y los técnicos de laboratorio³⁵.

Existen diversas técnicas y maniobras para poder coger las ratas de laboratorio las mismas, si bien estas pueden ser dóciles siempre se debe de tener la precaución y el conocimiento respectivo para poder cogerla y maniobrarla en los trabajos; las primeras maniobras consiste coger a la rata con la mano hábil por el tórax de forma envolvente pero colocando la los dedos de la mano y a la ves sujetando los diferentes lugares estratégicos que pueda impedir que el animal mueva la cabeza y sus patas delanteras, en caso de las ratas de mayor tamaño se sugiere cogerla con ambas manos, con la mano libre se da apoyo a los cuartos traseros del animal y con la otra mano se coge las patas y la parte de la cola esto permitirá la inmovilización de las *Rattus rattus*³⁶.

2.2.5.1.-Ubicación del duodeno de Rattus rattus.

El duodeno del *Rattus rattus* es la parte del intestino delgado situada en la parte final del estómago y está sujeto por el mesoduodeno cuyo origen es la derecha de la raíz del mesenterio, el pliegue duodenocólico se extiende entre la parte ascendente del duodeno y la hoja derecha del mesocolon descendente³⁷.

III.- HIPÓTESIS:

Hipótesis nula: (H0)

- El nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la *Clinopodium weberbaueri* no es igual al nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la N – butilbromuro de hioscina y atropina en duodeno contraído de *Rattus rattus*.

Hipótesis alternativa: (Ha)

- El nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la *Clinopodium weberbaueri* si es igual al nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la N – butilbromuro de hioscina y atropina en duodeno contraído de *Rattus rattus*.

IV.- METODOLOGÍA:

4.1.-Diseño de la investigación:

4.1.1.-Tipo de estudio:

La investigación corresponde a un estudio experimental de enfoque cuantitativo, de tipo básico.

4.1.2.-Nivel de investigación:

El nivel de investigación es explicativo, de diseño experimental (grupos: control y experimental)³⁸.

G1 -----O1-----X1-----O2

G2 -----O1 -----X2-----O3

G3-----O1-----X3-----O4

G4 -----O1-----X4-----O5

G5-----O1-----X5-----O6

Dónde:

G1: Es el Grupo control negativo (Acetilcolina 15%).

G2: Es el grupo experimental (*Clinopodium weberbaueri* 15%).

G3: Es el grupo experimental (*Clinopodium weberbaueri* 20%).

G4: Es el grupo patrón o control positivo1(N-butilbromuro de Hioscina 2%).

G5: Es el grupo patrón o control positivo2 (Atropina 0.05%).

O1: Observaciones de amplitud de contracción y relajación basal del musculo liso intestinal aislado de *Rattus Rattus*

X1: Sin tratamiento.

X2: Tratamiento con *Clinopodium weberbaueri* al 15%.

X3: Tratamiento con *Clinopodium weberbaueri* al 20%.

X4: Tratamiento con N-butilbromuro de hioscina al 2%.

X5: Tratamiento con Atropina al 0.05%

O2, O3, O4, O5, O6: Observaciones de amplitud de contracción y porcentaje de relajación del musculo liso intestinal aislado de *Rattus rattus*

4.2.- Población y muestra:

4.2.1.-Población vegetal:

Conjunto de hojas de *Clinopodium weberbaueri*.

4.2.2.-Población biológica:

Rattus rattus – 4 especímenes.

4.2.3.-Muestra vegetal:

Se emplearon 1kg de hojas frescas de *Clinopodium weberbaueri*.

4.2.4.- Muestra Biológica:

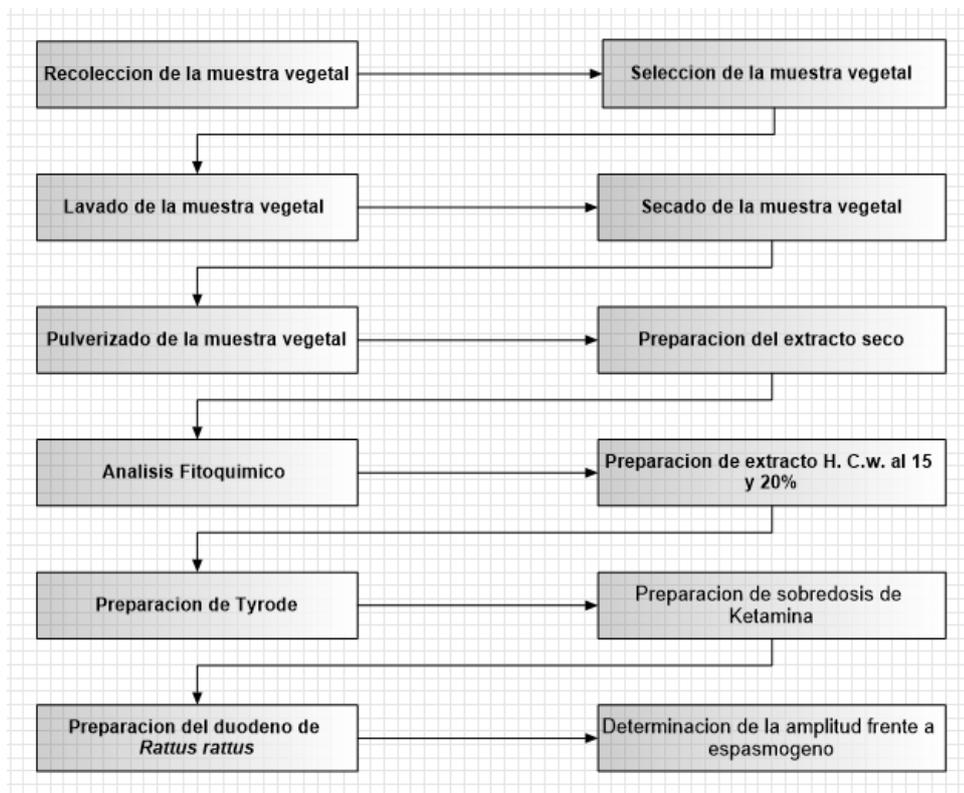
Porciones de duodeno de *Rattus Rattus*

4.3.- Definición y operacionalización de variables e indicadores:

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores
<p>Dependiente:</p> <p>Relajación sobre el musculo liso intestinal.</p>	<p>El musculo liso gastrointestinal es un tejido excitable capaces de generar gradientes electroquímicos responsables de almacenamientos y descargas de corrientes eléctricas, son capaces de contraerse ante una estimulación de acetilcolina, y de relajarse ante un fármaco anticolinérgico al bloquearse los receptores muscarínicos.</p>	<p>Contracción del musculo liso intestinal por acción de la acetilcolina y determinación de la amplitud de contracción para su posterior relajación por acción de la <i>Clinopodium weberbaueri</i>, Nbutilbromuro de hioscina y atropina y determinación de su amplitud de relajación para determinar el nivel porcentual del efecto antiespasmódico.</p>	<p>Amplitud de contracción y relajación expresada en cm.</p> <p>Porcentaje de amplitud de relajación del musculo liso intestinal</p>
<p>Independiente:</p> <p>Extracto hidroalcohólico de <i>Clinopodium weberbaueri</i>.</p>	<p>Mezcla de complejos compuestos y principios activos con actividad farmacológica obtenida a partir de la maceración de muestras vegetales y alcohol rectificado</p>	<p>Volumen de extracto de <i>Clinopodium weberbaueri</i>. (0.6ml)</p> <p>Volumen de N-butilbromuro de hioscina (1 ml)</p> <p>0.05% Volumen de Atropina (1 ml)</p>	<p>Concentración de <i>Clinopodium weberbaueri</i> al 15% y 20%</p> <p>Concentración de N-butilbromuro de hioscina 2%</p> <p>Concentración de Atropina al 0.05%</p>

4.4.- Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Esquema de Desarrolló de los procedimientos para alcanzar el objetivo



4.4.1.- Preparación de la muestra vegetal³⁹:

4.4.1.1.-Recolección de la muestra vegetal.

La muestra vegetal fue recolectada en el distrito de Huandoval de la provincia de Pallasca del departamento de Ancash; a horas entre 1:00 pm a 3:00 pm, (se evitó recoger muestras húmedas debido al mes lluvioso en esta provincia) del mes de abril del 2018.

4.4.1.2.-Selección de la muestra vegetal.

La selección de la muestra vegetal se realizó en el laboratorio de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, con el fin de separar las hojas

que no se encontraban en condiciones favorables para el propósito del estudio.

4.4.1.3.-Lavado de las hojas de la muestra vegetal.

La muestra vegetal se lavó con agua potable eliminando impurezas como tierra y polvo de las hojas, posteriormente se enjuago con agua destilada.

4.4.1.4.-Secado de la muestra vegetal.

El secado de la muestra vegetal se realizó en la estufa del laboratorio de farmacología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote a temperatura de 50°C.

4.4.1.5.-Pulverización de la muestra vegetal.

La pulverización de la muestra vegetal se realizó con la ayuda de un molino de aspas, una vez pulverizada la muestra, se introdujo a un frasco ámbar y se conservó para su posterior proceso.

4.4.2.-Metodología experimental:

4.4.2.1.-Preparación del extracto seco.

A 100g de muestra pulverizada de *Clinopodium weberbaueri* se le añadió 500ml de alcohol de 80°, el cual se dejó macerar por 7 días, concluida la maceración se filtró con la bomba de filtrado al vacío, la muestra filtrada se llevó al equipo rota vapor eliminando en este proceso el alcohol y el agua, la muestra concentrada se guardó en un frasco porta muestra debidamente rotulado y se forro con papel aluminio para evitar que le afecte la luz⁴⁰.

4.4.3.-Análisis fitoquímico para la determinación de metabolitos secundarios en la especie *Clinopodium weberbaueri*:

Para la identificación de metabolito secundario se hizo el análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri*, para ello, se realizaron ensayos como el FeCl₃ y Shinoda para identificar flavonoides, Mayer y Dragendorf para alcaloides, Baljet para cardenolidos, y de Liberman Burchard para la identificación de esteroides⁴¹⁻⁴⁴.

Esquema para el Scrining fitoquímico para identificación de metabolitos

Esquema para el Scrining fitoquímico para identificación de metabolitos

Metabolito secundario	Ensayos	Dilución	Mas
Flavonoide	FeCl ₃	2ml de E. <i>Cw.</i> en 5ml de etanol	4 gotas de FeCl ₃ (tricloruro férrico)
	Shinoda	2ml de E. <i>Cw.</i> en 5ml de etanol	Partículas de Mg (magnesio) 0.5ml de HCl cc (ácido clorhídrico concentrado)
Alcaloide	Mayer	2ml de E. <i>Cw.</i> en 5ml de etanol	5 gotas de HCl cc 8 gotas de Reactivo de Mayer
	Dragendorf	2ml de E. <i>Cw.</i> en 5ml de etanol	5 gotas de HCl cc (ácido clorhídrico concentrado) 8 gotas de Dragendorf
Cardenolidos	Baljet	2ml de E. <i>Cw.</i> en 5ml de etanol	NaOH (hidróxido de sodio), Ácido piprico
Esteroides	Liberman Burchard	2ml de E. <i>Cw.</i> en 5ml de etanol	0.5ml de cloroformo C ₄ H ₆ O ₃ (Anhídrido acético), 0.5ml de H ₂ SO ₄ (ácido sulfúrico)

4.4.4.-Preparación de concentración de extracto Hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri*:

Tras realizar la operación correspondiente se halló el volumen necesario del extracto de *Clinopodium weberbaueri* para la concentración al 15% y 20%, siendo 0.5ml y 0.2ml de extracto de muestra respectivamente, el cual debería estar contenido en 1ml de H₂O destilada cada volumen.

4.4.5.-Preparación de la solución Tyrode^{45 - 46}.

Para la preparación de la solución de Tyrode se necesitaron los siguientes insumos químicos, que a la vez fueron añadidos en un recipiente que contiene H₂O destilada.

Cloruro de sodio (NaCl)	_____	8.0g
Cloruro de potasio (KCl)	_____	0.20g
Cloruro de magnesio (MgCl ₂)	_____	0.1g
Cloruro de calcio (CaCl ₂)	_____	0.20g
Bifosfato de sodio (NaH ₂ PO ₄)	_____	0.05g
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	_____	1.0g
Glucosa	_____	1.0g
H ₂ O destilada	_____	completar hasta 1L.

4.4.6.-Preparación de sobredosis de Ketamina según el peso del espécimen (para el sacrificio del espécimen).

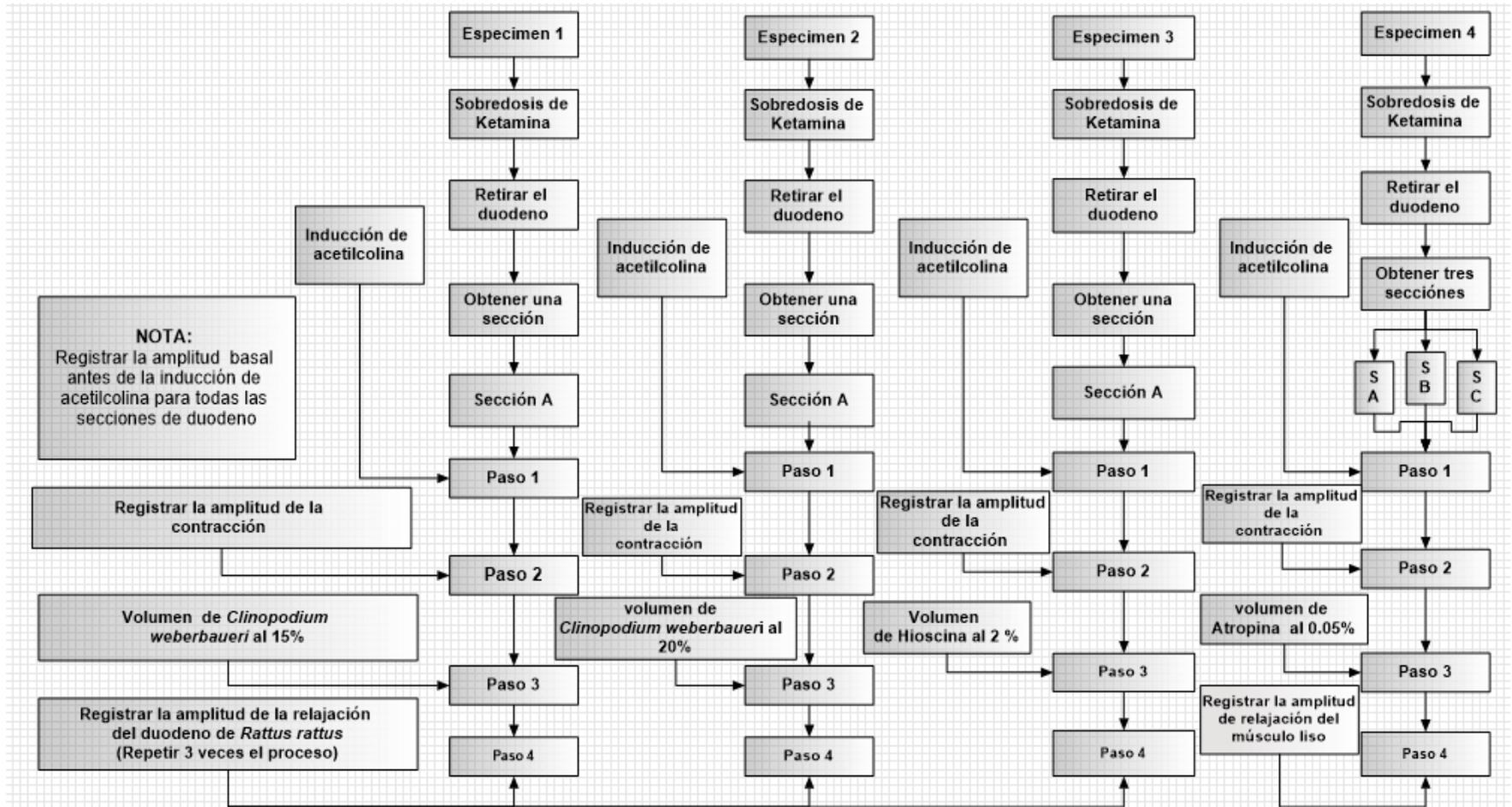
Para el sacrificio de los especímenes, se aplicó sobre dosis de ketamina en base a 800mg por el peso del espécimen, teniendo en cuenta que la concentración de ketamina es de 50mg/ml, entonces para saber la cantidad de la dosis de ketamina a coger por cada espécimen, se cogió cada resultado de

la multiplicación hallado por cada espécimen y se dividió entre 50mg que es la concentración de la ketamina; los volúmenes para una sobre dosis hallados por cada espécimen fue: para los especímenes 1, 2 y 3 se necesitó 2.6ml y para el cuarto espécimen 3.7ml de ketamina respectivamente.

4.4.7.-Preparación del duodeno de *Rattus rattus*:

Los especímenes fueron sacrificados mediante inyección intraperitoneal con Ketamina a sobredosis de 2.6ml para los especímenes 1, 2, 3 (2.6ml por c/u) y de 2.7ml para el espécimen 4; posteriormente se abrió la cavidad abdominal de cada espécimen y se extrajo la porción del duodeno, esto fue seccionado en tres partes iguales, a su vez estas partes fueron colocadas en placa Petri para su posterior lavado con la solución de Tyrode, realizado el lavado de las secciones de duodeno estos fueron introducidos a un vaso de precipitación que contenía la solución de Tyrode la cual posteriormente fue llevado a baño maria para mantenerlo a 37° C, luego fue fijado en el equipo de órgano aislado para la lectura de la amplitud y registro correspondiente⁴⁷.

Esquema de ejecución.



4.4.8.-Determinación de la amplitud:

4.4.8.1.-Determinación de la amplitud basal.

Para la determinación de la amplitud basal, antes de cada aplicación de acetilcolina, se dejó estabilizar el duodeno en la cámara de órgano aislado y se registró el tono de la amplitud basal por 1 minuto.

4.4.8.2.-Determinación de la amplitud frente a espasmogeno.

Una sección de duodeno del espécimen 1 fue introducido en la cámara de órgano aislado atado a la varilla de metal de sujeción de la muestra biológica, luego de ser estabilizado por 1 minuto; se añadió 6 ml de acetilcolina al 15% (3g Ach. en 20ml de H₂O) y se registró el tono de la amplitud de contracción; posteriormente se aplicó el volumen de 0.6 ml de *Clinopodium weberbaueri* a una concentración de 15%, y se registró la amplitud de relajación; se hicieron dos repeticiones consecutivas hasta completar los tres procesos con la misma sección de duodeno, cabe indicar que antes de repetir cada proceso se hizo el lavado de la cámara de órgano aislado y material biológico por 2 veces correlativo con la solución de Tyrode.

La misma técnica anteriormente empleada, se aplicó para la sección del duodeno del espécimen 2, siendo la única diferencia la concentración del extracto de *Clinopodium weberbaueri* que para este nuevo proceso fue a una concentración de 20%, luego se realizó el lavado respectivo de la cámara de órgano aislado con solución de Tyrode para el siguiente proceso.

Para el tercer proceso también se utilizó una sección del duodeno del espécimen 3, esta porción se introdujo a la cámara de órgano aislado luego de

ser estabilizado por un minuto se agregó 6 ml de Acetilcolina al 15%, se registró el tono de la amplitud de la contracción paso seguido se aplicó el volumen de 1ml de N-butilbromuro de hioscina a una concentración de 2%, luego se registró la amplitud de relajación, a continuación se lavó la cámara de órgano aislado, se hicieron dos repeticiones consecutivas hasta completar los tres procesos, luego se lavó la cámara de órgano aislado por 2 veces con solución de Tyrode.

Para la sección del duodeno del espécimen 4, la técnica difiere de lo anterior, en esta ocasión, se utilizó tres secciones del duodeno del mismo espécimen, la primera sección del duodeno se introdujo a la cámara de órgano aislado y se dejó estabilizar por 1 minuto, luego se agregó 6 ml de Acetilcolina y se registró la amplitud de la contracción, posteriormente la cámara de órgano aislado y el material biológico son lavados por 2 veces, luego se aplicó 1ml de Atropina al 0.05%, y se registró la amplitud de la relajación, nuevamente la cámara de órgano aislado es lavado con la solución de Tyrode para el siguiente proceso; la misma operación se siguió con las dos secciones de duodeno restante del mismo espécimen, completando de esta manera los tres procesos para las secciones del duodeno del espécimen 4

Los diferentes valores de la amplitud hallada para cada proceso de las técnicas utilizadas fueron registrados en tablas diseñadas respetando el orden del esquema de ejecución descrito anteriormente.

ESPÉCIMEN	ESTIMULACIÓN	VOLUMEN	TRATAMIENTO	VOLUMEN
1	Acetilcolina 15%	6ml	<i>Clinopodium weberbaueri</i> 15%	0.6ml
2	Acetilcolina 15%	6ml	<i>Clinopodium weberbaueri</i> 20%	0.6ml
3	Acetilcolina 15%	6ml	N-butilbromuro de hioscina 2%	1ml
4	Acetilcolina 15%	6ml	Atropina 0.05%	1ml

Fuente: Datos hallados en el laboratorio de Bioquímica de la escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

$$\% \text{ de Relajación} = \frac{XMLR \times 100}{XMLC}$$

Dónde:

XMLR = Promedio del músculo liso relajado (cm)

XMLC = Promedio del músculo liso Contraído (cm)

Para esta investigación se utilizó la técnica de observación directa, registro, volumen – respuesta que se observaron en la evaluación del nivel del efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri*; N-butilbromuro de hioscina y atropina, los datos obtenidos fueron registrados por el programa LAB SCRIBE⁴⁸.

4.5.- Plan de análisis:

Los resultados del análisis se muestran a través de las tablas y gráficos donde se aprecian los niveles de amplitud de contracción y relajación tras la inducción de las sustancias utilizadas en este estudio según el procedimiento aplicado.

4.6.- Matriz de consistencia:

Título del estudio: NIVELES PORCENTUALES DE LOS EFECTOS ANTIESPASMÓDICOS DE <i>Clinopodium weberbaueri</i> , N - BUTILBROMURO DE HIOSCINA Y ATROPINA SOBRE EL DUODENO CONTRAIDO DE <i>Rattus rattus</i>						
Objetivos	Hipótesis	VARIABLES	Definición operacional	Indicadores	Metodología del estudio	Población y muestra
Determinar el nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la <i>Clinopodium weberbaueri</i> , N-butilbromuro de hioscina y atropina.	<p>Hipótesis nula: El nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la <i>Clinopodium weberbaueri</i> no es igual al nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la N-butilbromuro de hioscina y Atropina.</p>	<p>Dependiente: Relajación del musculo liso intestinal</p>	<p>Se utilizó el método de órgano aislado bajo la técnica de observación directa, registro, volumen – respuesta</p>	<p>Amplitud de contracción del musculo liso intestinal expresada en cm.</p> <p>Porcentaje de amplitud de relajación del musculo liso intestinal</p>	<p>1.- El extracto hidroalcohólico de <i>Clinopodium weberbaueri</i> se extrajo por maceración, filtración, evaporación.</p> <p>2.- El musculo liso intestinal se obtuvo de 4 especímenes de <i>Rattus rattus</i>. Quienes fueron seccionados en tres partes de 4cm aproximadamente que luego fueron estimulado con 6 ml de acetilcolina, y tras ello, se añadió los diferentes volúmenes del extracto y los antiespasmódicos, por último se registró la amplitud de relajación para luego determinar el nivel porcentual del efecto antiespasmodico.</p>	<p>Población: 4 especímenes de <i>Rattus rattus</i></p> <p>Muestra vegetal: 1kg de hojas de <i>Clinopodium weberbaueri</i></p> <p>Muestra biológica: 4 duodenos de <i>Rattus rattus</i>.</p>
	<p>Hipótesis alternativa: El nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la <i>Clinopodium weberbaueri</i> si es igual al nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la N-butilbromuro de hioscina y Atropina.</p>	<p>Independiente: Concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Clinopodium weberbaueri</i>.</p>	<p>Concentración del extracto de <i>Clinopodium weberbaueri</i> al 15% y 20%</p> <p>De N-butilbromuro de hioscina 2% y de Atropina 0.05%</p>	<p>Volumen de <i>Clinopodium weberbaueri</i></p> <p>0.6 ml</p> <p>De N-butilbromuro de hioscina 1 ml</p> <p>De Atropina 1 ml</p>		

4.7.- Principios éticos:

Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, se promovió la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de las plantas medicinales, no solo para preservar su legado cultural, sino también para registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad. En el caso del manejo de animales de experimentación se realizará con respeto de su bienestar de acuerdo a los propósitos de la investigación, promoviendo su adecuada utilización⁴⁹, por ello, respetando el código de ética para la investigación de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en este estudio se respetaron los principios para el cuidado del medio ambiente y la biodiversidad tomando las medidas necesarias para evitar los daños o lesiones lesivas que se pudieron ocasionar a la especie vegetal en estudio⁵⁰.

V. RESULTADOS:

5.1.- Resultados:

Tabla 1. Resultado del Screening fitoquímico para identificación de metabolitos.

SCREENING FITOQUÍMICO			
Metabolito secundario	Ensayos	Resultado	Estimación:
Flavonoide	FeCl ₃	Color azul verdoso	+++
	Shinoda	Ligero color rojo	+
Alcaloide	Mayer	Precipitado blanco lechoso	++
	Dragendorf	Ligero color rojo naranja	+
Cardenolidos	Baljet	No presento reaccion	-
	Liberman		
Esteroides	Burchard	Color azul verdoso	++

Fuente: Datos experimentales

La estimación de los resultados está dada en una proporción en base a tres cruces donde se considera la siguiente interpretación:

Interpretación de la intensidad de color

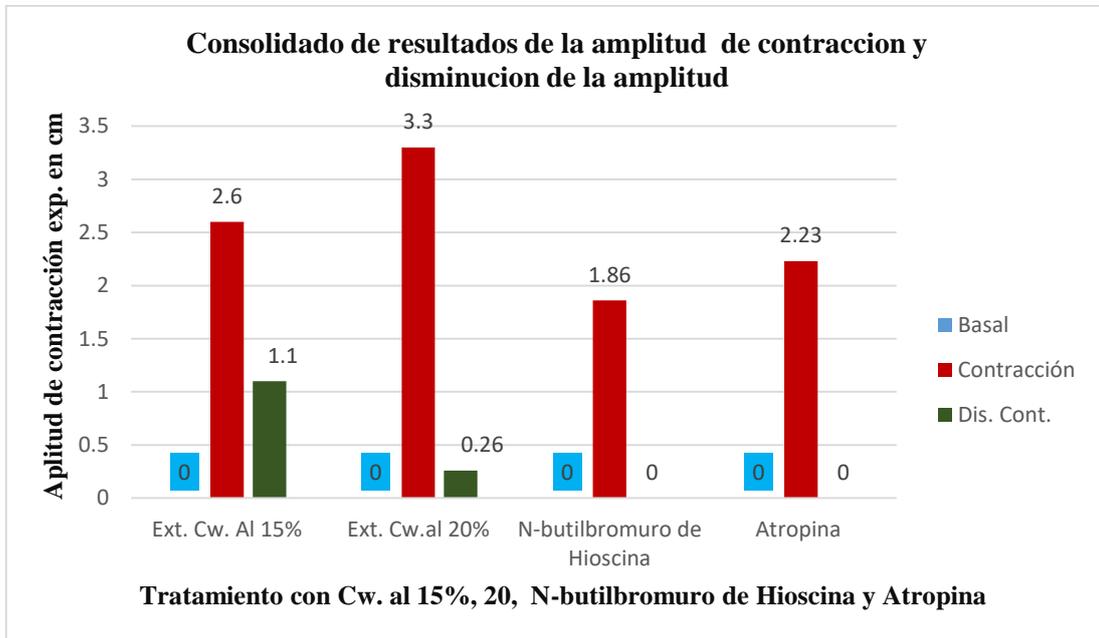
Signos	Significado
+++	Muy intenso
++	Intenso
+	Poco intenso
-	Sin intensidad

Tabla 2: Consolidado del resultado promedio de la amplitud de contracción por acción de la Acetilcolina y disminución de la amplitud por acción del extracto hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri* al 15%, 20%, N-butilbromuro de Hioscina y Atropina

AMPLITUD PROMEDIO DE CONTRACCIÓN Y DISMINUCIÓN DE LA CONTRACCIÓN									
GRUPO	N° DE ESPÉCIMEN	SECCIONES DE DUODENO	N° DE REPETICIONES	BASAL	GRUPO 1	DISMINUCIÓN DE LA CONTRACCIÓN			
					CONTRACCIÓN POR ACETILCOLINA (6 ml)	TRATAMIENTO			
						<i>Clinopodium weberbaueri</i> al 15% (0,6 ml)	<i>Clinopodium weberbaueri</i> al 20% (0,6 ml)	N-butilbromuro de hioscina al 2% (1 ml)	Atropina al 0,05% (1 ml)
						Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
G2	1	A	3	0 cm	2,6 cm	1,1 cm	-	-	-
G3	1	A	3	0 cm	3,3 cm	-	0,26 cm	-	-
G4	1	A	3	0 cm	1,86 cm	-	-	0 cm	-
G5	1	A - B - C	3	0 cm	2,23 cm	-	-	-	0 cm

Fuente: Elaboración propia - Microsoft Excel

Grafico 1. Consolidado de resultados promedio de la amplitud de contracción y disminución de la amplitud.



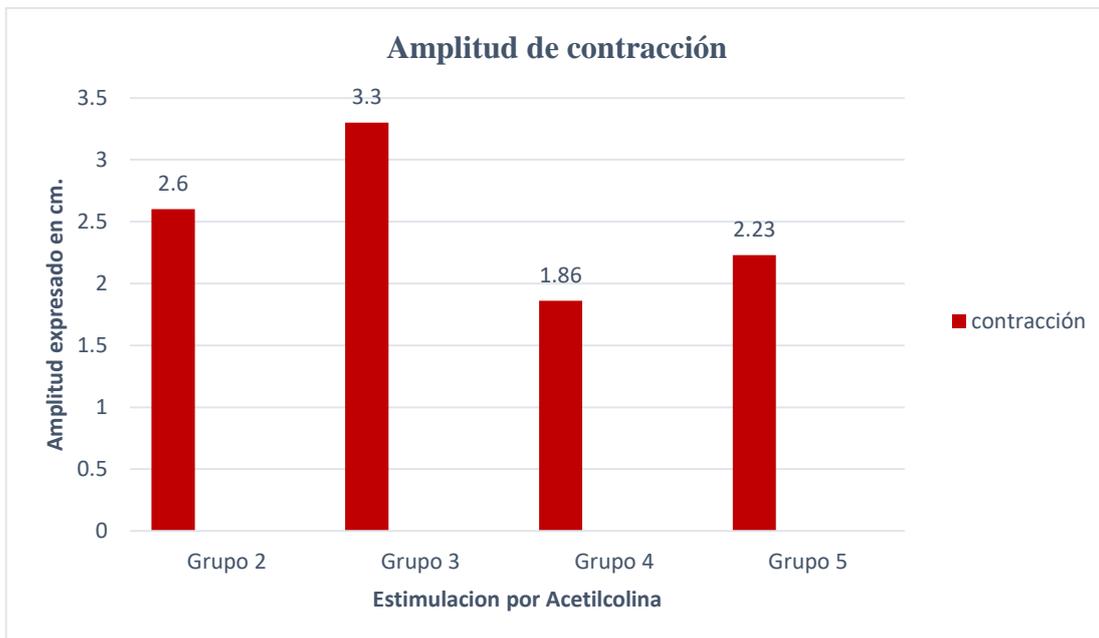
Fuente: Elaboración propia.

Tabla 3: Determinación del nivel de amplitud de contracción del duodeno de *Rattus rattus* tras la inducción de acetilcolina.

AMPLITUD DE CONTRACCIÓN POR EFECTO DE ACETILCOLINA (G1)					
GRUPO	N° DE ESPÉCIMEN	SECCIONES DE DUODENO	N° DE REPETICIONES	BASAL	CONTRACCIÓN POR EFECTO DE ACETILCOLINA
				Promedio	Promedio
G2	1	A	3	0 cm	2,6 cm
G3	1	A	3	0 cm	3,3 cm
G4	1	A	3	0cm	1,86 cm
G5	1	A - B - C	3	0cm	2,23 cm

Fuente: Elaboración propia - Microsoft Excel.

Grafico 2. Nivel de amplitud de contracción por acción de acetilcolina al 15%.



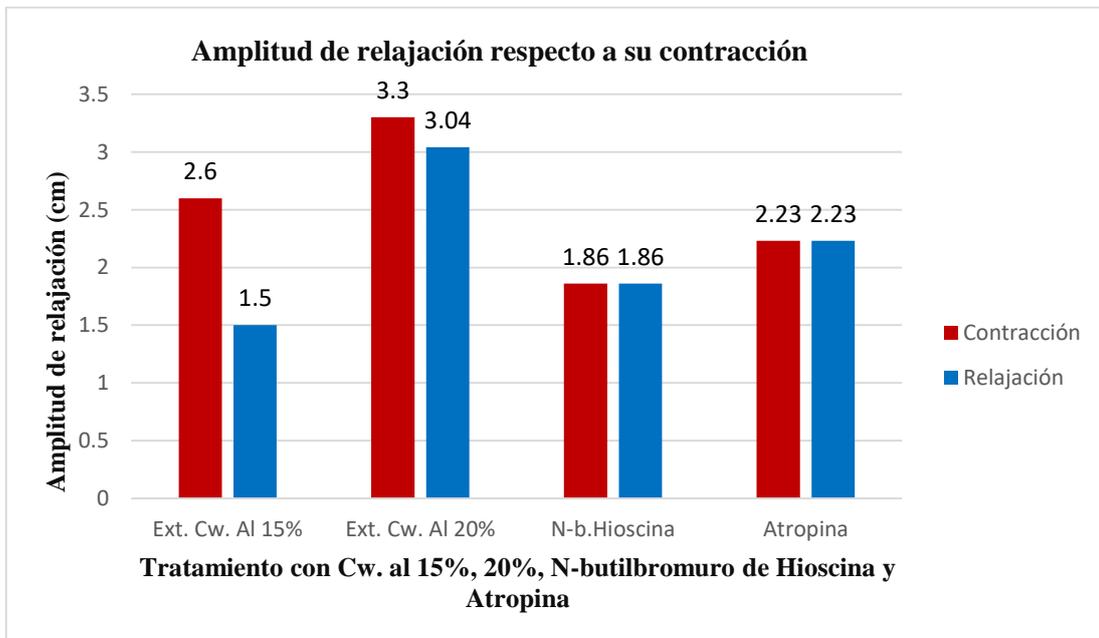
Fuente: Elaboracion propia

Tabla 4: Determinación del nivel de amplitud de relajación del duodeno *de Rattus rattus* tras la aplicación del extracto hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri*, N-butilbromuro de hioscina y atropina.

NIVEL DE AMPLITUD DE RELAJACIÓN POR EFECTO DE <i>Clinopodium weberbaueri</i>						
Grupo	N° de espécimen	Secciones de duodeno	N° de repeticiones	Contracción por efecto de Acetilcolina	Disminución de amplitud de contracción	Amplitud de relajación
				Promedio	Promedio	
G2	1	A	3	2,6 cm	1,1 cm	1,5 cm
G3	1	A	3	3,3cm	0,26 cm	3,04 cm
G4	1	A	3	1,86 cm	0 cm	1,86 cm
G5	1	A - B - C	3	2,23 cm	0 cm	2,23 cm

Fuente: Elaboración propia - Microsoft Excel.

Grafico 3. Amplitud de relajación por acción del extracto de *Clinopodium weberbaueri*, N-butilbromuro de Hioscina y atropina respecto a la contracción ejercida por acción de la acetilcolina.



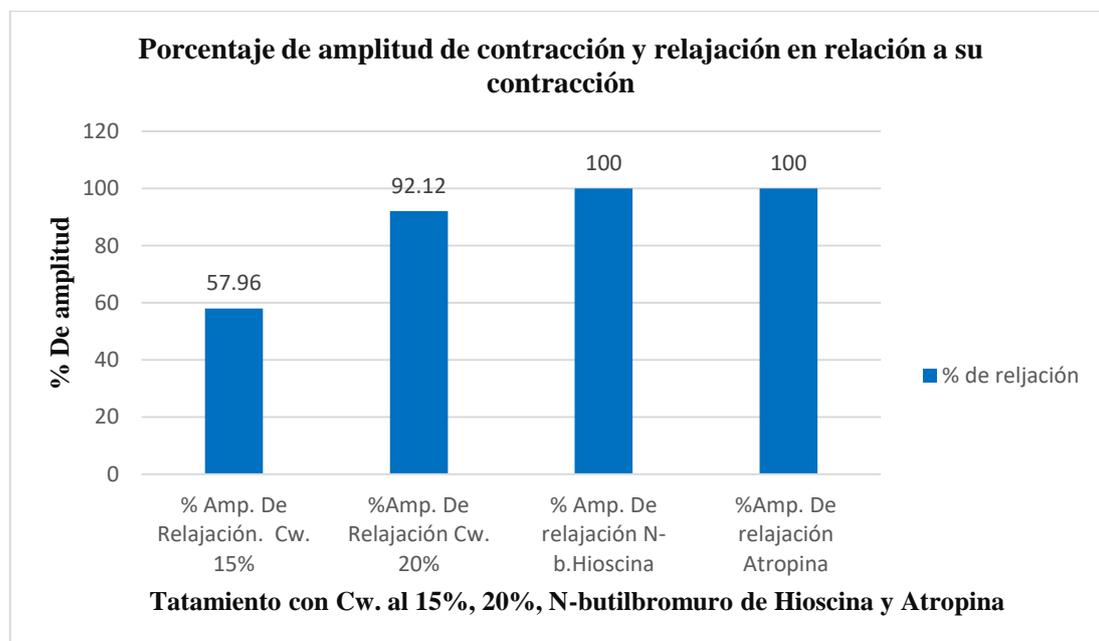
Fuente: Datos propios

Tabla 5: Determinación del nivel porcentual del efecto antiespasmódico de la *Clinopodium weberbaueri*, N – butilbromuro de hioscina y de atropina en duodeno contraído de *Rattus rattus* tras el efecto de acetilcolina.

NIVEL PORCENTUAL DE LOS EFECTOS ANTIESPASMÓDICOS	
EXTRACTO DE <i>Clinopodium weberbaueri</i> - FÁRMACOS ANTIESPASMÓDICOS	% DE AMPLITUD DE RELAJACIÓN
Ext. <i>Clinopodium weberbaueri</i> al 15%	57,69%
Ext. <i>Clinopodium weberbaueri</i> al 20%	92,12%
N-b-Hioscina al 2%	100%
Atropina al 0,05%	100%

Fuente: Elaboración propia - Microsoft - Excel

Grafico 4: Nivel porcentual de los efectos antiespasmódicos por acción del extracto de *Clinopodium weberbaueri*, N-butilbromuro de hioscina y atropina.



Fuente: Datos propios

5.2. Análisis de resultados:

La *Clinopodium weberbaueri* es una especie vegetal que pertenece a la familia lamiaceae usada de manera tradicional y empírica para calmar dolores gastrointestinales, cólicos menstruales, dolores de cabeza y problemas de resfrió, gracias a sus metabolitos secundarios, según Santos et al⁵¹ refiere que los flavonoides ejerce un efecto relajante en el musculo liso intestinal, esto debido a los efectos de la genisteína y quercetina, donde la genisteína actuaria sobre los canales de Ca^{2+} y K^+ mientras que la quercetina en el AMPc como también en la proteína kinasa A; en este estudio si bien no se pudo identificar el tipo de flavonoide, gracias a un sreenig fitoquímico realizado al extracto hidroalcohólico de la *Clinopodium weberbaueri*, si se identificó la presencia de flavonoide con el $FeCl_3$ con una estimación de intensidad de tres cruces tal como se muestra en la tabla 1, esto demuestra el efecto relajante que posee el extracto hidroalcohólico de la *Clinopodium weberbaueri*.

Por otra parte; entre los problemas gastrointestinales como el síndrome de intestino irritable, están incluidos los signos y síntomas como el dolor abdominal del tipo cólico que van desde un estiramiento o desgarró del musculo liso intestinal conocido como espasmo intestinal, tal como lo refiere Jayne⁵² en su artículo ¿Porque tengo espasmos musculares en el estómago? Publicado el 2018.

Para aliviar los espasmos existen los fármacos antiespasmódicos entre los que se presenta en este estudio, N-butilbromuro de hioscina y atropina fármacos con estudios sobre el mecanismo de acción farmacológico, y que esto a su vez radica en que sus moléculas tengan afinidad por los receptores muscarinicos, tal como lo afirma Flores⁵³ en su estudio comparación del efecto de butilbromuro de hioscina

versus atropina para el manejo de bradicardia intraoperatoria en pacientes sometidos a anestesia general inhalatoria para colecistectomía laparoscópica del 2017; esta afinidad por receptores muscarínicos bloquea la acción de la acetilcolina quien es el agente contracturante, dicho de otra forma, la acetilcolina ejerce efecto de contracción y quien se encarga de relajar son los fármacos antiespasmódicos.

Para la ejecución de la presente investigación se tomó como referencia el estudio realizado por Plasencia et al⁵⁴ quienes determinaron el efecto del infuso de las hojas secas de *Psoralea glandulosa* utilizando la técnica de íleon aislado de *Cavia porcellus* y tomando como agente espasmogénico la acetilcolina.

En este estudio, el nivel de amplitud de contracción por el efecto de la acetilcolina y el nivel de amplitud de relajación por efecto del extracto hidroalcohólico de la *Clinopodium weberbaueri* y los fármacos antiespasmódicos se determinaron a través de la metodología experimental de órgano aislado con estímulo creciente, para ello se utilizó el equipo de órgano aislado PANLAB con el software LABSCRIB 3.0, como agente contracturante se utilizó la acetilcolina a un volumen de 6ml (concentración de 150mg/ml), como agente relajante se utilizó el extracto de *Clinopodium weberbaueri* a concentraciones de 15% (150mg/ml) y 20% (200mg/ml) a un volumen de 0.6ml, y los fármacos antiespasmódicos N-butilbromuro de hioscina al 2% (20mg/ml) y atropina al 0.05% (0.5mg/ml) 1ml respectivamente.

Los resultados del nivel de la amplitud de contracción se evidencian en la tabla 3, siendo los valores promedio para el segundo grupo de un 2.6cm de amplitud, para el tercer grupo 3.3cm de amplitud, para el cuarto grupo 1.86cm, y para el quinto grupo 2.23cm de amplitud de contracción. Los resultados de la amplitud de relajación se evidencian en la tabla 4, donde se muestran los valores de 1.5cm de amplitud de

relajación para el extracto de *Clinopodium weberbaueri* al 15%, para el extracto al 20%, 3,04cm de amplitud de relajación, para la N-butilbromuro de hioscina 1.86cm. y para la atropina 2.23cm de amplitud de relajación, la concentración que alcanzo la mayor amplitud de relajación frente a los fármacos antiespasmódicos fue el extracto hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri* al 20%.

A lo referido por Flores⁵³, y los resultados obtenidos en este estudio la probabilidad por la afinidad de receptores muscarinicos también tendría la *Clinopodium weberbaueri* ya que se comprueba un alto efecto antiespasmódico y que su nivel porcentual del extracto a 20% es muy cercano a los niveles porcentuales de los fármacos convencionales como los utilizado en este estudio , tales resultados se pueden evidenciar en la tabla 5 donde el nivel de la amplitud de relajación alcanzo un 92.12%, mientras que el nivel porcentual del efecto de la N-butilbromuro de hioscina y la atropina alcanzaron el 100% de su amplitud de relajación respectivamente, como se puede demostrar en los resultaos mostrados en la tabla 5.

La razón de mayor probabilidad del efecto antiespasmódico del extracto de *Clinopodium weberbaueri*, puede deberse al contenido de flavonoides que posee entre sus metabolitos secundarios, la manera de sustentar esta probabilidad es mediante lo descrito por Santos et al⁵⁵ donde en el estudio realizado en el año 2015 sobre Diferentes mecanismos de acción de la genisteína y quercetina en las contracciones espontáneas del duodeno de conejo, demuestra que la genisteina y quercetina (flavonoides) redujeron la amplitud de contracciones espontáneas en el musculo liso del duodeno de conejo, así demuestran que los flavonoides tanto genisteína y quercetina relajan los músculos lisos intestinales precontraídos. Por otra parte, Vanachola y Cañigueral⁵⁶, describen que los flavonoides poseen actividad

antiespasmódica y precisan que el flavonoide liquiritósido presente en la raíz de regaliz es la que brinda la actividad antiespasmódica.

Si bien no se sabe qué tipo de flavonoide le confiere la actividad antiespasmódica a la *Clinopodium weberbaueri*, esta especie vegetal ya evidencia una alta probabilidad que demuestra que el efecto antiespasmódico se debe a la actividad de los flavonoides contenido entre sus metabolitos secundarios.

VI. CONCLUSIÓN:

1. El nivel porcentual del efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de la *Clinopodium weberbaueri* al 15% fue de 57,69%, para el extracto al 20% fue de 92,12%, para la N-butilbromuro de hioscina al 2% y para la Atropina al 0,05% fue de 100% respectivamente.
2. El nivel de amplitud de contracción del duodeno de *Rattus rattus* tras la inducción de la acetilcolina fue para el segundo grupo 2,6cm, para el tercer grupo 3.3cm, para el cuarto grupo, 1,86cm y para el quinto y último grupo 2,23cm de amplitud de contracción.
3. El nivel de amplitud de relajación del duodeno *de Rattus rattus* tras la aplicación del extracto hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri* al 15% fue de 1,5cm, para el extracto al 20%, 3,04cm, de amplitud, para la N-butilbromuro de hioscina al 2% y la Atropina al 0,05% fue de 100% respectivamente.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1.- Novoa P. Pérez K. Achata M. et al. Síndrome de intestino irritable en estudiantes de medicina de Latinoamérica: ¿un problema pasado por alto? Rev. Gastroenterología Perú [Internet]. 2017, Jun. [Citado el 20 de Febrero del 2020]; 37 (2). Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292017000200016

2.- Quispe K. efecto antiespasmódico y toxicidad aguda del extracto acuoso de las hojas de *Solanum americanum* Muller (Ñushco). [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017. [Citado el 20 de Febrero del 2020]; Disponible en:

http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7311/Quispe_nk.pdf?sequence=1&isAllowed=y

3.- Viejo A. ¿existe conexión entre el síndrome de intestino irritable y la enfermedad inflamatoria intestinal? Rev. SAPD. [Internet]. 2019, Feb; [Citado el 20 de Febrero del 2020]; 42(1):22-31. Disponible en:

<https://www.sapd.es/revista/2019/42/1/03>

4.- Quigley E, Fried M, Gwee K. Síndrome de intestino irritable una perspectiva mundial. Rev. WGO, [internet]. 2015, Set; [Citado el 20 de Febrero del 2020]; Disponible en:

<https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/irritable-bowel-syndrome-spanish-2015.pdf>

5.- Velasco C, Chanís R, Játiva E. et al. Caracterización y subtipos del síndrome de intestino irritable en niños de Panamá, Ecuador, El Salvador, Nicaragua y México. Rev. Gastroenterol Perú. [Internet]. 2018, [Citado el 20 de Febrero del 2020]; 38 (2):131-7. Disponible en:

<http://www.scielo.org.pe/pdf/rgp/v38n2/a04v38n2.pdf>

6.- Vargas I, Sueng F, Arriaga J, et al. Superposición del síndrome de intestino irritable y dispepsia funcional basados en criterios ROMA III en estudiantes de medicina de una universidad privada de Lima, Perú. Rev. gastroenterol. Perú. [Internet]. 2015 [Citado el 6 de Julio del 2020]; 35 (3). Disponible en:

<http://www.scielo.org.pe/pdf/rgp/v35n3/a02v35n3.pdf>

7.- Mariños H, Chafloque A. Asociación entre el Síndrome de Intestino Irritable y la ansiedad y depresión en pacientes atendidos en el Hospital Regional Docente de Trujillo. Rev méd Trujillo. [Internet]. 2019 [Citado el 6 de julio del 2020]. 14 (4):181-88. Disponible en:

<http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/RMT/article/view/2595>

8.- Mearina F, Reyb E, Santanderc C. Síndrome del intestino irritable: cómo mejorar la toma de decisiones en la práctica clínica. Rev. Medcli. [Internet]. 2018 [Citado el 7 de julio del 2020]. 151. (12): 489-497. Disponible en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-sindrome-del-intestino-irritable-como-S0025775318304421>

9.- Delgado E, Cervantes P, Hernández J, Ramírez J. Síndrome de intestino irritable, un padecimiento con enfoque integral. Rev. Medica MD [Internet] 2015 [Citado el 7 de julio del 2020]. 6 (4):300-306. Disponible en:

<https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2015/md154p.pdf>

10.- Laureano L. Uso de analgésicos como factor de riesgo para desarrollar apendicitis aguda perforada en pacientes atendidos en el servicio de emergencia del hospital vitarte. Enero – Diciembre del 2017. [Tesis]. Lima: Universidad Ricardo Palma. 2019 [Citado el 7 de julio del 2020]; Disponible en:

<http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/URP/1756/LLAUREANOLAZARO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

11.- Gallegos M, Gallegos D. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos Ecuador. An. Fac. med. [Internet]. 2017. Jul. [Citado 07 de Jul del 2020]; 78 (3): 315-321. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832017000300011&lng=es.

12.- Espejo C. Etnobotánica de las plantas medicinales del Caserío el Edén, Provincia de Sánchez Carrión - La Libertad. [Tesis]. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca. 2019. [Citado el 8 de julio del 2020]. Disponible en:

<http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/3701/ETNOBOT%C3%81NICA%20DE%20LAS%20PLANTAS%20MEDICINALES%20DEL%20CASER%C3%8>

[DO%20EL%20ED%20C3%89N%20C%20PROVINCIA%20DE%20S%20C3%81NCHEZ%20CARRI%20C3%93N%20-%20LA%20LI.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://observatorio.epacartagena.gov.co/wp-content/uploads/2017/08/metodologia-de-la-investigacion-sexta-edicion.compressed.pdf)

13.- Hernández R. Fernández C. Baptista M. Metodología de la investigación, Texto. [Internet]. México D.F: McGRAW-HILL; 2015. [Citado el 8 de julio del 2020]. Disponible en:

<http://observatorio.epacartagena.gov.co/wp-content/uploads/2017/08/metodologia-de-la-investigacion-sexta-edicion.compressed.pdf>

14.- Codruta S, Vostinaru O, Rus L. Efecto antiespasmódico de los aceites esenciales y sus Componentes: una revisión. Art. de Revisión. [Internet]. 2019 Apr. [Citado el 10 de julio del 2020]. 24. (1675). Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6539827/pdf/molecules-24-01675.pdf>

15.- Martínez E. Juárez Z, Hernández E. Bach O. Antiespasmódicos naturales: fuente, configuración estereoquímica y actividad biológica. Art. BioMed Research International. [Internet]. 2018 Oct. [Citado el 10 de julio del 2020]. Vol. 2018, ID de Art. 3819714, 32 pág. Disponible en:

<http://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2018/3819714.pdf>

16.- Huarcaya R, Huete C, Solís F, Huamán C, Huamaní D. Efecto espasmolítico del timol, principal compuesto del aceite esencial del *Thymus vulgaris*, “tomillo”, en útero aislado de rata, Rev. Internacional en salud materno fetal – Yo Obstetra [Internet]. 2016, Ene. [Citado el 10 de julio del 2020]; 1(1). Disponible en:

<http://ojs.revistamaternofetal.com/index.php/RISMF/article/view/7/7>

17.- Sare O, Varas S. Características fisicoquímicas y efecto del aceite esencial de las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling sobre íleon aislado de *Cavia Porcellus* [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2015. [Citado el 10 de julio del 2020]. Disponible en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1562/Sare%20Salvador%2C%20Osmer%20Eduar.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

18.- Castro D, Ruiz A. Efecto del decocto de *Mentha pulegium* en íleon aislado de *Cavia porcellus* [Tesis], Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2014. [Citado el 10 de Julio del 2020]. Disponible en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3737/Rafael%20Castro%2C%20Diego%20Armando.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

19.- Sotelo M. Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Clinopodium weberbaueri* (Mansf.) Govaerts "Runtuwayra", frente a la supervivencia de cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella typhi*. [Tesis]. Andahuaylas: Universidad Nacional José María Arguedas Facultad de Ingeniería; 2014. [Citado del 10 de julio del 2020]. Disponible desde:

<http://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/123456789/203/10-2014-EPIA-Sotelo%20Ca%C3%B1ari-Actividad%20antibacteriana%20runtuwayra.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

20.- Rodriguez C, Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de *Clinopodium Pulchellum* (kum) Govaerts “panisara” procedente del distrito decachicadán – La

Libertad – Perú. Inf. Prac. Profesional [Internet]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2019. [Citado el 10 de julio del 2020]. Disponible en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/13192/Rodriguez%20Mu%C3%B1oz%20Cecilia%20Anataly.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

21. - Revista de investigaciones de la Universidad Le Cordon Bleu. Rev. Investig. Univ. Le Cordon Bleu [Internet]. Lima: 2014 [Citado el 11 de julio del 2020]. 1(2), Disponible en:

http://revistas.ulcb.edu.pe/numeros_completos/vol1-num2.pdf

22.- Zaidat O, Douglas J, Lerner A. El pequeño libro negro de la neurología. Texto, 6ta. Ed. [Internet]. España: Elsevier; 2020. [Citado el 11 de julio del 2020]. Disponible en:

<https://books.google.com.pe/books?id=-TPpDwAAQBAJ&pg=PA53&dq=definicion:+espasmo+muscular+-+2017&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiRqueD0MXqAhVeH7kGHVEkAaUQ6AEwBHoECAMQAg#v=onepage&q=definicion%3A%20espasmo%20muscular%20-%202017&f=false>

23.- Brenner G, Stevens C. Farmacología Básica. Texto 5ta. Ed. [Internet]. Barcelona: Elsevier; 2019. [Citado el 11 de julio del 2020]. Disponible en:

https://books.google.com.pe/books?id=HHWCDwAAQBAJ&pg=PA328&dq=antiespasmoticos+-+2019&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjxyc_oisbqAhWCC9QKHeFPDskQ6AEwBXoECAIQAg#v=onepage&q=antiespasmoticos%20-%202019&f=false

24.- Guerra M. Efecto del alprostadil en los cultivos de músculo esquelético isquémico. [Tesis]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2015. [Citado el 11 de julio del 2020]. Disponible en:

<https://eprints.ucm.es/33478/1/T36491.pdf>

25.- Andrade J. Dominio técnico, instalaciones y seguridad en sala de entrenamiento polivalente. Texto [Internet]. Malaga: Iceditorial; 2014 [Citado el 11 de julio del 2020]. Disponible en:

<https://books.google.com.pe/books?id=OmQgDgAAQBAJ&pg=PT100&dq=acetilcolina:+definicion+-+2017&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjxtOW95cbqAhXkJLkGHcVEBQIQ6wEwAHoECAMQAQ#v=onepage&q=acetilcolina%3A%20definicion%20-%202017&f=false>

26.- Semenov I, Brenner R. Efectos de voltaje sobre las contracciones mediadas por el receptor de acetilcolina muscarínico del músculo liso de las vías respiratorias. *Physiological Reports*. [Internet]. 2018. Sep. [Citado el 11 de Julio del 2020]. 6 (17). Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6125245/>

27.- Diana G, Mañé N, Gil V, et al. Mecanismos responsables de la relajación neuromuscular en el tracto gastrointestinal. *Rev. Esp. Enferm. dig.* [Internet]. 2016 Nov [Citado 11 de julio del 2020]; 108 (11): 721-731. Disponible en:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082016001100007&script=sci_arttext&tlng=es

28.- Costa V, Ovalle A. Rol de los antiespasmódicos en el manejo del síndrome de intestino irritable (SII). Rev. Colomb Gastroenterol [Internet]. 2019 Feb. [Citado el 11 de julio del 2020]. 34 (3). Disponible en:

<http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v34n3/0120-9957-rcg-34-03-00269.pdf>

29.- López J, Sevilla Julia –Llewellyn S, Luis Agüera L. Fármacos anticolinérgicos en psicofarmacología geriátrica. Frente Neurosci [Internet]. 2019 Dic. [Citado el 12 de julio del 2020]. 13: 1309. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6908498/>

30.- Broderick E; Metheny H; Crosby B. Toxicidad anticolinérgica. Art. de StatPearls. [Internet]. 2020. Jun. [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534798/>

31.- Abbas A, Nahed A, Mosa E. Efecto del bromuro de hioscina-N-butilo oral en la percepción del dolor durante la histerosalpingografía: un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo. Rev. De la Sociedad de Fertilidad de Medio Oriente. [Internet]. 2018. Mar. [Citado el 12 de julio del 2020]. 23 (1). Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110569017301814>

32.- Prusakov P. Alcaloides de la belladona. Módulo de referencia en ciencias biomédicas – Texto. [Internet]. 2014 Abr, [Citado el 12 de julio del 2020]. 399 – 401 pag. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123864543002463>

33.- Velasco M. El uso de la atropina en el control de la miopía. [Tesis] Sevilla: Universidad de Sevilla; 2018 [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible en:

<https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/70934/VELASCO%20RODR%C3%84GUEZ%2C%20MAR%C3%8DA%20TFG.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

34.- Lendon K; Preuss Ch. Atropina. StatPearls Publishing; [Internet]. 2020 Abr. [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470551/>

35.- Marroquin R. Saldaña D. Evaluación de la calidad genética de las ratas Wistar Kyoto del bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por marcadores moleculares microsatélites. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia [Internet]. 2018 [Citado el 12 de julio del 2020]. 27 (2). Disponible en:

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6535841>

36.- Mourelle A, Herrero E, Ricca M, Recomendaciones para manipulación y sujeción de ratas y ratones de laboratorio. Art. de Rev. Spei Domus. [Internet]. 2013 [Citado el 12 de julio del 2020]. 9 (19): 39-47. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/304557307_Recomendaciones_para_manipulacion_y_sujecion_de_ratas_y_ratones_de_laboratorio

37.- Moller R, Vazquez N, Teliz D, Méndez V. Digestive Peritoneum in Wistar Rat (Rattus norvegicus). Int. J. Morphol. [Internet]. 2013 Mar [Citado el 12 de julio del 2020]; 31 (1): 128-130. Disponible en:

<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022013000100020>

38.- Hernández R. Fernández C, Baptista P, Metodología de la investigación 4ta. Ed. [Texto en línea]. México: Mc Graw –Hill; 2006 [Citado el 12 de julio. Del 2020].

Disponible en:

http://files.especializacion-tig.webnode.com/200000775-097910b6c0/sampieri-et-al-metodologia-de-la-investigacion-4ta-edicion-sampieri-2006_ocr.pdf

39.- Arnelas I, Invernón V, González M, López E. Juan A. Alcaraz D. Manual de laboratorio de Botánica. El herbario. Recolección, procesamiento e identificación de plantas vasculares. Reduca (Biología). Serie Botánica [Internet]. 2012 [Citado el 12 de julio del 2020]. 5 (2): 15-24. Disponible en:

http://www.uco.es/botanica/recursos-innovacion/Manual_Herbario.pdf

40.- Carrión A, García C. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica [Tesis]. Cuenca: Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca; 2010 [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible en:

<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>

41.- Colina A. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “Muehlenbeckia hastulata (J.E.Sm) I.M. Johnst” de la zona de Yucay (Cusco) [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2016 [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible en:

http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7121/Colina_ra.pdf?sequence=1&isAllowed=y

42.- Rengifo R. Cuantificación de flavonoides en el extracto etanólico de propóleos. Art. Rev. Farmaciencia. [Internet]. 2013, Dic. [Citado el 12 de julio del 2020]. 1(2): 51-56. Disponible en:

<http://www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/462/418>

43.- Expósito E., Díaz A, Contreras J, et al. Estudio cualitativo de sustancias químicas presentes en la planta *Ficus carica L.* Rvt. Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta. [En línea].2017 [Citado el 12 de julio del 2020]. 42 (3). Disponible en:

http://revzoilomarinello.sld.cu/index.php/zmv/article/view/1065/pdf_404

44.- Alayo N, Guevara L, identificación preliminar de fitoconstituyentes en las inflorescencias de *Bejaria aestuans L.* (purum-rosa). [Tesis] Universidad Nacional de Trujillo; 2012. [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4063/Alayo%20Rodriguez%20Nilder%20Marino.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

45.- Rodríguez J, Martínez F, Riera P, et al. Manual de clases prácticas de fisiología animal. [Texto en línea]. Murcia: Universidad de Murcia, 1993. [Citado el 12 de julio del 2015]. Disponible en:

<https://books.google.com.pe/books?id=IY2b0gxFz28C&printsec=frontcover&dq=Manual+de+Clases+Practicas+de+Fisiologia+Animal&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiOsvCgm6PcAhVHs1kKHTHIBf8Q6AEIJjAA#v=onepage&q=tyrode&f=false>

46.- Pérez V, Vela A. Efecto del aceite esencial de *Aloysia tripylla* en íleon aislado de *Cavia porcellus* [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3733/Perez%20Robles%2c%20Veronica%20Nohely.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

47.- Canales C, Cubias R, Pérez L. Determinación del efecto antiespasmódico que poseen las hojas de *Ambrosia cumanensis* (altamisa), *Psidium guajaba* (guayabo), *Aloe vera* (sábila) sobre el músculo liso aislado en animales de experimentación. [Tesis]. San Salvador: Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de el Salvador; 2004 [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible en:

<http://ri.ues.edu.sv/5543/1/10129078.pdf>

48.- Orellana D; Sánchez M. Técnicas de recolección de datos en entornos virtuales más usadas en la investigación cualitativa. Rev. De Investigación Educativa [Internet]. 2006. [Citado el 12 de julio del 2020]. 24 (1): 205-222. Disponible en:

<http://www.redalyc.org/pdf/2833/283321886011.pdf>

49.- Klimovsky E, Saidon P, Nudelman L, Bignone I. Declaración de Helsinki sus vicisitudes en los últimos cinco años. Art. Rev. Medicina (B. Aires) [Internet]. 2002 Ago. [Citado el 12 de julio del 2020]. 62: 365-370. Disponible en:

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802002000400014

50.- Comité Institucional de Ética en Investigación – Uladech. Código de ética para la investigación [Internet]. Chicbote; 2019: Universidad Católica los Ángeles de Chicbote. [Citado el 12 de julio del 2020]. Disponible en:

<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf>

51.- Santos D, Grasa L, et al. Diferentes mecanismos de acción de la genisteína y quercetina en las contracciones espontáneas del duodeno de conejo. Rev. Esp. enferm. dig. [Internet]. 2015 Jul [Citado el 12 de julio del 2020]; 107(7): 413-416. Disponible en:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082015000700004&script=sci_arttext&tlng=es

52.- Jayne L. ¿Porque tengo espasmos musculares en el estómago? Boletín informativo revisado por Saurabh Sethi. [Internet]. Medical newsToday: 2018 Mar. [Citado el 14 de julio del 2020]. Disponible en:

<https://www.medicalnewstoday.com/articles/321096>

53.- Flores Z. Comparación del efecto de butil bromuro de Hioscina versus atropina para el manejo de bradicardia intraoperatoria en pacientes sometidos a anestesia general inhalatoria para colecistectomía laparoscópica. [Tesis]. Arequipa: Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa 2017. [Citado el 14 de julio del 2020]. Disponible en:

<http://bibliotecas.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/2504/MDSflarzp.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

54.- Placencia E. Portilla D. Quispe I. Efecto del infuso de hojas secas de *Psoralea glandulosa* Sobre íleon de *Cavia porcellus* tipo ondulado erizado Rev. Farmaciencia [Internet]. 2013 [Citado el 15 de julio del 2020]. 1(2). 74 – 83. Disponible en:

<http://www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/470/442>

55.- Santos D, Grasa L, Gonzalo S, Valero M, Castro M, Arruebo M, et al. Diferentes mecanismos de acción de la genisteína y quercetina en las contracciones espontáneas del duodeno de conejo. Rev. Esp. enferm. dig. [Internet]. 2015 Jul [Citado el 15 de julio del 2020]; 107(7): 413-416. Disponible en:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082015000700004&lng=es.

56.- Vanachola B, Cañigueral S, Fitoterapia Vademécum de prescripción. [Texto en internet]; Barcelona: Masson; 2003 [Citado el 15 de julio del 2020]. Disponible en:

https://books.google.com.pe/books?id=K3V4p5Pj_dAC&pg=PA32&dq=tipos+de+flavonoides+y+sus+actividades+antiespasmodica&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiQoNaWqaXcAhWqzlkKHXYeB4kQ6AEIKzAB#v=onepage&q=tipos%20de%20flavonoides%20y%20sus%20actividades%20antiespasmodica&f=false

ANEXO:

Anexo 1: Determinación de la taxonomía de *Clinopodium weberbaueri*.



Anexo 2: Especie de *Clinopodium weberbaueri* (canglle) en su Hábitad natural.



Anexo 3: Izquierda: Filtrado del extracto de *Clinopodium weberbaueri* por medio de la bomba al vacío. Derecha: Extracto hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri*.



Anexo 4: Obtención del extracto seco por medio del equipo rota vapor.



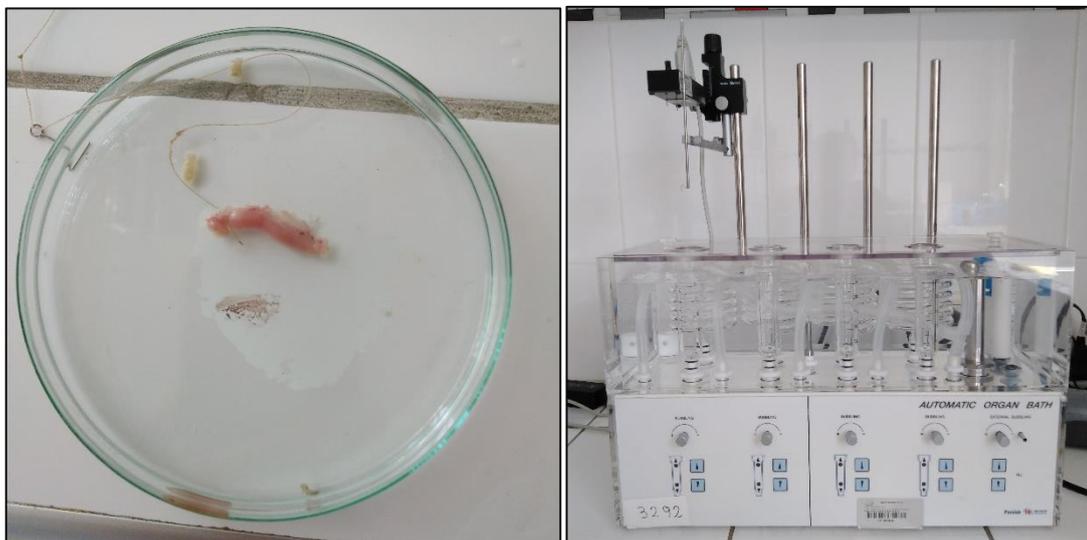
Anexo 5: Izquierda: extracto hidroalcohólico de *Clinopodium weberbaueri*;
Derecha: Solucion de Tyrode, extracto de *Clinopodium weberbaueri* al 15% y Acetilcolina.



Anexo 6: Extracción del duodeno de *Rattus rattus*



Anexo 7: Izquierda: sección de duodeno de *Rattus rattus*. **Derecha:** Cámara de órgano aislado.



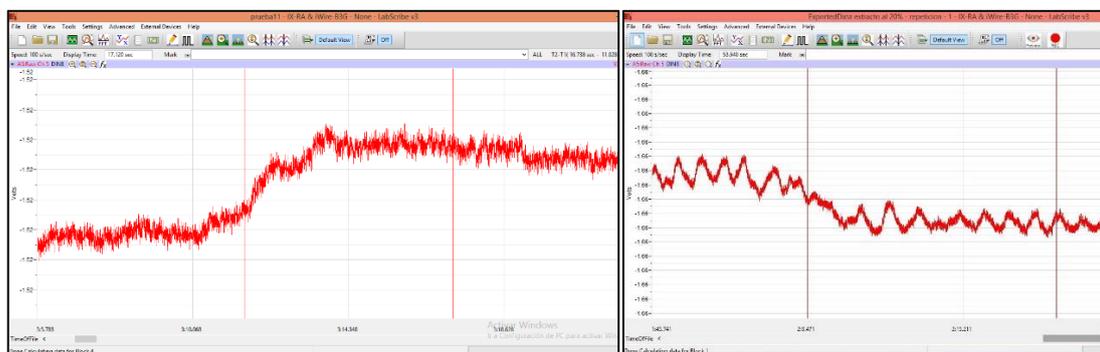
Anexo 8: Sección de duodeno de *Rattus rattus* en la cámara de órgano aislado



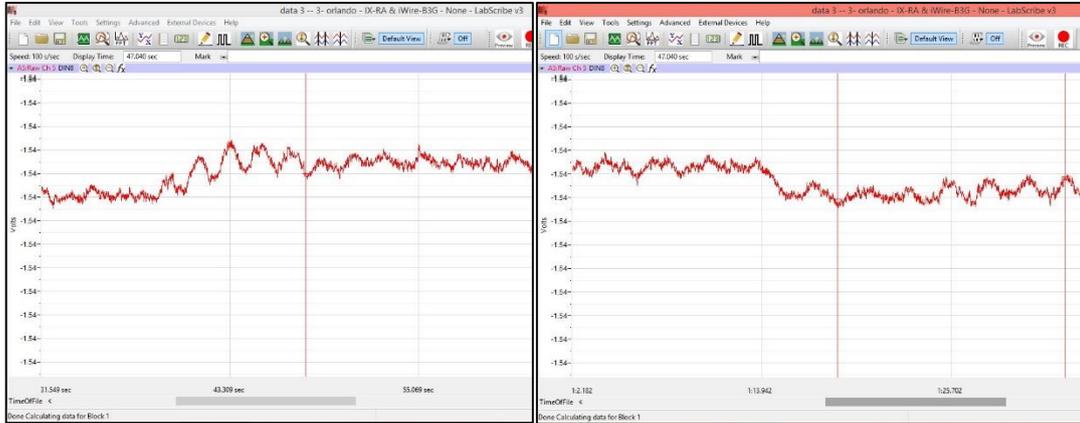
Anexo 9: Equipo de cámara de órgano aislado y programa LABSCRIBE.



Anexo 10: Izquierda: Lectura de la amplitud de contracción del duodeno de *Rattus rattus* por acción de la Acetilcolina y relajación por acción de *Clinopodium weberbaueri*. al 15%. **Derecha:** Lectura de la amplitud de contracción del duodeno de *Rattus rattus* por acción de la Acetilcolina y relajación por acción de *Clinopodium weberbaueri*. al 20%



Anexo 11: Izquierda: Lectura de la amplitud de contracción del duodeno de *Rattus rattus* por acción de la Acetilcolina. **Derecha:** Lectura de la amplitud de relajación del duodeno de *Rattus rattus* por acción de la N-butilbromuro de Hioscina



Anexo 12: Izquierda: Lectura de la amplitud de contracción por acción de la Acetilcolina del duodeno de *Rattus rattus* Derecha: Lectura de la amplitud de relajación del duodeno de *Rattus rattus* por acción de la Atropina

