

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotechnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



**“DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO Y LA ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE *Capsicum pubescens* R&P
(rocoto) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN CON HIPERTENSIÓN
INDUCIDA POR L-NAME, AREQUIPA- 2016”**

Tesis presentada por las Bachilleres en:
Fernández Cohaila, Karin Judith
Flor Ordoñez, Bonnie Ekaterina

Para optar el Título Profesional de:
Química-Farmacéutica

Asesora:
Mgter. Guillén Núñez, María Elena

AREQUIPA – PERÚ
2018

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Expediente N°. 20160000047846

N° Trámite en Fac. 1691-2016

Fecha 09-11-2016

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL

DE: FERNANDEZ COHAILA, Karin Judith
FLOR ORDOÑEZ, Bonnie Ekaterina

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

"EFECTO ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DE *Capsicum pubescens* "ROCOTO" DEL MARCADOR OXIDATIVO MALONDIALDEHIDO (MDA) EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME, AREQUIPA 2016"

DICTAMINADORES: 1) Q. F. Juan Ramírez Orellana 2) Q. F. Mocita De La Fuente Torres

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por las recurrentes, se ha procedido a la revisión del mismo, sugiriendo se cambie el título a: "DETERMINACION DEL EFECTO ANTIOXIDANTE Y ANTIHIPERTENSIVO DE EXTRACTOS DEL FRUTO DE *Capsicum pubescens* R&P (ROCOTO) EN RATAS CON HIPERTENSIÓN INDUCIDA POR L-NAME, AREQUIPA-2017, y después de realizadas las correcciones y sugerencias correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad

Atentamente

Firmas:

(Devolver antes de 8 días hábiles) Fecha

ASESOR: Mgter. María Elena Guillén Núñez

DICTAMEN DE ASESOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación se ha asesorado el presente Trabajo de Investigación y verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes, considero se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.

Atentamente

Firma

Fecha 26-04-18

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) Dr. José Villanueva Salas 3) Q. F. Fernando Torres Vela
2) Q. F. Juan Ramírez Orellana

DICTAMEN FINAL:

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por la recurrente, debiendo cambiar el título a. "DETERMINACION DEL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DEL FRUTO DE *Capsicum pubescens* R&P (Rocoto) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION CON HIPERTENSION INDUCIDA POR L-NAME, AREQUIPA-2016", y habiéndose cumplido con las correcciones respectivas, consideramos que el presente trabajo de investigación se encuentra APTO para continuar con el trámite, en conformidad al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente

Firma

F.G.V.

(Devolver antes de 15 días hábiles) Fecha 17-07-18

JURADOS: Presidente Dr. José Villanueva Salas
Vocal Q. F. Juan Ramírez Orellana
Secretario Q. F. Fernando Torres Vela

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha: 26/08/18 Hora: 19.00 Local: C- 402 (SUM)

DECANO

AGRADECIMIENTOS

Brindarles nuestra mayor gratitud a todos nuestros docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María, por el tiempo brindado, todas las enseñanzas y consejos aportados a nuestra formación profesional y personal durante toda nuestra carrera universitaria.

Agradecer a nuestra asesora Mgter. María Elena Guillen por el gran apoyo que nos brindó y por todos sus consejos que nos sirvieron para realizar y culminar este trabajo.

A nuestros dictaminadores quienes se merecen nuestro especial reconocimiento por el interés mostrado por nuestra investigación y las sugerencias recibidas a cada uno de ellos Dr. José Villanueva Salas, Q.F. Juan Ramírez Orellana, Dr. Fernando Torres Vela, por sus sabios consejos, su ayuda incondicional y experiencia nos dieron la clave para culminar esta meta de manera satisfactoria.

Expresar también nuestro agradecimiento al personal de laboratorio por su apoyo y colaboración durante la realización de nuestro trabajo de investigación.

DEDICATORIAS

A Dios, por permitir realizar el sueño más importante de mi vida. Gracias por los triunfos y momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más.

A mis padres MARTA y GUILLERMO por el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente han tenido a través del tiempo; a ellos que siempre me dieron sus consejos y tuvieron una palabra de aliento. Gracias.

A mi familia también la confianza y el apoyo brindado celebrando mis triunfos. Es por eso que también dedico a mis hermanas y sobrinos MARLON, RICHARD, AARON Y BRISA que son valiosas aportaciones que hicieron posible este proyecto y finalmente a mi compañera BONNIE por la gran calidad humana que me ha demostrado con su amistad.

KARIN J. FERNÁNDEZ COHAILA

A Dios por haberme dado la luz de la vida y a la vida por haberme enseñado a superar los retos que se presentaron en el camino del aprendizaje y a ver con claridad que este es el primer paso de mi carrera profesional.

A mi familia una de las joyas más presidas que uno puede tener, sin la familia uno no puede conseguir la fuerza necesaria para lograr las metas. Este documento es un esfuerzo grande que involucra a muchas personas cercanas a mí. Es por eso que dedico esta tesis a mi mamá, mi papá, mis hermanos y principalmente a mi hija, que son el motor que me obliga a funcionar y ser cada día mejor.

BONNIE E. FLOR ORDOÑEZ

INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial es una entidad clínica de tipo crónico que consiste en un aumento paulatino de la presión arterial. Una de sus principales características y que la hace peligrosa para la salud del ser humano es su naturaleza silente, es decir, que no presenta una sintomatología clara pero se manifiesta sobre todo al inicio, sin embargo, al final de la enfermedad causa un daño a órganos como el riñón, los vasos sanguíneos entre otros órganos.

Aunque todavía no se conocen las causas específicas que provocan la hipertensión arterial, sí se ha relacionado con una serie de factores que suelen estar presentes en la mayoría de las personas que la sufren. Conviene separar aquellos relacionados con la herencia genética, el sexo, la edad, la raza y por tanto poco modificables, de aquellos otros que se podrían cambiar al variar los hábitos, ambiente, y las costumbres de las personas, como: la obesidad, la sensibilidad al sodio, el consumo excesivo de alcohol, el uso de anticonceptivos orales y un estilo de vida muy sedentario.⁽⁷⁾

A pesar de que se encuentra dentro de las enfermedades cardiovasculares y que éstas son las principales causas de mortalidad en muchos países, la hipertensión arterial es una patología que se puede tratar bajo un control médico mediante la farmacoterapia y la modificación del estilo de vida junto a un régimen dietético.⁽⁷⁾

Pero no solo se disponen de fármacos sino también plantas medicinales y otros productos que incluyen vitaminas y polifenoles, es conocida la recomendación del resveratrol.⁽³⁾ En este contexto se ubica el *Capsicum pubescens* R&P fruto perteneciente a la familia de las Solanáceas que contiene ácido ascórbico, que puede ser mayor a otros frutos donde el *Capsicum pubescens* R&P, tiene un amplio uso en nuestro medio como condimento picante especialmente en la comida arequipeña, además de alimento como en el conocido plato rocoto relleno, paralelo a este uso se encuentra el uso medicinal que lo señala como antigripal (comer rocoto), en la hidropesía y para la hipertensión. Es este último uso que nos motivó la ejecución del presente trabajo de investigación, ya que este uso un tanto difundido no presenta antecedentes actuales que evidencien dicha actividad, es por ello que mediante un esquema experimental preclínico con animales de experimentación es que se evaluó el potencial efecto antihipertensivo del *Capsicum pubescens* R&P para ello se generó

hipertensión experimental mediante la administración crónica de L-NAME, además de ello se determinó su actividad antioxidante del fruto.



OBJETIVOS

GENERAL

- Determinar el efecto antihipertensivo y la actividad antioxidante del extracto del fruto de *Capsicum pubescens* R&P en animales de experimentación con hipertensión inducida por L-NAME.

ESPECÍFICOS

- Obtener extracto del fruto de *Capsicum pubescens* R&P, mediante método de percolación.
- Realizar una evaluación fitoquímica preliminar del fruto de *Capsicum pubescens* R&P, mediante cromatografía en capa fina.
- Evaluar la acción antioxidante del fruto de *Capsicum pubescens* R&P, mediante el método DPPH.
- Inducir en animales de laboratorio hipertensión arterial experimental mediante la administración de L-NAME.
- Evaluar el efecto antihipertensivo del extracto del fruto de *Capsicum pubescens* R&P en animales hipertensas tras la administración de L-NAME en comparación al enalapril.

HIPÓTESIS

Dado que la población refiere que el consumo de rocoto tendría efectos benéficos en situaciones de hipertensión arterial, es probable que el extracto etanólico del fruto de *Capsicum pubescens* R&P, presente efecto antihipertensivo en animales de experimentación con hipertensión inducida mediante la administración de L-NAME.



RESUMEN

El objetivo del trabajo de investigación fue la evaluación *in-vitro* de la actividad antioxidante, así como el efecto antihipertensivo *in-vivo* del extracto etanólico de *Capsicum pubescens* R&P.

Con el pulverizado anterior se procedió a la extracción donde se realizó tres ensayos de los pesos obteniendo un promedio de 1.20g por cada 14g del extracto seco pulverizado, se obtuvo un rendimiento de 8.74%.

Con el extracto etanólico se realizaron dos análisis, el primero fue la cromatografía en capa fina, con el objetivo de revelar la presencia de metabolitos secundarios que se encontraban presentes en el extracto, detectándose: terpenos, flavonoides y alcaloides, lo que se relaciona con la bibliografía sobre la composición química del *Capsicum pubescens* R&P, para el caso de terpenos Rf desde 0.12 hasta 0.63 se puede presumir su presencia debido a manchas observadas de color verde, para el caso de flavonoides manchas de color amarillo en UV 366 nm, seguidamente para alcaloides Rf desde 0.17 hasta 0.94 se observó manchas de color naranja – marrón en luz UV 254 nm de acuerdo a la bibliografía y por las variaciones de su color.

El segundo análisis fue la evaluación de la actividad antioxidante que se realizó mediante la técnica espectrofotométrica empleado por el método de DPPH dando como resultado, que el extracto etanólico del fruto *Capsicum pubescens* R&P tiene actividad antioxidante con un porcentaje de inhibición de 51.3%, se obtuvo como resultado 33.91 μmol equivalente de trolox por gramos de pericarpio detectando presencia de compuestos fenólicos en el extracto.

La evaluación del efecto antihipertensivo fue con el extracto etanólico de *Capsicum pubescens* R&P, en primer lugar, se determinó los valores normales de presión arterial, estando la presión arterial sistólica en un rango de 131 a 149mmHg, para la presión arterial diastólica entre 95 a 111mmHg y la presión media entre 113 a 130mmHg (anexos). Posteriormente, se realizó la fase de inducción de un estado hipertensivo mediante la administración crónica de L-NAME, agente que interfiere en la biosíntesis de óxido nítrico, generando un estado hipertensivo en los animales de experimentación. Se logró incrementos de alrededor del 20% sobre los valores normales de presión arterial sistólica, diastólica y media antes mencionados. Este incremento según el modelo experimental es suficiente para evaluar un agente con potencial antihipertensivo.

Luego de la fase de inducción se continuó con la fase de post inducción o de tratamiento en donde se administró luego del día 28 de inducción, es decir, el día 29 los tratamientos consistentes en 3mL de suero fisiológico para el grupo control; 10 mg/kg/peso de extracto etanólico a un grupo, a otro se administró 100mg/kg/peso de extracto etanólico del *Capsicum pubescens* R&P y 25mg/kg/peso de enalapril al grupo control positivo. La administración de estos tratamientos también fue por 28 días, durante este período se realizó mediciones de la presión arterial sistólica, diastólica y media los días 7, 14, 21 y 28.

El análisis estadístico imprescindible para este tipo de datos, que considere el factor grupo de tratamiento y las cuatro mediciones realizadas fueron el ANOVA MR, a un nivel de confianza del 95%, posteriormente el HSD de Tukey. Este análisis permitió concluir que para la presión arterial sistólica de los extractos etanólicos del *Capsicum pubescens* R&P, tenían una eficacia diferente al control en tanto inferior al enalapril. Para la presión diastólica bajo el mismo estadístico, la eficacia no es clara para el extracto etanólico de *Capsicum pubescens* R&P a una dosis de 10 mg/kg/peso, pero si para el caso del extracto etanólico *Capsicum pubescens* R&P administrado a una dosis de 100mg/kg/peso. Finalmente, para la presión arterial media ambos extractos etanólicos de *Capsicum pubescens* R&P, muestran eficacia diferente al control pero al igual que con la presión sistólica esta es inferior al enalapril o control positivo.

Palabras claves: *Capsicum pubescens* R&P, extracto etanólico, actividad antioxidante, efecto antihipertensivo, L-NAME.

ABSTRACT

The objective of the research work was the in-vitro evaluation of the antioxidant activity, as well as the in-vivo antihypertensive effect of the ethanolic extract of *Capsicum pubescens* R&P.

With the previous pulverization we proceeded to the extraction where three weights tests were carried out obtaining an average of 1.20g for each 14g of the pulverized dry extract, a yield of 8.74% was obtained.

Two analyzes were performed with the ethanolic extract, the first one was thin layer chromatography, with the aim of revealing the presence of secondary metabolites that were present in the extract, detecting: terpenes, flavonoids and alkaloids, which is related to the Bibliography on the chemical composition of *Capsicum pubescens* R&P, for the case of Rf terpenes from 0.12 to 0.63 can be presumed its presence due to green spots observed, for the case of yellow flavonoid spots in UV 366nm, then for Rf alkaloids from 0.17 to 0.94 were observed orange-brown spots in UV light 254nm according to the literature and the variations in their color.

The second analysis was the evaluation of the antioxidant activity that was performed using the spectrophotometric technique used by the DPPH method, which resulted in the ethanolic extract of *Capsicum pubescens* R&P fruit having antioxidant activity with a 51.3% inhibition percentage. as a result, 33.91 μ mol equivalent of trolox per grams of pericarp, detecting presence of phenolic compounds in the extract.

The evaluation of the antihypertensive effect was with the ethanolic extract of *Capsicum pubescens* R&P, firstly, the normal blood pressure values were determined, with the systolic blood pressure being in a range of 131 to 149mmHg, for the diastolic blood pressure between 95 a 111mmHg and the average pressure between 113 to 130mmHg (annexes). Subsequently, the induction phase of a hypertensive state was carried out through the chronic administration of L-NAME, an agent that interferes.

In the biosynthesis of nitric oxide, generating a hypertensive state in experimental animals. Increases of around 20% were achieved over the normal values of systolic, diastolic

and mean blood pressure mentioned above. This increase according to the experimental model is sufficient to evaluate an agent with antihypertensive potential.

After the induction phase, we continued with the post-induction or treatment phase, where it was administered after day 28 of induction, that is, on day 29, treatments consisting of 3mL of physiological saline for the control group; 10mg/kg/weight of ethanolic extract to one group, to another was administered 100mg/kg/weight of ethanolic extract of *Capsicum pubescens* R&P and 25mg/kg/weight of enalapril to the positive control group. The administration of these treatments was also for 28 days, during this period measurements of systolic, diastolic and mean blood pressure were taken on days 7, 14, 21 and 28.

The essential statistical analysis for this type of data, which considers the treatment group factor and the four measurements carried out, was the MR ANOVA, at a confidence level of 95%, later the Tukey HSD. This analysis allowed us to conclude that for the systolic blood pressure of the ethanolic extracts of *Capsicum pubescens* R&P, they had a different efficacy to the control in so much less than enalapril. For the diastolic pressure under the same statistic, the efficacy is not clear for the ethanolic extract of *Capsicum pubescens* R&P at a dose of 10mg/kg/weight, but for the case of the ethanolic extract *Capsicum pubescens* R&P administered at a dose of 100mg/kg/weight. Finally, for medium blood pressure, both ethanolic extracts of *Capsicum pubescens* R&P show different efficacy than control, but as with systolic pressure, it is lower than enalapril or positive control.

Key words: *Capsicum pubescens* R&P, ethanolic extract, antioxidant activity, antihypertensive effect, L-NAME.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

HIPÓTESIS

RESUMEN

ABSTRACT

CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. ROCOTO	2
1.1.1. Nombre científico	2
1.1.2. Nombres comunes	2
1.1.3. Descripción botánica	2
1.1.4. Taxonomía vegetal	2
1.1.5. Composición química	3
1.1.6. Distribución	3
1.1.7. Usos medicinales	3
1.1.8. Otros usos	3
1.2. ESTRÉS OXIDATIVO	3
1.2.1. Especies reactivas del nitrógeno (RNS)	4
1.2.2. Disfunción endotelial y estrés oxidativo	5
1.2.3. Las especies reactivas de oxígeno y la muerte celular por apoptosis en el endotelio	6
1.2.4. Angiotensina II y estrés oxidativo	7
1.2.5. Defensas antioxidantes	8
1.3. FARMACOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL	9
1.3.1. Clasificación de los fármacos antihipertensivos:	9
1.3.1.1. Fármacos diuréticos:	9
1.3.1.2. Fármacos simpaticolíticos:	11
1.3.1.3. Fármacos vasodilatadores directos	12
1.3.1.4. Fármacos bloqueantes de los canales de calcio	13
1.3.1.5. Fármacos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina	13
1.3.1.6. Fármacos antagonistas de los receptores de angiotensina II	15

1.4.	ENALAPRIL	16
1.4.1.	Farmacodinamia	16
1.4.2.	Farmacocinética.....	16
1.4.3.	Indicaciones.....	17
1.4.4.	Dosificación.....	17
1.4.5.	Reacciones adversas	17
1.4.6.	Contraindicaciones	18
1.4.7.	Interacciones.....	18
1.4.8.	Tratamiento de sobredosis.....	18
	CAPÍTULO II.....	19
	MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
2.1.	CAMPO DE INVESTIGACIÓN	20
2.1.1.	Ámbito de ejecución.....	20
2.2.	MATERIALES.....	20
2.2.1.	Material biológico	20
2.2.1.1.	<i>Capsicum pubescens</i> R&P.....	20
2.2.1.2.	Animales de experimentación	21
2.2.2.	Material de laboratorio	21
2.2.2.1.	Material de vidrio	21
2.2.2.2.	Equipos	21
2.2.2.3.	Reactivos	22
2.2.2.4.	Sustancias con actividad biológica.....	22
2.2.2.5.	Otros equipos y materiales	22
2.3.	METODOLOGÍAS	23
2.3.1.	Pre-tratamiento del material vegetal.....	23
2.3.1.1.	Recolección	23
2.3.1.2.	Selección.....	24
2.3.1.3.	Estabilización.....	24
2.3.1.4.	Dsecación.....	24
2.3.1.5.	Trituración	24
2.3.2.	Obtención de los extractos.....	24
2.3.2.1.	Extracción por el método de percolación del pericarpio del <i>Capsicum pubescens</i> R&P.....	24

2.3.2.2.	Determinación de rendimiento	26
2.3.3.	Análisis fitoquímico preliminar	26
2.3.3.1.	Análisis general	26
2.3.3.2.	Análisis de terpenos.....	27
2.3.3.3.	Análisis de flavonoides.....	27
2.3.3.4.	Análisis de taninos.....	28
2.3.3.5.	Análisis de alcaloides	28
2.3.4.	Evaluación de la actividad antioxidante en el pericarpio del fruto <i>Capsicum</i> <i>Pubescens</i> R&P	29
2.3.4.1.	Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH ...	29
2.3.4.2.	Procedimiento en la solución madre de DPPH.....	30
2.3.4.3.	Procedimiento en la solución madre de Trolox.....	30
2.3.4.4.	Procedimiento del gráfico de calibración.	30
2.3.5.	Método para la evaluación del efecto antihipertensivo de <i>Capsicum</i> <i>pubescens</i> R&P.....	31
2.3.5.1.	Método para la medición de la presión arterial	32
2.3.5.2.	Fase de estandarización y aleatorización de la muestra	33
2.3.5.3.	Vía de administración y dosis.....	34
2.3.5.4.	Fase de inducción de hipertensión arterial	34
2.3.5.5.	Fase post inducción o de tratamiento	35
2.3.6.	Diseño de la investigación.....	36
2.3.7.	Métodos estadísticos.....	36
CAPÍTULO III		38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		38
3.1.	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	39
3.1.1.	Rendimiento	40
3.2.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR	41
3.2.1	Identificación general	41
3.2.2	Identificación de terpenos.....	42
3.2.3	Identificación de flavoniodes.....	42
3.2.4	Identificación alcaloides	43
3.3.	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	43
3.4.	EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO.....	47

3.4.1. Fase de inducción	47
3.4.2. Fase de post inducción o de tratamiento.....	53
DISCUSIÓN	74
CONCLUSIONES	78
SUGERENCIAS	80
BIBLIOGRAFÍA	81
ANEXOS	86
ANEXO N° 1: CONSTANCIA DE IDENTIFICACION TAXONOMICA.....	87
ANEXOS N° 2: SABANA DE DATOS	88



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1	Cuadro de diluciones Trolox para la curva de calibración.	30
Tabla N° 2	Soluciones de reactivos para la curva de calibración.	31
Tabla N° 3	Resultados del rendimiento de la percolación del pericarpio del <i>Capsicum</i> ..	40
Tabla N° 4	Absorbancias de los estándares Trolox para la curva de calibración	44
Tabla N° 5	Concentraciones halladas mediante la curva de calibración	47
Tabla N° 6	Dosis de L-NAME según peso corporal para la fase de inducción.....	48
Tabla N° 7	Fase inducción, porcentaje de incremento de la presión arterial sistólica: promedios y D.E.....	49
Tabla N° 8	Fase inducción, porcentaje de incremento de la presión arterial diastólica: promedios y D.E.....	51
Tabla N° 9	Fase inducción, porcentaje de incremento de la presión arterial media: promedios y D.E.....	52
Tabla N° 10	Dosis según grupo experimental para la fase post induccion o de tratamiento.	54
Tabla N° 11	Soluciones de los tratamientos para la administración por vía oral.	55
Tabla N° 12	Fase post inducción, porcentaje de decremento de la presión arterial sistólica: promedios y D.E.....	56
Tabla N° 13	Prueba Multivariante para la presión sistólica en la fase post inducción o de tratamiento.....	58
Tabla N° 14	Prueba de esfericidad de Mauchly para la presión sistolica en la fase post inducción o de tratamiento	59
Tabla N° 15	Prueba de efectos inter sujetos para la presión sistólica en la fase post inducción o de tratamiento	59
Tabla N° 16	Prueba HSD Tukey para la presión sistólica en la fase post inducción o de tratamiento.....	60

Tabla N° 17 Fase post inducción, porcentaje de decremento de la presión arterial diastólica: promedios y D.E.	61
Tabla N° 18 Prueba Multivariante para la presión diastólica en la fase post inducción o de tratamiento.....	63
Tabla N° 19 Prueba de esfericidad de Mauchly para la presión diastólica en la fase post inducción o de tratamiento	64
Tabla N° 20 Prueba de efectos intersujetos para la presión diastólica en la fase post inducción o de tratamiento	65
Tabla N° 21 Prueba HSD Tukey para la presión diastólica en la fase post inducción o de tratamiento.....	66
Tabla N° 22 Fase post inducción, porcentaje de decremento de la presión arterial media: promedios y D.E.....	67
Tabla N° 23 Prueba Multivariante para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento	68
Tabla N° 24 Prueba de esfericidad de Mauchly para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento	69
Tabla N° 25 Prueba de efectos dentro de sujetos para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento	70
Tabla N° 26 Prueba de efectos inter sujetos para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento	71
Tabla N° 27 Prueba HSD Tukey para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento	72

ÍNDICE DE FIGURA

Figura N° 1. Estructura Química de Enalapril.....	16
Figura N° 2. . El fruto <i>Capsicum pubescens</i> R&P y sus partes.....	20
Figura N° 3. Fruto <i>Capsicum Pubescens</i> R&P.....	23
Figura N° 4. Extracción etanólica del pericarpio <i>Capsicum pubescens</i> R&P	25
Figura N° 5. Actividad antioxidante del reactivo DPPH equivalente al Trolox	29
Figura N° 6. Los estándares de DPPH para la curva de calibración.	31
Figura N° 7. Pesado del extracto seco <i>Capsicum pubescens</i> R&P.....	39
Figura N° 8. Concentración del extracto mediante rotavapor	39
Figura N° 9. Placa cromatografía del extracto etanólico de <i>Capsicum pubescens</i> R&P para la identificación general a λ 254 nm.....	41
Figura N° 10. Placa cromatografía del extracto etanólico de <i>Capsicum pubescens</i> R&P para la identificación de terpenos a λ 254nm	42
Figura N° 11. Placa cromatográfica del extracto etanólico de <i>Capsicum pubescens</i> R&P para la identificación de flavonoides λ 366nm.....	43
Figura N° 12. Placa cromatográfica del extracto etanólico de <i>Capsicum pubescens</i> R&P para la identificación de alcaloides a λ 254nm.....	43
Figura N° 13. Curva de calibración.....	45
Figura N° 14. Fase de inducción de presión arterial sistólica	50
Figura N° 15. Fase de incremento de presión arterial diastólica.....	51
Figura N° 16. Fase de inducción de presión arterial media.....	53
Figura N° 17. Fase de post inducción de presión arterial	57
Figura N° 18. Fase de Post inducción de presión arterial diastólica	62
Figura N° 19. Fase de inducción de presión arterial media.....	73

ABREVIATURAS

a: Intercepto de la regresión lineal

b: ordenada al origen

ABS: Absorbancia

ANOVA: Análisis de varianza

ppm: Partes por millón

ERO: Espécies reactivas de oxígeno

LADME: L-arginina nitro metil ester

μM: Micromolar

LDD: Limite de detección

LDQ: Limite de cuantificación

DPPH: 2,2 – Difenil -1- pierilhidrazil.



CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. ROCOTO

1.1.1. Nombre científico

Capsicum pubescens R&P.

1.1.2. Nombres comunes

Rocoto, chinchi uchú, chuts (v. yanesha o amuesha), uchú, chinchi huaica, rokoto, roccoto, pucuna uchú, cerbatana uchú, misti uchú. ⁽⁸⁾

1.1.3. Descripción botánica

Planta perenne, con ciclo de cultivo anual, de tamaño variable, de 0,5 a 2 metros de altura, es muy fácil de distinguir de cualquier otra especie por sus semillas negras, aunque en la forma del fruto, el color (rojo, amarillo o marrón) y el picante es variable. ⁽⁸⁾

1.1.4. Taxonomía vegetal

- División : Magnoliophyta
- Clase : Magnoliopsida
- Subclase : Asteridae
- Orden : Solanales
- Familia : Solanaceae
- Género : *Capsicum*
- Especie : *Capsicum pubescens* R&P

1.1.5. Composición química

El fruto *capsicum pubescens* R&P es abundante en ácido ascórbico; contienen igualmente heterósidos diterpénicos (capsianósidos) y un heterósido del furostanol (capsicósido). Su coloración se debe a la presencia de carotenoides con terminación ciclopentánica cuyo contenido aumenta a lo largo de la maduración: la capsantina se encuentra acompañada de capsorubina, capsantinona, criptocapsina, violaxantina, α -caroteno. El sabor picante de los rocotos fuertes se debe al contenido muy variable en amidas: los capsaicinoides. El compuesto mayoritario de esta serie es la capsaicina, vainillamida del ácido 8-metil-non-6-enoico. ⁽¹⁰⁾

1.1.6. Distribución

Es una especie típica de las zonas altas entre 1500 y 3300 msnm y común en las zonas andinas de Colombia, Bolivia y en el Perú. Ha sido introducido a México, Costa Rica y Guatemala, pero su introducción a zonas templadas no ha tenido éxito por su lento crecimiento. En el Perú se le encuentra cultivado por lo general hasta los 2000 msnm. ⁽⁸⁾

1.1.7. Usos medicinales

Antigripal (comer el fruto). Hidropesía (infusión de las hojas). Hipertensión arterial (comer el fruto). ^(8, 26)

1.1.8. Otros usos

Como alimento/condimento por su sabor picante como verdura en forma rellena (rocoto relleno) y ensaladas. Como veneno para flechas y cerbatanas las hojas machacadas. Para torturar frotar el rocoto molido en nariz y ojos. ⁽⁸⁾

1.2. ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo, se define como un estado en el que la velocidad de generación de ROS excede nuestra capacidad para protegernos frente a ellas, lo que determina un incremento en el daño oxidativo a las biomoléculas. El estrés oxidativo es una característica

de las enfermedades inflamatorias en las que las células del sistema inmunitario producen ROS en respuesta a un estímulo. El estrés oxidativo puede ser localizado, por ejemplo, en las articulaciones en la artritis o en la pared vascular en la aterosclerosis, o puede ser sistémico, por ejemplo en el lupus eritematoso sistémico (LES) o en la diabetes. ⁽⁶⁾

Entre las ROS, el H_2O_2 se halla presente en máxima concentración en la sangre y los tejidos, aunque a concentraciones micromolares o más bajas, el H_2O_2 es relativamente estable; puede ser almacenado en el laboratorio o en un armario de medicinas durante años, pero se descompone en presencia de iones metálicos redox activos. El radical hidroxilo ($OH\bullet$) es la más reactiva y dañina de las especies; su vida media medida en nanosegundos está limitada por la difusión, esto es, determinada por el tiempo hasta la colisión con una biomolécula diana. El superóxido ($O_2\bullet$) tiene una estabilidad intermedia y realmente puede servir como agente oxidante o reductor, formando H_2O_2 o O_2 , respectivamente. A pH fisiológico, el radical hidroperoxilo ($HOO\bullet$, $pK_a \sim 4,5$), la forma protonada del superóxido representa sólo una pequeña fracción del total de $O_2\bullet$ ($\sim 0,1\%$), aunque este radical tiene una reactividad intermedia entre el $O_2\bullet$ y el $OH\bullet$. El $HOO\bullet$ y el H_2O_2 son moléculas pequeñas, no cargadas y que se difunden fácilmente a través de las membranas celulares. ⁽⁶⁾

Las ROS se forman mediante 3 mecanismos principales *in-vivo*: por reacción del oxígeno con iones metálicos descompartimentalizados; como reacción secundaria del transporte de electrones mitocondrial, o por reacciones enzimáticas normales, por ejemplo, formación de H_2O_2 por las oxidasas de ácidos grasos en el peroxisoma. Las ROS secundarias se forman también por reacciones enzimáticas, por ejemplo, la mieloperoxidasa del macrófago cataliza la reacción del H_2O_2 con Cl^- para producir otra ROS, ácido hipocloroso ($HOCl$). El $HOCl$, que es la principal especie oxidativa de las lejías cloradas, es también parte de la maquinaria bactericida del macrófago. ⁽⁶⁾

1.2.1. Especies reactivas del nitrógeno (RNS)

Las óxido nítrico sintasas (NOS) catalizan la producción del radical libre, óxido nítrico ($NO\bullet$) a partir del aminoácido l-arginina. Hay 3 isoformas de NOS: nNOS en el tejido neuronal, en donde el $NO\bullet$ ejerce una función neurotransmisora; iNOS en el sistema inmunitario, en donde participa en la regulación de la respuesta inmunitaria, y eNOS en las

células endoteliales, en donde el $\text{NO}\bullet$, conocido como factor de relajación derivado del endotelio (EDRF), interviene en la regulación del tono vascular. ^(6, 24)

En una reacción secundaria, reacciona con el $\text{O}_2\bullet$ para formar el potente oxidante, peroxinitrito (ONOO^-), especie reactiva del nitrógeno (RNS) que posee muchas de las potentes propiedades oxidantes del $\text{OH}\bullet$, pero que tiene una vida media biológica más prolongada. El ONOO^- también es un potente agente nitrante; existen indicios de que el ONOOH se degrada, en parte por fragmentación homolítica, para producir 2 especies reactivas, el $\text{OH}\bullet$ y el $\text{NO}_2\bullet$. Se cree que la producción simultánea de $\text{NO}\bullet$ y $\text{O}_2\bullet$, con el consiguiente incremento en el ONOO^- y el descenso en el $\text{NO}\bullet$, limita la vasodilatación y causa inflamación de la pared vascular durante la lesión de isquemia-reperusión, provocando enfermedad vascular. El $\text{NO}_2\bullet$, otra RNS con potente actividad oxidante y nitrante, se forma a partir de la oxidación del $\text{NO}\bullet$ por el H_2O_2 catalizada por la peroxidasa de los eosinófilos o la mieloperoxidasa. ^(6, 24)

1.2.2. Disfunción endotelial y estrés oxidativo

La generación de radicales libres del oxígeno, así como la activación de vías transcripcionales sensibles a oxidantes se ha propuesto como el mecanismo fisiopatológico común en el desarrollo de numerosas e importantes enfermedades vasculares.

Se considera que existe disfunción endotelial, cuando se producen trastornos en las funciones constitutivas del endotelio vascular. El funcionamiento de la célula endotelial determina el control adecuado del tono vascular y del flujo sanguíneo local y sistémico. Por lo que la disfunción del endotelio vascular participa, de manera importante, en la génesis y desarrollo de las condiciones anormales en el funcionamiento del sistema cardiovascular. ⁽¹⁹⁾

El daño oxidativo constituye un factor de importancia en la fisiopatología de la aterosclerosis y contribuye al proceso del envejecimiento. En situaciones de estrés oxidativo aumentado (hipercolesterolemia, tabaquismo, infección e inflamación agudas o crónicas, entre otras) se activan genes que responden a condiciones oxidativas y se sintetizan factores de crecimiento, citosinas y moléculas de adhesión que aumentan la interacción entre las

células endoteliales y los leucocitos, estimulan el crecimiento de las células musculares lisas vasculares y participan en procesos de inflamación vascular y su remodelamiento. ⁽¹⁹⁾

La cantidad de ERO aumenta significativamente en el proceso de isquemia/reperfusión, proceso en el que participa activamente la enzima xantina oxidasa con la generación del radical superóxido ($O_2\bullet$). Otro evento de importancia en la reperfusión es el influjo de neutrófilos, que son secuestrados rápidamente en los pequeños vasos del órgano pos-isquémico, mediante la expresión de moléculas de adhesión en la célula endotelial y los leucocitos. Estos últimos también contribuyen al daño mediante la liberación de oxidantes, proteasas y elastasa, por la activación de fosfolipasas y la liberación del factor activador de plaquetas (PAF) y de los leucotrienos. Una fuente importante de oxidantes es la reacción de Fenton con la participación del hierro liberado debido a la lisis de los eritrocitos y de las células parenquimatosas necróticas. ⁽¹⁹⁾

La localización del endotelio, en contacto directo con el flujo sanguíneo, hace que se convierta en blanco potencial de los oxidantes producidos por la propia célula endotelial y los leucocitos polimorfonucleares, que se acumulan durante el proceso inflamatorio. Aún en condiciones basales la célula endotelial produce y libera cantidades significativas de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Durante situaciones anormales niveles los de esta ERO aumentan y contribuyen al daño de la célula por su acción, sobre estructuras celulares y por la generación del radical hidroxilo ($\bullet OH$), después de su transformación en presencia de metales de transición, el cual puede dañar directamente las proteínas, al DNA y los lípidos de la membrana, lo cual conduce a la muerte celular. ⁽¹⁹⁾

1.2.3. Las especies reactivas de oxígeno y la muerte celular por apoptosis en el endotelio

Después del proceso infeccioso-inflamatorio se produce una disfunción endotelial transitoria con desbalance en la producción de sustancias vasopresoras/vasodilatadoras que puede ocasionar vasoespasmo y trombosis. Puesto que el estrés oxidativo ocasiona la pérdida de la capacidad de síntesis de la prostaciclina, que es una sustancia vasodilatadora, inhibidora de la agregación y adherencia plaquetarias, así como un agente citoprotector regulador de la actividad de ésteres de colesterol hidrolasa e inhibidor de la proliferación de la célula muscular lisa. ⁽¹⁹⁾

Por otro lado, el efecto citotóxico de las LDL oxidadas (LDLox) sobre las células endoteliales está involucrado en el proceso de aterogénesis. Se reporta que bajas concentraciones de LDLox son potentes inductores de apoptosis en la célula endotelial. Estos efectos citotóxicos explican, en parte, los cambios morfológicos de las células endoteliales y la pérdida de su alineamiento observada en la superficie de las lesiones ateroscleróticas. Estas alteraciones se asocian con un aumento de la adhesión plaquetaria, la deposición de fibrina y la formación de microtrombos; así como los trastornos en el tono vascular, procesos que producen alteraciones vasculares locales y eventos trombóticos. Durante estos procesos aumentan los niveles de los productos de la peroxidación lipídica y los isoprostanos. ⁽¹⁹⁾

El poder controlar a los factores que conducen al estrés oxidativo, así como la administración de agentes protectores del endotelio vascular reducen, el riesgo de padecimiento de enfermedades cardiovasculares. Se considera que las vitaminas E, C y A, y la CoQ10 son antioxidantes y tienen efecto como protectores endoteliales reduciendo la morbilidad y mortalidad por enfermedades coronarias. Los antioxidantes limitan la progresión de las lesiones ateroscleróticas y mejoran la producción y la acción del NO•. Además, la vitamina E regula la expresión de moléculas de adhesión e inhibe la función plaquetaria. ⁽¹⁹⁾

1.2.4. Angiotensina II y estrés oxidativo

La Angiotensina II aumenta el riesgo cardiovascular en parte estimulando la producción de oxidante. La hipertensión asociada a infusión crónica de Angiotensina está asociada al aumento regulado de la subunidad p22phox del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) vascular, uno de los componentes de la enzima oxidativa NADPH oxidasa. La activación de la NADPH oxidasa dependiente del receptor de angiotensina II se asocia a un mayor nivel de formación del oxidante anión superóxido (O_2^-), que reacciona fácilmente con el NO para formar el oxidante peroxinitrito ($ONOO^-$). La consiguiente reducción de la bioactividad del NO puede constituir un mecanismo adicional que explique la mayor respuesta vasoconstrictora a la Angiotensina II en la hipertensión. La NADPH oxidasa también puede desempeñar una función importante en la respuesta hipertrófica a la Ang II, ya que la transfección estable de las CMLV con la hebra no codificante del p22phox inhibe

la síntesis de proteínas estimulada por Ang II. Otras respuestas vasculotóxicas a la Ang II que son desencadenadas por la activación de la NADPH oxidasa son la oxidación del colesterol de lipoproteínas de baja densidad y el incremento de la expresión del ARNm para la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) y la molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1), asociando de este modo la activación del SRAA al desarrollo de aterosclerosis. (7)

Los IECA y los ARA limitan las reacciones oxidativas en la vasculatura bloqueando la activación de la NADPH oxidasa. Estos hallazgos han servido de base para formular la hipótesis según la cual los IECA y los ARA pueden tener efectos vasoprotectores de importancia clínica, más allá la disminución de PA. Tal hipótesis se ha visto refrendada por diversos estudios clínicos aleatorizados importantes. (7)

1.2.5. Defensas antioxidantes

Los iones metálicos que pasan por reacción no enzimática para formar radicales de oxígeno normalmente no se encuentran libres en solución, sino que están unidos a las proteínas para las cuales proporcionan el grupo prostético, o a proteínas de transporte y almacenamiento específicas, de manera que son no reactivos. El hierro está unido a la transferrina, ferritina y hemosiderina, el cobre a la ceruloplasmina, y otros iones metálicos están unidos a metalotioneína. Esta unión a proteínas de transporte que son demasiado grandes como para que se filtren en los riñones también evita la pérdida de iones metálicos en la orina.

El superóxido se produce de modo accidental, y como las especies de oxígeno reactivas requeridas para diversas reacciones catalizadas por enzima. Una familia de superóxido dismutasas cataliza la reacción entre superóxido y protones para dar oxígeno y peróxido de hidrógeno: $O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$. El peróxido de hidrógeno a continuación es eliminado por la catalasa y por diversas peroxidasas: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$; casi todas las enzimas que producen y requieren superóxido están en los peroxisomas, junto con la superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasas. (25)

Los peróxidos que se forman por daño por radical de lipoides en membranas y lipoproteínas plasmáticas son reducidos hacia ácidos grasos hidroxilados por la glutatión

peroxidasa, una enzima dependiente de selenio (de ahí la importancia de la ingestión adecuada de selenio para maximizar la actividad antioxidante), y el glutatión oxidado es reducido por la glutatión reductasa dependiente de NADPH. Los peróxidos de lípidos también se reducen hacia ácidos grasos mediante reacción con vitamina E, lo que forma el radical tocoferoxilo relativamente estable, el cual persiste suficiente tiempo como para pasar por reducción de regreso hacia tocoferol por medio de reacción con vitamina C en la superficie de la célula o la lipoproteína. El radical monodehidroascorbato luego pasa por reducción enzimática de regreso hacia ascorbato o una reacción no enzimática de 2 mol de monodehidroascorbato para dar 1 mol, cada uno, de ascorbato y dehidroascorbato. (25)

El ascorbato, el ácido úrico y diversos polifenoles derivados de alimentos de origen vegetal actúan como antioxidantes hidrosolubles que atrapan radical, lo que forma radicales relativamente estables que persisten suficiente tiempo como para pasar por reacción hacia productos no radicales. De manera similar, la ubiquinona y los carotenos actúan como antioxidantes liposolubles que atrapan radical en membranas y lipoproteínas plasmáticas. (25)

1.3. FARMACOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

1.3.1. Clasificación de los fármacos antihipertensivos:

1.3.1.1. Fármacos diuréticos:

Diuréticos tiazídicos: hidroclorotiazida, clortalidona, indapamida.

Diuréticos de máxima eficacia: furosemida

Diuréticos ahorradores de potasio: espironolactona, amilorida, triamterene

Por muchos años se conoció que restringir el consumo de sodio reduce la presión arterial en pacientes hipertensos. Con la introducción de los diuréticos, se pensó que la restricción de sodio era menos importante. Sin embargo, ahora es un concepto general que el control dietético de la presión arterial es un terapéutica relativamente no tóxica e inclusive puede ser una medida preventiva. (14)

1.3.1.1.1. Mecanismo de acción

La acción común de estos compuestos es la acción diurética, que hace perder sodio (natriuresis) y consecuentemente desciende el volumen plasmático, el volumen cardiaco, la resistencia periférica, trayendo como resultado global la bajada de la presión arterial. Los efectos hipotensores de las tiacidas aparecen a dosis bajas, las cuales producen un ligero efecto natriurético, y cuando se utilizan dosis altas se genera una diuresis excesiva seguida de importantes alteraciones metabólicas como hipopotasemia, hiperuricemia, hiperlipoproteinemia e hiperglucemia. Su efectividad es mayor en sujetos de raza negra y su especial capacidad de disminuir la presión sistólica frente al resto de agente antihipertensivos. ⁽¹⁴⁾

1.3.1.1.2. Indicaciones

Los diuréticos son eficaces para reducir la presión arterial 10 a 15mmHg en la mayoría de pacientes, y los diuréticos solos con frecuencia constituyen un tratamiento para la hipertensión esencial leve a moderada. En la hipertensión más grave, los diuréticos se utilizan combinados con simpaticolíticos y vasodilatadores para controlar la tendencia a la retención de sodio por estos agentes. ⁽⁴⁾

Los diuréticos de máxima eficacia son poco útiles en el tratamiento de la HTA por su efecto de corta duración, sin embargo están indicados en hipertensos con insuficiencia renal. Los diuréticos ahorradores de potasio se asocian a las tiacidas para prevenir la kaliuresis (eliminación de potasio) del tratamiento crónico y así potenciar el efecto antihipertensivo. La espironolactona a diferencia de las tiacidas no eleva las lipoproteínas del plasma, si bien eleva las HDL (fracción menos dañina). ⁽⁴⁾

1.3.1.1.3. Toxicidad

En el tratamiento de la hipertensión, el efecto adverso más común de los diuréticos (excepto en el caso de los diuréticos ahorradores de potasio) es la disminución de potasio. A pesar de que los grados leves de hipopotasemia son bien tolerados por muchos pacientes, está puede ser peligrosa en personas que ingieren digitálicos, y que padecen algunas cardiopatías (como arritmias o infarto agudo de miocardio) ⁽¹⁴⁾

Además pueden provocar hiperuricemia (no dar en casos de gota ya que aumentan los niveles de ácido úrico) e hiperglucemia. Las tiacidas pasan a través de la barrera placentaria, pudiendo originar depleción transitoria de volumen en el feto de la madre que tomó diuréticos durante el embarazo. Estos compuestos aparecen en la leche materna, por lo cual se desaconseja su uso en las madres que amamantan. ⁽¹⁴⁾

1.3.1.2. Fármacos simpaticolíticos:

Agentes de acción central: metildopa, clonidina

Agentes beta-bloqueantes: atenolol, propanolol.

Agentes alfa-bloqueantes: terazosín, doxazosín

En pacientes con hipertensión moderada a grave, la mayor parte de regímenes terapéuticos efectivos incluyen un agente que inhibe el funcionamiento del sistema nervioso simpático. ⁽¹⁷⁾

1.3.1.2.1. Agentes de acción central

Son utilizados debido, a que es bien conocido que el sistema nervioso central y en particular estructuras del tronco cerebral, desempeñan un papel importante en la regulación de la circulación periférica. Por esta razón es fácil suponer que algunos fármacos puedan interferir en la regulación de la presión arterial, actuando a nivel del sistema nervioso central. ^(14, 18)

1.3.1.2.2. Beta-bloqueantes

Su mecanismo íntimo de antihipertensión no está completamente aclarado, aunque parece contribuir a ello: su efecto inotrópico y cronotrópico negativo con disminución del gasto cardíaco y la inhibición de la liberación de renina por parte del riñón. Los beta bloqueantes están indicados en HTA que tienen un marcado componente de ansiedad y estrés, en general responden mejor pacientes jóvenes. ⁽¹⁴⁾

Como se mencionó el principal inconveniente de estos agentes es que provocan broncoespasmo e insuficiencia cardíaca (como consecuencia de ello fatiga y bradicardia),

además hipotensión, insomnio, disfunción sexual. En tratamientos prolongados, se ha demostrado alteraciones de los lípidos plasmáticos, consistentes en un aumento de los triglicéridos y una disminución del colesterol HDL. ⁽¹⁴⁾

1.3.1.2.3. Alfa-bloqueantes

Que se emplean en el tratamiento de la HTA actúan bloqueando selectivamente y de forma reversible los receptores α_1 postsinápticos dando lugar a una vasodilatación arterial y venosa sin aumentar la frecuencia cardiaca. Están indicados en el tratamiento de la HTA ligera a moderada. A diferencia de los beta-bloqueantes y diuréticos, no solo tienen efectos negativos sobre el perfil lipídico de los pacientes sino que actúan favorablemente induciendo aumentos del HDL colesterol y disminución del colesterol total y LDL colesterol. Potencian el efecto hipotensor de otros fármacos antihipertensivos y en este sentido puede ser útil su asociación con diuréticos en el tratamiento de formas graves de HTA. Estos fármacos además se utilizan en la terapéutica de la Hiperplasia Benigna de próstata y presentan los siguientes efectos adversos. ^(17, 18)

1.3.1.3. Fármacos vasodilatadores directos

Arteriales: minoxidil

Arteriales y venosos: nitroprusiato de sodio

Estos fármacos actúan directamente sobre las células del músculo liso vascular, sin interferir mecanismos relacionados con el sistema simpático o el sistema renina-angiotensina. Su uso clínico ha quedado limitado, para la mayoría de ellos a situaciones concretas. Su acción es provocar un efecto vasodilatador por disminución de las resistencias periféricas, con lo cual desciende tanto la presión sistólica como la diastólica, provocan además retención hídrica. El minoxidil se administra solo por vía oral, mientras que el nitroprusiato de sodio por vía Endovenosa, siendo su efecto inmediato por lo que es utilizado en emergencias. ⁽¹⁸⁾

El minoxidil tiene como inconvenientes la generación de edemas y la hipertriosis, presumiblemente producida por incremento del flujo sanguíneo cutáneo, afecta a cara, espalda, brazos y piernas siendo especialmente molesto para la mujer. Sin embargo, este efecto secundario tiene su utilidad clínica en determinadas alopecias aplicado tópicamente. (18)

1.3.1.4. Fármacos bloqueantes de los canales de calcio

- Derivados de la fenilalquilamina: verapamilo
- Derivados de benzodiazepina: diltiazem
- Dihidripiridinas: nifedipino, nimodipino, nicardipino, felodipino y amlodipino.

Estos agentes inhiben el flujo de iones calcio a través de la membrana celular e interfieren con la función de dichos iones en el proceso electromecánico de excitación-contracción que se produce a nivel vascular. Como consecuencia de ello aparece el efecto vasodilatador e inotrópico negativo, si bien nifedipino y nicardipino presentan una acción preferentemente vascular, verapamilo y diltiazem cardíaca. Esto justifica que estos últimos no provoquen taquicardia refleja, y los de acción vascular producen ligera taquicardia. a diferencia de los vasodilatadores directos no producen retención hídrica (edemas). Están indicados en el tratamiento de la HTA ligera o moderada. (14)

1.3.1.5. Fármacos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

El sistema renina-angiotensina constituye parte de los mecanismos homeostáticos que controlan la presión sanguínea y la composición electrolítica de los líquidos orgánicos. Así una estimulación de este sistema produce un incremento en el volumen plasmático y una excesiva retención de sodio. A partir de estas observaciones se intuyó que los fármacos que son capaces de inhibir el sistema renina angiotensina son útiles en el tratamiento de la HTA. La angiotensina II es un vasoconstrictor potente y es sintetizada a partir de la angiotensina I (forma inactiva) gracias a la acción de la Enzima convertidora de angiotensina (ECA) que es una dipeptidil carboxipeptidasa poco específica, la angiotensina I es a su vez elaborada a

partir del angiotensinógeno secretado por el hígado gracias a la acción de la renina secretada por los riñones. ⁽¹⁸⁾

En el individuo normal, los niveles de sodio son determinantes para definir la respuesta de este sistema, cuya función principal es mantener las cifras tensionales dentro de la normalidad, así como regular el equilibrio hidroelectrolítico y el volumen plasmático. ⁽¹⁸⁾

1.3.1.5.1. Farmacocinética

El Enalapril es un dipéptido al igual que el enalapril, pero este último es un profármaco que se activa por esterólisis hepática a enalaprilato. Las ventajas que aporta el enalapril son: mayor potencia y duración de acción, y menor incidencia de algunos efectos adversos. El lisinopril no requiere biotransformación en el organismo y tiene mayor duración de acción que el enalapril, pero su absorción oral es lenta e incompleta. En conclusión todos los I-ECA son profármacos salvo el Enalapril y el lisinopril. Todos los medicamentos listados se eliminan por vía renal. ⁽¹⁷⁾

1.3.1.5.2. Mecanismo de acción

Producen la inhibición directa de la ECA tanto tisular como circulante, esta enzima es la responsable de la conversión de Angiotensina I (un decapeptido) a angiotensina II (un octapeptido) y, como resultado se bloquea la cascada del sistema renina-angiotensina-aldosterona. Esta acción la ejercen al interactuar con el átomo de zinc que contiene la ECA en su centro activo y que es el lugar de unión de la angiotensina I. Los I-ECA no impiden las acciones de la Angiotensina II ya formada. Recordemos que la ECA es una enzima poco específica y también actúa activando la Quinasa II, entonces al inhibirse a la ECA, también se producirán efectos farmacológicos debido a la interacción con estos péptidos. ^(14, 17)

1.3.1.5.3. Indicaciones

Estos fármacos disminuyen la presión arterial de forma moderada, producen vasodilatación sistémica (disminuyen la presión arterial sistólica y diastólica). Están indicados en hipertensos, especialmente en la hipertensión asociada a asma, diabetes,

depresión, gota, hiperlipidemia, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca, nefropatías (ya que son renoprotectores), y HTA severa resistente a otros tratamientos.

No existen diferencias significativas entre ellos en cuanto a su eficacia clínica, si bien existen diferencias de tipo farmacocinético y de duración del efecto hipotensor. No debe asociarse a diuréticos ahorradores de potasio puesto que pueden dar lugar a niveles elevados de hiperpotasemia. Se absorben bien por vía oral. ^(14, 17)

1.3.1.5.4. RAMS

Destaca la tos no productiva, que no es grave pero puede resultar molesta y a veces obliga a cambiar de tratamiento. también suele producirse hipotensión lo que obliga iniciar el tratamiento a dosis bajas, rash cutáneo, hiperkalemia y fiebre. ^(14, 17)

1.3.1.6. Fármacos antagonistas de los receptores de angiotensina II

Estos fármacos son bloqueantes selectivos y competitivos de los receptores de la angiotensina II en los lugares donde esta ejerce su efecto (células diana), y a diferencia de los I-ECA son fármacos no peptídicos, lo que da una biodisponibilidad aceptable y de una duración de acción mantenida. ^(14, 17)

1.3.1.6.1. Mecanismo de acción

Existen dos subtipos de receptores para angiotensina II denominados AT1 y AT2. Estos fármacos ocupan el receptor AT1, tal con ello disminuyen la afinidad del agonista (angiotensina II). ^(14, 17)

1.3.1.6.2. Acción farmacológica

Los ARA II reducen la presión arterial a valores normales en aproximadamente la mitad de los pacientes; su efecto se ve potenciado por los diuréticos. La acción hipotensora se inicia más gradualmente que en el caso de los I-ECA, quizá porque no tiene efecto sobre

la bradiquinina; de hecho, puede tardar un par de semanas en alcanzar su efecto máximo. ^(14, 17)

1.3.1.6.3. RAMS

A diferencia de los IECA no producen tos ni angioedema, por lo que reemplazan a estos cuando aparecen dichas reacciones adversas. ^(14, 17)

1.4. ENALAPRIL

Es un derivado de los aminoácidos L-alanina y L-prolina. ⁽⁴⁾

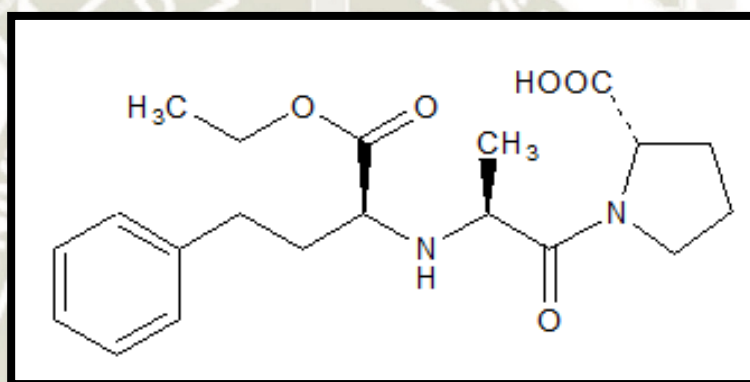


Figura N° 1. Estructura Química de Enalapril

IUPAC ácido-1-etoxi-1-oxo-4-fenilbutano-il-amino-propano-il-pirrolidina-2-carboxílico

1.4.1. Farmacodinamia

Evita la conversión de angiotensina I en angiotensina II, reduce la resistencia periférica y baja la presión arterial. ⁽⁴⁾

1.4.2. Farmacocinética

El maleato de enalaprilato, el segundo inhibidor de la ACE aprobado en Estados Unidos, es un profármaco que sufre hidrólisis por esterasas en hígado para producir el ácido dicarboxílico original activo, enalaprilato. Aunque también contiene un “sustitutivo prolina. Si bien las concentraciones plasmáticas máximas ocurren antes de una hora, las cifras de

enalaprilato alcanzan un máximo sólo después de 3 a 4 horas. El enalaprilato tiene una semivida de sólo 1.3 horas, pero debido al enlace estrecho con la ACE, tiene semivida plasmática de 11 horas. Casi todo el fármaco se elimina por riñones, sea como enalaprilato intacto o como enalaprilato. ⁽³⁰⁾

1.4.3. Indicaciones.

En todos los grados de hipertensión esencial y en la hipertensión vasculorrenal. Puede emplearse como indicación inicial o asociado con otros agentes antihipertensivos, sobre todo diuréticos. ⁽³⁰⁾

1.4.4. Dosificación

Sólo debe administrarse por vía oral. La dosis usual diaria varía de 10 a 40mg en todas las indicaciones. Se puede administrar 1 o 2 veces al día. La dosis máxima es de 80mg/día. Cuando existiere insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca congestiva o el paciente estuviere recibiendo tratamiento con diuréticos se deberá empezar con una dosis inicial más baja. hipertensión arterial esencial: dosis inicial: 5mg/día. La dosis de mantenimiento es de 20mg una vez al día, ajustándola según las necesidades de cada paciente. En mayores de 65 años, dosis inicial: 2.5mg. Hipertensión vasculorrenal: dosis inicial de 2.5 a 5mg, para realizar un ajuste posterior según el cuadro clínico del paciente. Quienes estén en tratamiento con diuréticos deben suspenderlo 2 o 3 días antes de comenzar con enalapril; de no ser posible, la dosis inicial debe ser baja (2.5 a 5mg) para determinar el efecto sobre la tensión arterial. insuficiencia cardíaca congestiva: dosis inicial de 2.5 a 5mg y bajo estricto control médico. Dosis usual de mantenimiento: 10 a 20mg diarios en dosis única o dividida. Durante el tratamiento debe controlarse la presión arterial y la tensión renal. ⁽³⁰⁾

1.4.5. Reacciones adversas

La administración del enalapril puede causar náuseas, diarrea, cefalea, vértigo, fatiga, dificultad para dormir y erupción cutánea. En ocasiones el paciente sufre de una tos seca persistente y requiere el cambio por otro antihipertensivo.

1.4.6. Contraindicaciones

Está contraindicado en pacientes que se sabe que son hipersensibles al fármaco y durante el segundo y el tercer trimestre del embarazo debido al riesgo de hipotensión fetal. (17, 18)

1.4.7. Interacciones

Fármaco-fármaco: cuando se administra junto con otros antihipertensivos se produce un efecto aditivo sobre la presión arterial. Los diuréticos tiacídicos aumentan la pérdida de potasio. Los suplementos de potasio o los diuréticos ahorradores de potasio aumentan en riesgo de hiperpotasemia. El enalapril puede producir toxicidad con el litio al reducir su eliminación renal. Los AINE pueden reducir la acción hipotensora de los inhibidores de la ECA.⁽³¹⁾

Pruebas de laboratorio: puede aumentar las concentraciones séricas de: urea, fosfatasa alcalina, potasemia, creatinina sérica, ALT y AST. Puede producir una positividad de los anticuerpos anti-nucleares (ANA).⁽³¹⁾

Herboristería/alimentos: desconocidas.⁽³¹⁾

1.4.8. Tratamiento de sobredosis

El signo más frecuente de la sobredosis es la hipotensión, que se trata con la administración intravenosa de un suero salino normal.⁽³¹⁾



CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. CAMPO DE INVESTIGACIÓN

2.1.1. Ámbito de ejecución

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de Farmacognosía de la Universidad Católica de Santa María, en donde se preparó el material vegetal y el proceso de extracción.

La cromatografía en capa fina y la evaluación de la actividad antioxidante. Se realizó en los laboratorios (H -101 y H -103) de la Universidad Católica de Santa María.

Las mediciones de presión arterial en animales de experimentación se realizaron en los laboratorios de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín.

La revisión de la bibliografía relacionada al problema se obtuvo en las bibliotecas y hemeroteca de la Universidad Católica de Santa María.

2.2. MATERIALES

2.2.1. Material biológico

2.2.1.1. *Capsicum pubescens* R&P

La muestra fue el fruto de *Capsicum pubescens* R&P (**Fig. N°2**) de San Gregorio Provincia de Camaná (Arequipa) que se halla situado a orillas del Océano Pacífico a 15msnm.

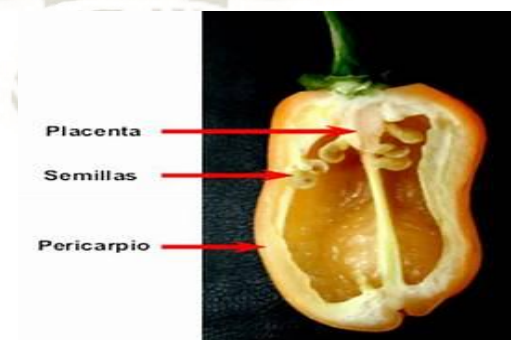


Figura N° 2. . El fruto *Capsicum pubescens* R&P y sus partes

2.2.1.2. Animales de experimentación

El estudio experimental estuvieron constituidas por 18 animales de experimentación de laboratorio pertenecientes a la especie *Rattus rattus* var. *Novergicus*, con pesos variados de entre 200 a 268 gramos y una edad aproximada de tres meses provenientes del Bioterio situado en la Universidad Católica Santa María. Se mantuvieron en un medio ambiente apto y adecuado, con una alineación y agua en proporciones iguales.

2.2.2. Material de laboratorio

2.2.2.1. Material de vidrio

- Baguetas de vidrio.
- Cubas de desarrollo cromatográfico.
- Embudos de vidrio.
- Fiolas de vidrio de 100 y 25 mL.
- Jeringas de tuberculina.
- Lamina de Silica gel 60 F₂₅₄.
- Peras de decantación.
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL.
- Probetas graduadas de vidrio de 50 y 100 mL.
- Tubos de capilares sin heparina DELTA
- Vasos de precipitados o Beaker de 10, 50 y 100 mL.

2.2.2.2. Equipos

- Balanza analítica OHAUS ® PIONEER™
- Cocina eléctrica
- Equipo para medición experimental de presión arterial Biopac Systems.
- Equipo Rotavapor BUCHI
- Estufa para desecación MEMMERT SCHUTZART DIN 40050 – IP20

- Lámpara UV CAMAG UV 254 – 365nm

2.2.2.3.Reactivos

- Acetato de etilo ACS J.T. BAKER ®
- Ácido acético ACS MERCK®
- Ácido fórmico QP LOBA CHEMIE
- Ácido sulfúrico ACS J.T. BAKER ®
- Agua destilada
- Cloruro de aluminio QP REIDEL-DE-HAËN®
- Cloruro férrico ACS MERCK®
- DPPH ACS MERCK ®
- Etanol 96° DIPROQUIM
- Metanol ACS MERCK ®
- Reactivo de Dragendorff (elaboración U.C.S.M)
- Reactivo de Lieberman (elaboración U.C.S.M)
- Trolox ACS MERCK®
- Tolueno ACS MERCK®
- Vainillina (UCSM)

2.2.2.4. Sustancias con actividad biológica

- L-NAME ACS MERK ®
- Enalapril 10 mg FARMAINDUSTRIA

2.2.2.5. Otros equipos y materiales

- Barbijo

- Computadora personal
- Espátulas de acero
- Licuadora doméstica
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Pinzas metálicas
- Placas de sílica gel
- Sonda orogástrica
- Soporte universal
- Tamices de acero
- Trípode

2.3.METODOLOGÍAS

2.3.1. Pre-tratamiento del material vegetal

2.3.1.1.Recolección

La recolección de los frutos de *Capsicum pubescens* R&P (**Fig. N°3**), se realizó en la Localidad de San Gregorio Provincia de Camaná Departamento de Arequipa.



Figura N° 3. Fruto *Capsicum Pubescens* R&P

2.3.1.2. Selección

Se seleccionaron solo los ejemplares sanos y saludables, que por su apariencia no se encontraban en mal estado o no presentaban material extraño, luego de ello se procedió a cortar el fruto en dos mitades para retirar las semillas y quedarnos solo con el pericarpio, el cual fue cortado con la ayuda de un cuchillo en rodajas.

2.3.1.3. Estabilización

Las rodajas de los frutos de *Capsicum pubescens* R&P fueron colocadas sobre papel kraft y estos sobre las bandejas de aluminio de la estufa y estabilizadas en calor a 90° por 4 min.

2.3.1.4. Desecación

Luego de la estabilización se cambió de papel kraft y se colocaron las rodajas de los frutos de *Capsicum pubescens* R&P otra vez sobre las bandejas y se desecó en la estufa a una temperatura aproximada de 40°C durante 4 horas y media.

2.3.1.5. Trituración

Los frutos de *Capsicum pubescens* R&P fueron triturados mediante el método de trituración mecánica mediante cizallas, pero utilizando una licuadora este método se eligió ya que permite la obtención de un polvo fino.

2.3.2. Obtención de los extractos

2.3.2.1. Extracción por el método de percolación del pericarpio del *Capsicum pubescens* R&P

Para la obtención del extracto etanólico del fruto de *Capsicum pubescens* R&P se utilizó como método, la percolación.

Es un procedimiento que se realiza a temperatura ambiente y se trata de un proceso de paso, si bien existe una maceración anticipada, el disolvente se restaura de forma continúa y debido a ello mantiene la gradiente de concentración lo más elevado posible, el disolvente se despliega de arriba hacia abajo a través del extracto seco, el disolvente desplaza al que

contiene la sustancia extraída sin ser necesario aplicar presión. La percolación puede llegar a conseguir extracciones prácticamente completas del extracto seco pero con un elevado consumo de disolvente.



Figura N° 4. Extracción etanólica del pericarpio *Capsicum pubescens* R&P .

El procedimiento para desarrollar el método de percolación en primer lugar se dispuso de una pera de decantación que consistió en pesar 14g. La cantidad del material vegetal, posteriormente se humectó con un poco de disolvente, antes de colocar la droga en el percolador habilitado, se colocó una torunda de algodón en el pico de la pera.

Se introdujo el material vegetal en el percolador (**Fig. N°4**) apretando suavemente con la ayuda de una varilla, luego se colocó en el soporte universal, en la parte superior, se colocó al 280mL de etanol 96°. Luego se dejó caer el disolvente y se esperó a que gotee del percolador.

Luego de agotar el extracto, se reunió los líquidos percolados en un vaso precipitados de peso conocido y se procedió con la concentración para lograr un extracto seco.

2.3.2.2. Determinación de rendimiento

Para la determinación del porcentaje de rendimiento se obtuvo por el método gravimétrico, se fundamenta en la obtención del extracto de pericarpio del *Capsicum pubescens* R&P, se llevó a una temperatura adecuada con la finalidad de evaporar el disolvente quedando suspendido el extracto blando para obtener un peso constante. Finalmente, se aplicó la **Ecuación (1)** para hallar el RE% del extracto.

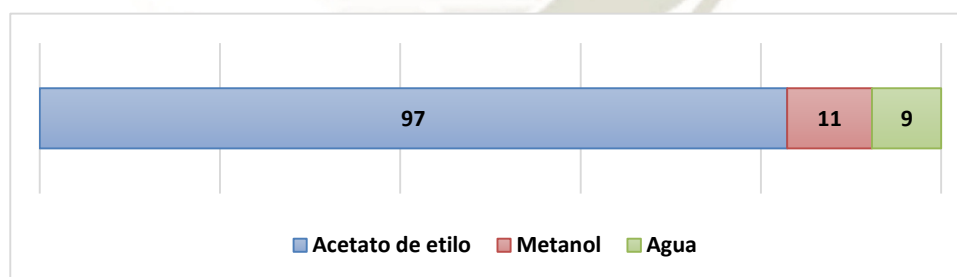
$$\%RE = \frac{\text{Peso del extracto seco}}{\text{Peso de la planta seca}} \times 100 \quad \text{Ecuación (1)}$$

2.3.3. Análisis fitoquímico preliminar

El análisis fitoquímico llevado a cabo a los frutos de *Capsicum pubescens* R&P, fue de orden preliminar, y se realizó mediante el método de cromatografía en capa fina, a continuación se describe este análisis de tipo cualitativo.

2.3.3.1. Análisis general

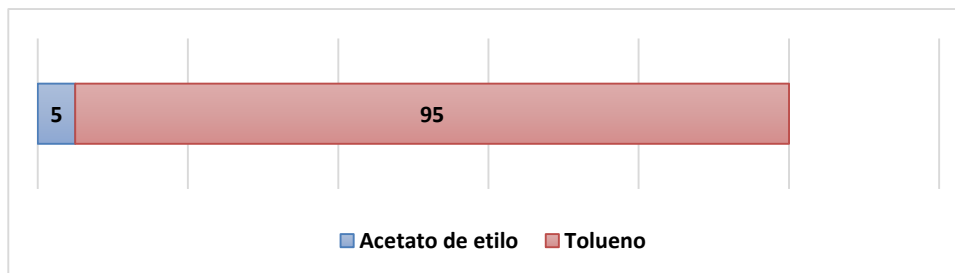
El análisis general permite detectar en caso de coloración marrón sustancias tipo sesquiterpenlactonas, morado, verde o azul para terpenos, amarillo en el caso de flavonoides. Las fases móviles así como sus proporciones fueron las siguientes:



Como revelador se utilizó el reactivo vainillina – ácido sulfúrico. Inmediatamente después del secado de la placa. Se procedió pulverizando con el reactivo revelador y se observó bajo luz UV a 254 nm.

2.3.3.2. Análisis de terpenos

El análisis de terpenos permite detectar en caso de coloración verde triterpenos y esteroides, para esteroles colores purpura rojizo a azul verdoso, y en caso de saponinas color rosa o rojo oscuro. Las fases móviles así como sus proporciones fueron las siguientes:



Como revelador se utilizó el reactivo Liebermann Burchard. Inmediatamente después del secado de la placa. Se procedió pulverizando con el reactivo revelador y se observó bajo luz UV a 254 nm

2.3.3.3. Análisis de flavonoides

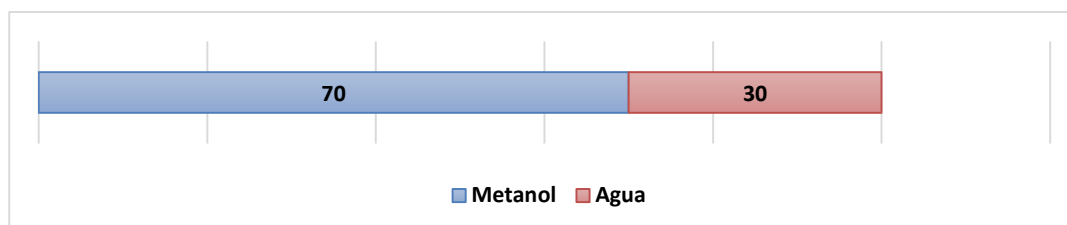
El análisis de flavonoides permite detectar en caso de fluorescencia amarilla de la placa bajo el UV la presencia de este tipo de sustancias. Las fases móviles así como sus proporciones fueron las siguientes:



Como revelador se utilizó el reactivo de cloruro de aluminio en solución alcohólica al 1%. Inmediatamente después del secado de la placa. Se procedió pulverizando con el reactivo revelador y se observó bajo luz UV a 366 nm

2.3.3.4. Análisis de taninos

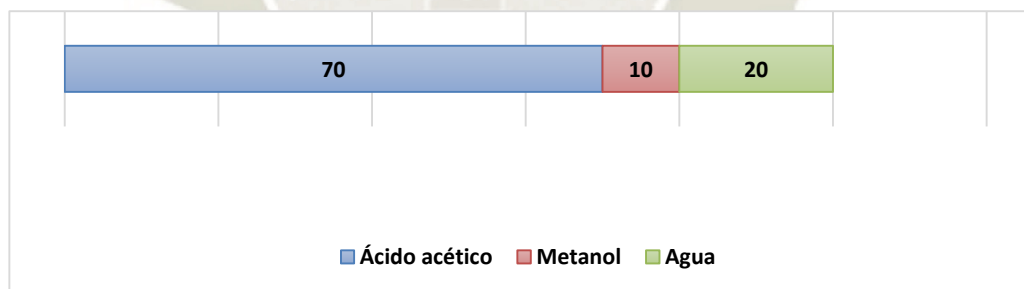
El análisis de taninos permite detectar en caso de coloraciones azules, verdes y marrones en la placa la presencia de flavonoides, fenoles y taninos.



Como revelador se utilizó el reactivo de cloruro férrico en solución alcohólica al 1%. Inmediatamente después del secado de la placa. Se procedió pulverizando con el reactivo revelador y se observó en luz visible.

2.3.3.5. Análisis de alcaloides

El análisis de alcaloides permite detectar en caso de coloraciones rojas a naranjas en fondo amarillo sustancias nitrogenadas heterocíclicas y alcaloides.



Como revelador se utilizó el reactivo de Dragendorff. Inmediatamente después del secado de la placa. Se procedió pulverizando con el reactivo revelador y se observó en luz visible. El R_f se emplea en el análisis cualitativo para la separación de TLC.

$$\%R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por el compuesto}}{\text{Distancia recorrida por la fase móvil}}$$

Ecuación (2)

2.3.4. Evaluación de la actividad antioxidante en el pericarpio del fruto *Capsicum Pubescens* R&P

2.3.4.1. Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH

El método DPPH es representativo de los métodos que emplean radicales en la evaluación de depuradores de radicales; este método ha ganado gran popularidad en la última década debido a su rapidez y sensibilidad. Los efectos de barrido de radicales libres de las fracciones en DPPH se estimaron de acuerdo con el método de Sánchez Moreno con algunas modificaciones. Una alícuota de etanol (0.3mL), solución que contenía diferentes concentraciones simples (se añadieron 2.96mg de DPPH 0.3mM) en etanol preparado recientemente. La mezcla se agitó vigorosamente y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos; la absorbancia de la solución resultante se midió luego espectrofotométricamente de la actividad depuradora de radicales DPPH. La actividad de eliminación de radicales (**Fig. N°5**) de las muestras analizadas, expresada como porcentaje de inhibición DPPH.

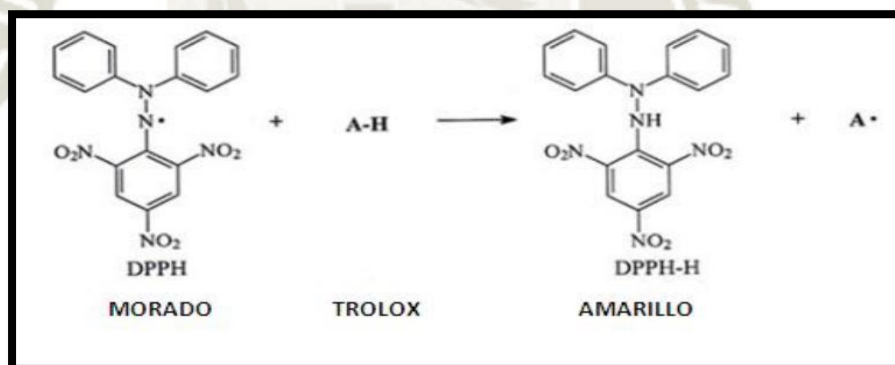


Figura N° 5. Actividad antioxidante del reactivo DPPH equivalente al Trolox

2.3.4.2. Procedimiento en la solución madre de DPPH

Se elaboró una solución madre de DPPH con 2.96mg y se enrasó este reactivo en 25mL de etanol de 96°, para obtener una concentración final de 0.3Mm

2.3.4.3. Procedimiento en la solución madre de Trolox

Se elaboró utilizando como estándar el reactivo de trolox pesando 9.38mg y se colocó en una fiola enrazando con 25mL de etanol obteniéndose una concentración de 375.2ppm.

2.3.4.4. Procedimiento del gráfico de calibración.

Posteriormente se preparó una solución madre del estándar para la curva de calibración. A partir de esta solución se tomaron porciones sucesivas de 1mL para generar 5 diluciones crecientes del estándar conforme al siguiente cuadro de diluciones.

Tabla N° 1
Cuadro de diluciones Trolox para la curva de calibración.

Estándar	Trolox Madre mL	Conc en ppm	Conc en uM	Etanol mL	Vol final mL
Estandar 1	1	15.008	60	24	25
Estandar 2	2	30.016	120	23	25
Estandar 3	3	45.024	180	22	25
Estandar 4	4	60.032	240	21	25
Estandar 5	5	75.04	300	20	25

Luego de tener las cinco fiolas con las diluciones del estándar se procedió a la elaboración de las soluciones de reactivos para la curva de calibración trolox.

Tabla N° 2

Soluciones de reactivos para la curva de calibración.

Reactivos	B	Estándar 1	Estándar 2	Estándar 3	Estándar 4	Estándar 5
Etanol 95% (ml)	3.5	3	3	3	3	3
DPPH 0.3mM (mL)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Trolox (mL)	--	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

Estas soluciones de reactivos se dejaron en reposo por 30 minutos, se envolvieron con papel aluminio para protegerlas de la luz solar (**Fig N°6**), luego de este tiempo se leyeron a 517nm.

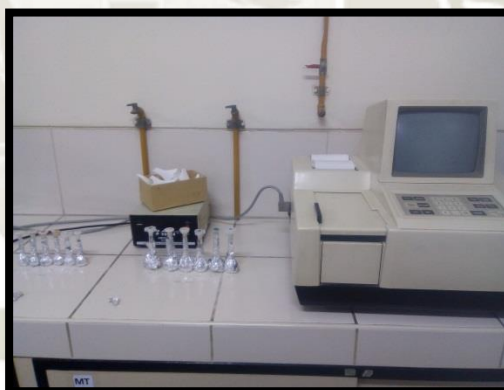


Figura N° 6. Los estándares de DPPH para la curva de calibración.

El porcentaje de inhibición de la muestra se halló reemplazando el reactivo trolox por una solución de la muestra (**tabla N°2**), del mismo modo se protegió con papel aluminio por 30 minutos y luego se leyó a 517nm. El porcentaje de inhibición se halló con la fórmula:

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad \text{Ecuación (3)}$$

2.3.5. Método para la evaluación del efecto antihipertensivo de *capsicum pubescens* R&P

Para la evaluación del efecto antihipertensivo de los frutos de *Capsicum pubescens* R&P se utilizó un método preclínico *in-vivo* mediante un modelo experimental que se utiliza en animales de experimentación de laboratorio. Éste método descrito por Sharifi Ramírez consisten en la administración de N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) como agente hipertensor.

El modelo de hipertensión mediante L-NAME se utiliza ampliamente para estudiar la fisiopatología y la farmacología de la hipertensión arterial. Se ha descrito que la administración de L-NAME produce un aumento de 20 a 40% de la presión arterial sistólica y diastólica en ratas. Además, el L-NAME produce fibrosis cardíaca y nefropatía, características de daño de órgano blanco similares a la hipertensión humana.

L-NAME es un inhibidor irreversible de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) encargada de la producción de óxido nítrico, importante mediador intracelular en células vasculares, riñón, glándulas y sistema nervioso central. El óxido nítrico (NO) es sintetizado a partir de L-arginina por una familia de isoenzimas denominadas óxido nítrico-sintetasas.

La síntesis continúa de óxido nítrico por el endotelio (NO) antagoniza la vasoconstricción fisiológica de los mediadores vasoconstrictores de la pared vascular. La inhibición del óxido nítrico-sintetasas (NOS) disminuye la producción de óxido nítrico (NO) ocasionando vasoconstricción, aumento de la liberación de renina e hipertensión arterial.

2.3.5.1. Método para la medición de la presión arterial

El método utilizado fue mediante medición oscilométrica utilizando el equipo BIOPAC Systems y su respectivo software.

El equipo BIOPAC Systems está constituido por un transductor pequeño, ligero, con una base ranurada y una correa que permite el fácil montaje en la cola del animal (vena coccígea). El amplificador recibe las señales emitidas por el transductor y las registra en el monitor a través del sistema de adquisición de datos, el cual proporciona la funcionalidad de un registrador gráfico y plotter de la memoria.

Para el procedimiento se inicia el Software del equipo en la PC, para ello se da doble click en el icono del escritorio que tenga como nombre BIOPAC.

Se conectó el transductor al amplificador, una luz verde indicó que el instrumento está listo para usarse.

Posteriormente se colocó el transductor en el primer tercio de la cola del animal, se sujetó bien con la ayuda de la correa, y se procede a realizar las mediciones.

Las señales que emitió el transductor proveniente de las oscilaciones de la cola del animal fueron captadas por el amplificador, este mostró los resultados de cada medición en la ventana del programa antes iniciado, se tomaron las siguientes lecturas:

- Presión arterial diastólica
- Presión arterial sistólica.

La presión arterial media (PAM) más bien fue calculada mediante la siguiente fórmula:

$$PAM = \frac{PS+2PD}{3} \quad \text{Ecuación (4)}$$

Donde:

PS= Presión sistólica

PD= Presión diastólica

2.3.5.2. Fase de estandarización y aleatorización de la muestra

Para iniciar con el proceso de evaluación de la actividad antihipertensiva de los frutos de *Capsicum pubescens* R&P. Previamente los animales fueron sometidos a una fase de estandarización con la finalidad de disminuir la variabilidad biológica intra-sujetos, se controlaron los siguientes aspectos:

- Peso corporal
- Dieta
- Ritmo circadiano
- Edad
- Sexo

También se cumplió el requisito experimental importante como es la aleatorización de la muestra para ello se identificó a cada uno de los animales mediante el pintado de su pelaje, luego de ello se realizó un sorteo para la conformación de los grupos experimentales. Una vez conformados se procedió a registrar uno a uno los pesos corporales de cada animal.

2.3.5.3. Vía de administración y dosis

La dosis administrada para la evaluación fue calculada según en relación al peso corporal del animal. Primeramente se conformó los grupos al azar. Una vez medida la dosis se disolvió o suspendió en agua destilada y se administró mediante cánula orogástrica. Para la dosificación se consideró que en los animales de experimentación el volumen máximo permitido para soluciones acuosas es de 2mL/100g de peso corporal.

La determinación de las dosis de 10 mg/kg/peso y de 100 mg/kg/peso como se observa (**tabla N°6**) de peso corporal con fines antihipertensivos, fue de manera arbitraria, y se consideró como indicio un estudio denominado “Efecto del extracto acuoso del fruto de *Capsicum pubescens* R&P sobre úlceras gástricas inducidas en *Rattus rattus* var. *Albinus*”, en este trabajo de investigación se administraron dos dosis de rocoto (*Capsicum pubescens*) de 100 mg/kg/peso y de 1000 mg/kg/peso por vía oral, sin embargo, en dicha investigación se trabajó con un extracto acuoso seco obtenido por maceración, en nuestro estudio se trabajó con un extracto etanólico obtenido mediante percolación hasta agotamiento de la droga, atendiendo a ello y la propia naturaleza purgante del fruto es que se estableció la dosis de 10 mg/kg/peso y de 100 mg/kg/peso, como dos dosis de rangos extremos.

2.3.5.4. Fase de inducción de hipertensión arterial

En primer lugar se midió la presión arterial basal, para ello se midió tres veces en tres días consecutivos y a la misma hora, se consideró la presión basal a la última medición realizada.

Posteriormente se preparó una solución de L-NAME, para ello se pesó 300mg y se disolvieron en un total de 50mL de agua destilada.

Se procedió al cálculo de la dosis por peso corporal de cada animal, y según ello conocer el volumen de solución requerido por dosis.

Se administró L-NAME por vía intragastrica con la ayuda de una sonda, esta solución que contiene al agente hipertensor fue administrada durante 28 días tomando mediciones al 7, 14, 21 y 28avo día. La dosis fue administrada por la tarde a la misma hora, las mediciones fueron tomadas también a la misma hora inmediatamente antes de la administración de la dosis diaria de L-NAME.

Con cada una de las mediciones tomadas en las cuatro oportunidades se procedió a calcular el porcentaje de incremento de presión arterial respecto de la basal mediante la siguiente formula:

$$\%IPA = \frac{PAEx - PABasal}{PAEx} \times 100 \quad \text{Ecuación (5)}$$

Donde:

PAEx= Presión arterial (diastólica, sistólica o media) Experimental.

PABasal= Presión arterial (diastólica, sistólica o media) Basal.

2.3.5.5. Fase post inducción o de tratamiento

La fase de post inducción comenzó luego del día 28 de inducción, esto es el día 29, en esta fase se administró cada una de las dosis de acuerdo al peso corporal, según el grupo al que fue sorteado cada animal. Esta fase duró también 28 días y se realizaron mediciones al 7, 14, 21 y 28avo día, ello con la finalidad de observar el descenso (o ascenso) de los tratamientos a lo largo del tiempo.

Las mediciones en esta fase de post inducción también se realizaron a la misma hora inmediatamente antes de administrar la dosis diaria.

Cada una de las mediciones tomadas en fase de post inducción, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%DPA = \frac{PA28vo - PAEx}{PA28vo} \times 100 \quad \text{Ecuación (6)}$$

Donde:

PA28vo= Presión arterial (diastólica, sistólica o media) en el día 28.

PAEx= Presión arterial (diastólica, sistólica o media) Experimental.

2.3.6. Diseño de la investigación

El diseño utilizado fue el de varios grupos con pre prueba (medición basal de la presión arterial) y post-prueba (medición post inducción con L-NAME) en presencia de grupo control.

- Grupo control negativo: formado por 3 ratas de laboratorio a las que se les administrará 3mL de suero fisiológico post inducción de hipertensión arterial con L-NAME.
- Grupo Experimental 1: formado por 5 ratas de laboratorio a las que se les administrará una dosis de 10mg/Kg/peso de extracto etanólico de frutos de *Capsicum pubescens* R&P, por vía oral post inducción de hipertensión arterial con L-NAME.
- Grupo Experimental 2: formado por 5 ratas de laboratorio a las que se les administrará una dosis de 100mg/Kg/peso de extracto etanólico de frutos de *Capsicum pubescens* R&P, por vía oral post inducción de hipertensión arterial con L-NAME.
- Grupo control Positivo: formado por 5 ratas de laboratorio a las que se les administrará una dosis de 25mg/Kg/peso de enalapril (fármaco antihipertensivo).

2.3.7. Métodos estadísticos

Para el análisis de la información consistente en presión arterial sistólica, diastólica y media, para los cuales se utilizó el Software Microsoft Excel 2016.

Los datos obtenidos por lo que se utilizó las siguientes medidas estadísticas.

$$\bar{x} \pm S^2$$

Asimismo un análisis de varianza de dos vías (ANOVA). Factor grupo y factor momentos de medición. Seguidamente de la prueba de Tukey (comparación entre grupos).

Posteriormente se realizó la prueba de análisis multivariante y prueba de esfericidad que se realizaron para evaluar las diferencias significativas ($p < 0.05$).

Por otro lado en el análisis estadístico se planteó una hipótesis.

$$H_0 = H_1$$

Finalmente donde la hipótesis nula se refiere a que se rechaza esfericidad de Mauchly que indica que no hay comparación entre grupos y se acepta la prueba de multivariante o hipótesis alternativa dando como evidencia que los grupos son diferentes en tanto momento de medición como grupo y se procede a determinar las similitudes o diferencias estadísticas y así concluir al grupo de mayor eficacia.

Asimismo se realizó un análisis global de la evolución del tratamiento entre cada grupo experimental usando también un análisis multivariante y seguidamente la prueba de esfericidad de Mauchly para luego determinar las similitudes o diferencias estadísticas así concluir al grupo de mayor eficacia.



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

Para la obtención del extracto etanólico se utilizó la parte del pericarpio del fruto *Capsicum pubescens* R&P llevándolo a un proceso de desecación, estabilización y pulverización. Luego se obtuvo un polvo de aspecto homogéneo como se observa en la (Fig. N°7) fuertemente pungente y se procedió a pesar la cantidad suficiente para el proceso extractivo.



Figura N° 7. Pesado del extracto seco *Capsicum pubescens* R&P

El método de extracción aplicado fue la percolación para obtener el extracto etanólico.

Se utilizó una pera de decantación y usando como solvente etanol al 96%. El extracto obtenido se fue concentrando mediante el uso del rotavapor (Fig. N°8) Finalmente se colocó el extracto concentrado en un vaso precipitado previamente pesado llevándolo a baño maría y así obtener el extracto blando.



Figura N° 8. Concentración del extracto mediante rotavapor

Por la naturaleza del extracto no se realizó la organoléptica, solo se comprobó el aspecto líquido y el color ámbar oscuro de acuerdo al extracto etanólico.

3.1.1. Rendimiento

Para determinar el rendimiento del extracto etanólico fruto *Capsicum pubescens* R&P. Se realizaron tres ensayos para obtener el peso del extracto blando como se aprecia en la (tabla N°3) luego se aplicó la ecuación N°1 para finalmente tener el porcentaje de rendimiento. El porcentaje de rendimiento del extracto etanólico, que corresponde a los gramos del extracto obtenido por cada 100g de material vegetal. En nuestra investigación tiene como promedio de 1.20g por cada 14g del extracto seco pulverizado y un rendimiento de 8.74% con un coeficiente de variación de 2.26%. En comparación con la investigación realizada por Joaquín Ávalos-Soto del año 2014. Donde se estudió la “Evaluación citotóxica de los extractos etanólicos de *Azadirachta indica* (A. Juss) sobre diferentes líneas celulares”, que trabaja con el mismo solvente de nuestra investigación, encontrándose un rendimiento de la cáscara de neem 4.23% un porcentaje menor al obtenido en nuestra investigación, esto puede deberse a varios factores, pero el más preponderante podría ser a la variabilidad biológica y la diferencia de metabolitos secundarios que se detecta entre las especies.⁴³

Tabla N° 3

Resultados del rendimiento de la percolación del pericarpio del *Capsicum*

Repetición	Droga (g)	Extracto (g)	Rendimiento (%)
Extracción 1	14.01	1.23	8.78
Extracción 2	13.02	1.11	8.53
Extracción 3	13.56	1.21	8.92
		Media	8.74
		Desviación Estándar	0.1976
		Coefficiente de variación	2.26

3.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

El análisis fitoquímico preliminar se realizó mediante cromatografía en capa fina, este ensayo se realizó para el extracto etanólico, ello debido a los procedimientos realizados para su obtención y se procedió a evaluar la presencia de los siguientes grupos de metabolitos secundarios.

3.2.1 Identificación general

La cromatografía de determinación general de acuerdo con las referencias existen diferentes tipos de fases móviles para realizar el análisis, por lo que se decidió utilizar la fase móvil de acetato de etilo: etanol: agua (97:11:7). Una vez realizada la corrida se extendió con el revelador vainillina 1% y ácido sulfúrico al 5%, posteriormente se dejó al secado de la placa cromatográfica. Finalmente fue observado a rayos UV 254nm, se obtuvo manchas de color verde y púrpura como se muestra en la (Fig. N°9) para la determinación general de metabolitos secundarios.

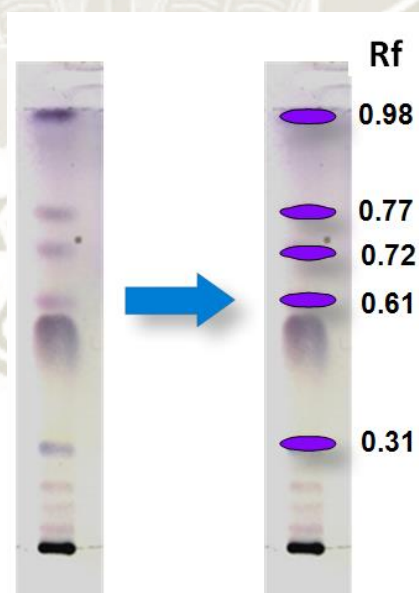


Figura N° 9. Placa cromatografía del extracto etanólico de *Capsicum pubescens* R&P para la identificación general a λ 254 nm

3.2.2 Identificación de terpenos

De acuerdo a la revisión bibliográfica existen diferentes tipos de fases móviles para realizar la identificación de terpenos, por lo que se utilizó acetato de etilo: tolueno (5:95) una vez realizada la corrida se extendió con el revelador Liebermann-Bourchad como se muestra en la (**Fig. N°10**), la placa cromatográfica presenta esteroides que revelan un color rojo con Rf 0.86 y tres zonas que son metabolitos terpenicos con Rf 0.12 a 0.63 observado en una λ de 254nm, en comparación como referencia según Wagner .

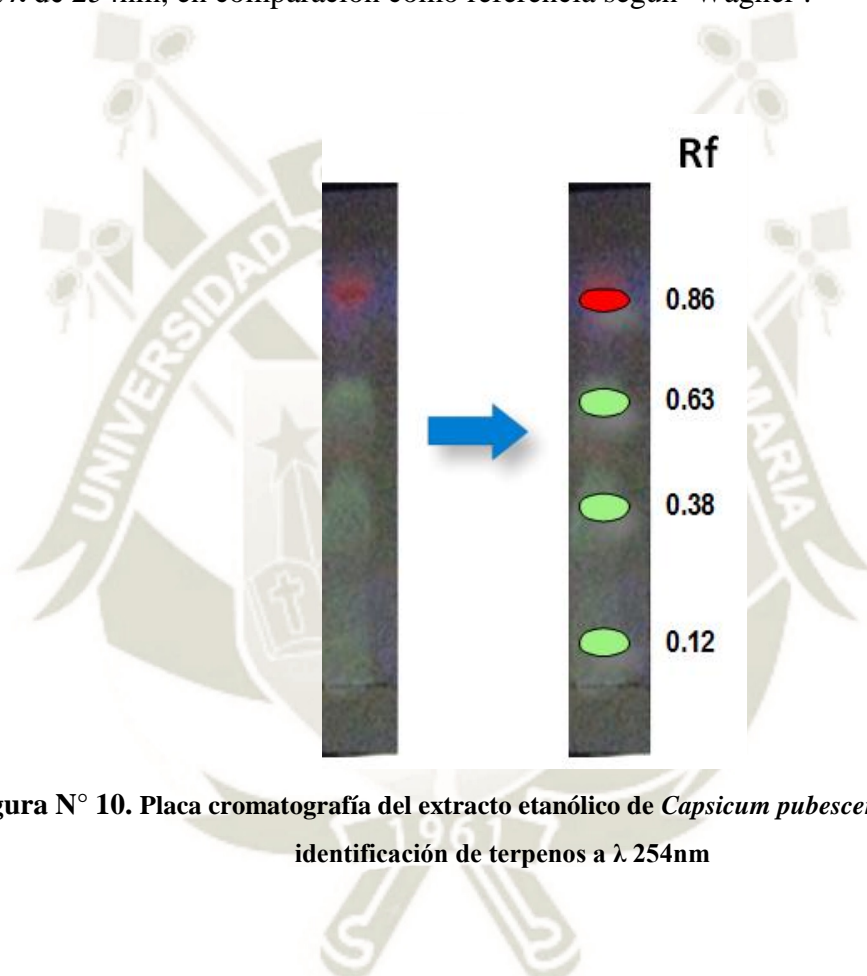


Figura N° 10. Placa cromatografía del extracto etanólico de *Capsicum pubescens* R&P para la identificación de terpenos a λ 254nm

3.2.3 Identificación de flavonoides

En la cromatografía para la determinación de metabolitos secundarios de tipo flavonoides de acuerdo a la referencia bibliográfica existen diferentes fases móviles para su análisis por lo que se realizó con acetato de etilo: ácido acético: ácido fórmico: agua (100: 11: 11: 26). En la (**Fig N°11**) se observa zonas de color verde amarillo por lo que posteriormente se extendió el revelador cloruro de aluminio en solución alcohólica al 1% a una λ de 366nm con Rf desde 0.25 hasta 0.97 como lo señala Wagner.

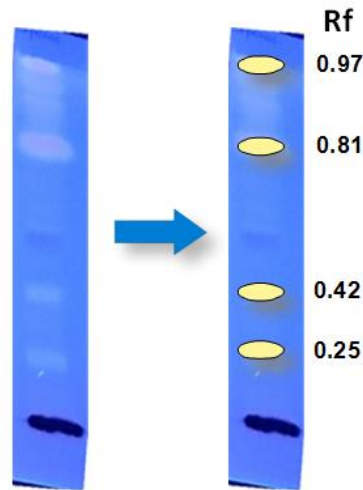


Figura N° 11. Placa cromatográfica del extracto etanólico de *Capsicum pubescens* R&P para la identificación de flavonoides λ 366nm

3.2.4 Identificación alcaloides

Se evidencia en la (Fig. N°12) la presencia de metabolitos secundarios como los alcaloides señalando zonas de color naranja – marrón como resultado de la reacción con el revelador de Dragendorff de la placa cromatográfica del extracto etanólico *Capsicum pubescens* R&P y con Rf 017- 094 y a una λ de 254nm de acuerdo como lo indica Wagner.

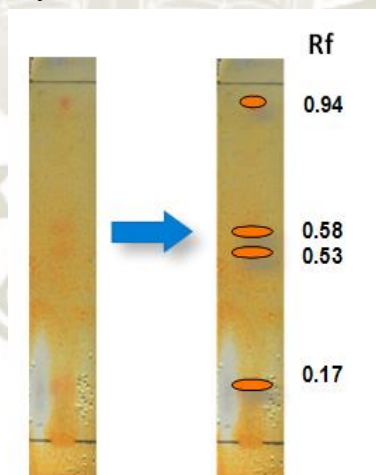


Figura N° 12. Placa cromatográfica del extracto etanólico de *Capsicum pubescens* R&P para la identificación de alcaloides a λ 254nm.

3.3.EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Para evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico *Capsicum pubescens* R&P, se utilizó el método de DPPH que se expresa en el uso de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo de color violeta que cambia a color amarillo de acuerdo a la presencia de la sustancia antioxidante, es medido mediante un espectrofotómetro a longitud de onda 517nm, por lo que se evidencia diferencia de absorbancias y posteriormente se determina el porcentaje de inhibición. Para la determinación de la actividad antioxidante, se preparó una solución madre de Trolox 375ppm y una solución 0,3mM de DPPH las dos fueron preparadas en etanol (**tabla N°4**). Posteriormente para el (**Fig. N°13**) de calibración, se preparó estándares diferentes a concentraciones de 60, 120, 180, 240 y 300uM. La muestra preparada se realizó con pruebas por triplicado y reaccionó con el reactivo DPPH para obtener valores diferentes de absorbancia. Finalmente los resultados del extracto etanólico del fruto *Capsicum pubescens* R&P tiene actividad antioxidante con un porcentaje de inhibición de 51.3%, obteniendo como resultado 33.91µM equivalente de trolox por gramos de pericarpio detectando presencia de compuestos fenólicos en el extracto.

Tabla N° 4
Absorbancias de los estándares Trolox para la curva de calibración

Estándar	Conc. uM	1°	2°	3°	Media	D. E.
Estándar 1	60	1.425	1.423	1.425	1.4243	0.0012
Estándar 2	120	1.337	1.339	1.339	1.3383	0.0012
Estándar 3	180	1.26	1.26	1.261	1.2603	0.0006
Estándar 4	240	1.165	1.164	1.164	1.1643	0.0006
Estándar 5	300	1.083	1.084	1.083	1.0833	0.0006

Todas las repeticiones de los estándares tienen desviaciones aceptables, por lo que se procede a realizar la curva de calibración (**Fig. N°13**) y su respectiva ecuación.

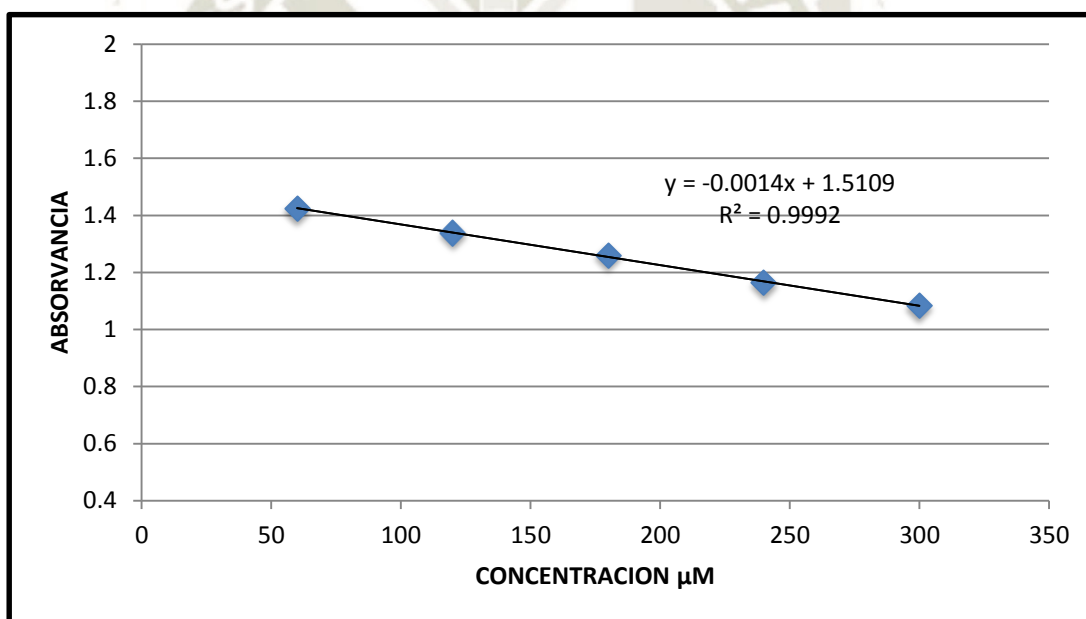
El análisis de regresión muestra un coeficiente de determinación del 0.9992, considerando que su máximo valor es 1, concluimos que el 99.92% de la variabilidad de las absorbancias están relacionadas con las concentraciones del estándar.

Por otro lado el estudio realizado por Sánchez Humala, R (2017) donde estudio la “Actividad antioxidante y marcha fitoquímica de los capítulos de *Tagetes filifolia* Lag. "pacha anís" encontrándose en el extracto alcohol etílico fue el que presentó el mayor porcentaje de captación de radicales libres (91.26%) a una concentración de 100 $\mu\text{g/ml}$ ⁴⁴.

También muestra los coeficientes de la recta de regresión, tenemos que $a = -0.0014$ y $b = 1.5109$, con lo que la ecuación de la recta se define como:

$$y = -0.0014x + 1.5109$$

Figura N° 13.
Curva de calibración



Para determinar los límites de detección y cuantificación en primer lugar se determinó.

$$Y_{bl} = -1.5109$$

El valor del S_{bl} extrapolando en la curva para la desviación estándar de la absorbancia a la concentración 0 es:

$$S_{bl} = -0.001380$$

Límite de detección:

$$LDD = \frac{Y_{bl} + 3S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}}$$

Por lo que:

$$LDD = 474\text{mM}$$

Límite de cuantificación:

$$LDD = \frac{Y_{bl} + 10S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}}$$

Reemplazando:

$$LDQ = 477\text{mM}$$

Con estos límites se procedió a la evaluación de nuestra muestra, para ello el extracto etanólico que se halló en un vaso de precipitados fue disuelto añadiendo 10 ml de etanol. A partir de esta solución madre de la muestra se realizaron diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} .

Según nuestros resultados observamos en la **(tabla N°5)** que muestra la dilución 10^{-2} se encuentra por encima de los límites de detección y cuantificación, por lo que para hallar el porcentaje de inhibición se trabajó solo con esta dilución y sus absorbancias, reemplazando en la fórmula de porcentaje de inhibición, de las tres absorbancias se tiene un promedio de porcentaje de inhibición del 51.3%

Tabla N° 5
Concentraciones halladas mediante la curva de calibración

Fd	Absorbancia			Concentración uM		
	1°	2°	3	1°	2°	3
10^{-2}	0.661	0.659	0.661	595.72	597.13	595.72
10^{-3}	0.879	0.879	0.878	442.92	442.92	443.62
10^{-4}	0.914	0.915	0.916	418.39	417.69	416.99

3.4.EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO

3.4.1. Fase de inducción

En la fase de inducción en primer lugar, y luego de estandarizar a nuestros animales de experimentación, identificarlos y asignarles un número, se procedió a la distribución por grupos experimentales luego se pesó uno a uno, ello con la finalidad de establecer la dosis de L-NAME.

Previamente a la administración del agente hipertensor se tomó la presión arterial basal, se trabajó con la tercera medición, en general no hubo variaciones entre las tres tomas.

Preparada la solución de L-NAME que fue disolviendo 300mg del agente hipertensor en 50mL de agua destilada se procedió a administrar todos los días a la misma hora durante 28 días como se muestra en la (tabla N°6). La dosis general fue de 40 mg/kg de animal.

Tabla N° 6

Dosis de L-NAME según peso corporal para la fase de inducción

N°	Peso (g)	L-NAME		
		Dosis general (mg/kg)	Dosis individual (mg)	Dosis individual (mL)
1	234	40	9.36	1.6
2	259	40	10.36	1.7
3	262	40	10.48	1.7
4	231	40	9.24	1.5
5	248	40	9.92	1.7
6	254	40	10.16	1.7
7	250	40	10	1.7
8	254	40	10.16	1.7
9	262	40	10.48	1.7
10	255	40	10.2	1.7
11	231	40	9.24	1.5
12	235	40	9.4	1.6
13	255	40	10.2	1.7
14	250	40	10	1.7
15	259	40	10.36	1.7
16	263	40	10.52	1.8
17	268	40	10.72	1.8
18	235	40	9.4	1.6

Con las dosis establecidas se procedió a la administración diaria de L-NAME, durante 28 días se tomaron mediciones al 7, 14, 21 y 28avo día como se muestra en la (tabla N°7)

Se obtuvo información relacionada a la presión arterial sistólica y diastólica, con estos valores se calculó la presión arterial media.

Era importante conocer el porcentaje de cambio de la presión arterial respecto de la basal en cada medición realizada (7, 14, 21 y 28), es por ello que se calculó el incremento de la presión arterial (IPA).

$$\%IPA = \frac{PAEx - PABasal}{PAEx} \times 100$$

Donde:

PAEx= Presión arterial (diastólica, sistólica o media) Experimental.

PABasal= Presión arterial (diastólica, sistólica o media) Basal.

Tabla N° 7

Fase inducción, porcentaje de incremento de la presión arterial sistólica: promedios y D.E.

Grupos	N°	Valor	PS7mo	PS14vo	PS21vo	PS28vo
GC Negativo	3	\bar{X} mmHg	149.33	153.00	170.33	184.33
		\bar{X} %	4.45	6.71	16.17	22.59
		D.E. %	1.644	2.958	3.314	1.142
Grupo Experimental 1 (10 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	147.20	153.60	167.60	183.00
		\bar{X} %	5.1	9.11	16.6	23.72
		D.E. %	1.998	0.354	3.369	1.363
Grupo Experimental 2 (100 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	147.40	154.00	165.40	175.80
		\bar{X} %	6.88	10.83	17	21.94
		D.E. %	1.668	2.377	2.016	1.957
GC Positivo (Enalapril)	5	\bar{X} mmHg	144.80	154.20	166.40	177.40
		\bar{X} %	5.65	11.39	17.93	23
		D.E. %	1.768	3.622	1.807	1.256

El tratamiento con L-NAME generó un incremento sustancial sobre la presión arterial, lo cual se logró evidenciar en la primera semana de evaluación. Durante el tiempo del tratamiento no presentaba ningún tipo de reacciones adversas ni se produjeron descensos en los animales.

La presión arterial presenta una regulación multifactorial, participando factores autocrinos, como el óxido nítrico (NO), que regula los procesos hipertensivos en modelos animales; el L-NAME hace evidente el efecto hipertensor (**tabla N°8**) al inhibir la presencia del (NO). Por los resultados se observa que las ratas con inducción de hipertensión posiblemente mostraron una sensibilidad aumentada del control baroreceptor arterial de la frecuencia cardíaca por incrementos agudos de la presión arterial.

El porcentaje en la fase de inducción de presión arterial sistólica llegando a aumentar en el día la PS28 (**Fig.N°14**) la más alta en comparación con las otras con el grupo experimental 1, ya que se produjo elevación alrededor de 23% de incremento de presión arterial sistólica en comparación al estado normotenso de animales de experimentación.

Figura N° 14.

Fase de inducción de presión arterial sistólica

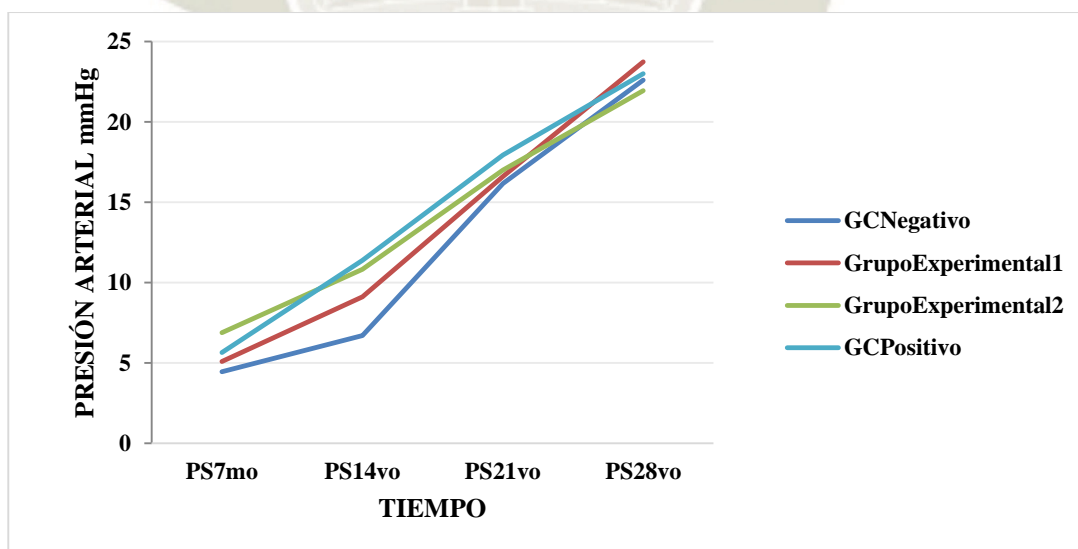


Tabla N° 8

Fase inducción, porcentaje de incremento de la presión arterial diastólica: promedios y D.E.

Grupos	N°	Valor	PS7mo	PS14vo	PS21vo	PS28vo
GC Negativo	3	\bar{X} mmHg	110.00	114.67	120.33	125.67
		\bar{X} %	4.54	8.44	12.64	16.4
		D.E. %	5.61	4.95	6.546	5.474
Grupo Experimental 1 (10 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	110.60	114.80	119.80	124.20
		\bar{X} %	7.73	11.15	14.83	17.83
		D.E. %	3.756	2.669	3.641	3.632
Grupo Experimental 2 (100 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	109.60	112.00	117.00	123.40
		\bar{X} %	6.73	8.7	12.61	17.18
		D.E. %	5.39	5.015	5.061	3.739
GC Positivo (Enalapril)	5	\bar{X} mmHg	111.00	114.80	117.60	122.20
		\bar{X} %	6.24	9.4	11.48	14.85
		D.E. %	4.545	3.408	5.222	4.178

Figura N° 15.

Fase de incremento de presión arterial diastólica

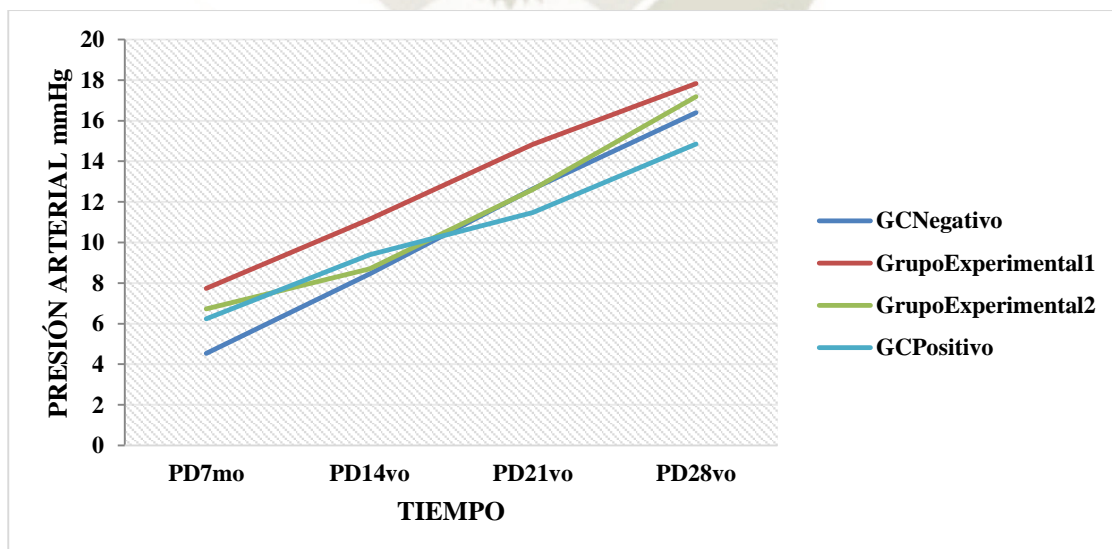


Tabla N° 9

Fase inducción, porcentaje de incremento de la presión arterial media: promedios y D.E.

Grupos	N°	Valor	PS7mo	PS14vo	PS21vo	PS28vo
GC Negativo	3	\bar{X} mmHg	123.11	127.44	137.00	145.22
		\bar{X} %	4.52	7.77	14.19	19.02
		D.E.	2.867	1.832	3.114	3.647
Grupo Experimental 1 (10 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	122.80	127.73	135.73	143.80
		\bar{X} %	6.7	10.32	15.6	20.35
		D.E.	2.187	1.642	1.81	2.013
Grupo Experimental 2 (100 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	122.20	126.00	133.14	140.87
		\bar{X} %	6.81	9.62	14.45	19.16
		D.E.	3.37	3.097	3.496	2.826
GC Positivo (Enalapril)	5	\bar{X} mmHg	122.27	127.93	133.87	140.60
		\bar{X} %	6.05	10.2	14.17	18.29
		D.E. %	2.648	2.846	3.279	2.754

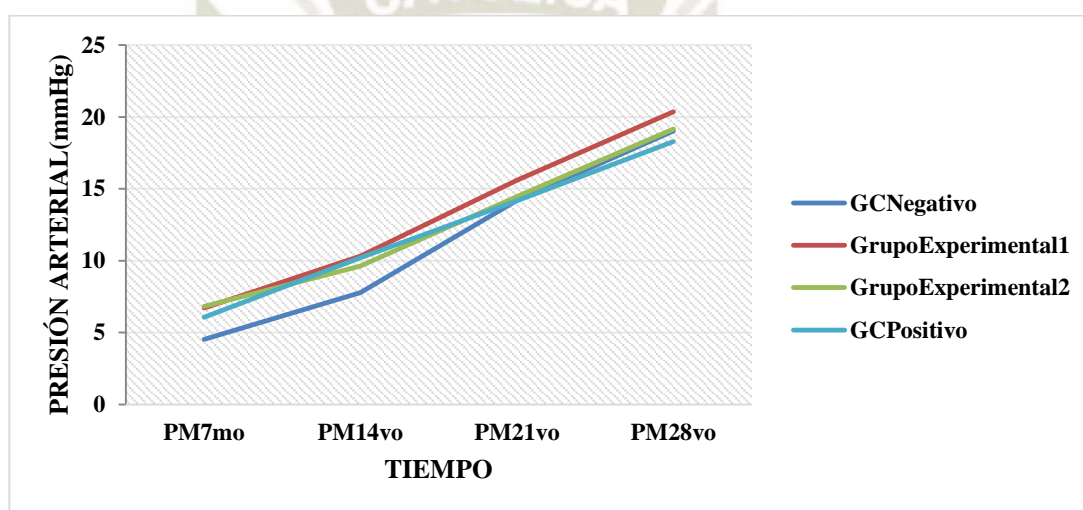
El porcentaje en la fase de inducción de presión arterial media se evidencia que llegando a incrementar un 19% en comparación con normotensas de los animales de experimentación.

Por otra parte la hipertensión arterial inducida por L-NAME no solo involucra la restricción de producción de NO, sino también del sistema nervioso simpático y la alteración del sistema renina angiotensina. En las ratas hipertensas se ha demostrado un incremento en la generación del anión superóxidos en el endotelio vascular .se cree que las especies reactivas de oxígeno contribuyen a la generación y/o del mantenimiento de la presión arterial. Los flavonoides tienen la propiedad de barrer radicales libres superóxidos y además inhiben varias enzimas responsables de la síntesis del anión superóxidos.

Probablemente los flavonoides de *Capsicum pubescens* R&P contribuyen a su efecto antihipertensivo además de su propiedad vasorrelajante, por su efecto antioxidante. Se ha descrito que la administración de L-NAME produce un aumento de 20 a 40% de la tensión arterial sistólica y diastólica en ratas además, el L-NAME ocasiona fibrosis cardiaca y nefropatía, características de daño de órgano blanco similar a la hipertensión humana, como se evidencia en la (tabla N°9). En la fase de inducción de presión arterial diastólica llegando a aumentar la presión diastólica alrededor de 17% en comparación al estado normotenso de animales de experimentación.

Figura N° 16.

Fase de inducción de presión arterial media



3.4.2. Fase de post inducción o de tratamiento

Luego de la fase de inducción al día 29, se inició con la fase de tratamiento o post inducción, en ésta fase en primer lugar y considerando como siempre el peso corporal de cada animal, se calculó la dosis individual de tratamiento.

Ya con la dosis se procedió a administrar los tratamientos durante 28 días, una vez al día, en la misma hora, y se tomó mediciones de la presión arterial al 7, 14, 21 y 28avo día, ello con la finalidad de observar el descenso (o en todo caso ascenso) de los tratamientos a lo largo del tiempo.

Tabla N° 10

Dosis según grupo experimental para la fase post induccion o de tratamiento.

N°	Identificación	Peso (g)	Tratamiento	Dosis mg	Dosis mL
1	GC Negativo	234	Suero fisiológico	---	2
2	GC Negativo	259	Suero fisiológico	---	2
3	GC Negativo	262	Suero fisiológico	---	2
4	Grupo Experimental 1	231	Extracto seco 10 mg/kg	2.31	0.5
5	Grupo Experimental 1	248	Extracto seco 10 mg/kg	2.48	0.5
6	Grupo Experimental 1	254	Extracto seco 10 mg/kg	2.54	0.5
7	Grupo Experimental 1	250	Extracto seco 10 mg/kg	2.5	0.5
8	Grupo Experimental 1	254	Extracto seco 10 mg/kg	2.54	0.5
9	Grupo Experimental 2	262	Extracto seco 100 mg/kg	26.2	1.3
10	Grupo Experimental 2	255	Extracto seco 100 mg/kg	25.5	1.3
11	Grupo Experimental 2	231	Extracto seco 100 mg/kg	23.1	1.2
12	Grupo Experimental 2	235	Extracto seco 100 mg/kg	23.5	1.2
13	Grupo Experimental 2	255	Extracto seco 100 mg/kg	25.5	1.3
14	GC Positivo	250	Enalapril (25 mg/Kg)	6.25	3.1
15	GC Positivo	259	Enalapril (25 mg/Kg)	6.48	3.2
16	GC Positivo	263	Enalapril (25 mg/Kg)	6.58	3.3
17	GC Positivo	268	Enalapril (25 mg/Kg)	6.7	3.4
18	GC Positivo	235	Enalapril (25 mg/Kg)	5.88	2.9

Cada una de las mediciones tomadas en esta fase permitió el cálculo de porcentaje de decremento de la presión arterial con la siguiente fórmula:

$$\%DPA = \frac{PA28vo - PAEx}{PA28vo} \times 100$$

Donde:

PA28vo= Presión arterial (diastólica, sistólica o media) en el día 28.

PAEx= Presión arterial (diastólica, sistólica o media) Experimental.

Para la elaboración de las soluciones de fármacos se trabajó con las siguientes cantidades, el disolvente fue agua destilada.

Tabla N° 11

Soluciones de los tratamientos para la administración por vía oral.

Fármaco	Dosis	Unidades	Fco soluto mg	Sol Total mL
Extr. seco Dosis Min	10	mg/kg	500	100
Extr. seco Dosis Max	100	mg/kg	1000	50
Enalapril	25	mg/kg	50	25

Con las dosis establecidas para ser administradas se procedió a realizar las mediciones en las cuatro oportunidades planteadas. El análisis de los datos al igual que en la fase de inducción es según el tipo de presión arterial, comenzamos con la presión arterial sistólica.

Para todos los grupos experimentales hubo un incremento sostenido de la presión arterial sistólica a través del tiempo, sin embargo, al final, es decir, en el día 28 de tratamiento se observa que el mayor porcentaje de incremento corresponde al grupo tratado con Enalapril con un 23.34%, seguido del grupo experimental 1 y 2, de 10mg/kg/peso y 100mg/kg/peso de extracto seco de rocoto con 20.05 y 20.45% respectivamente, luego se encuentran el grupo control negativo.

Tabla N° 12

Fase post inducción, porcentaje de decremento de la presión arterial sistólica: promedios y D.E.

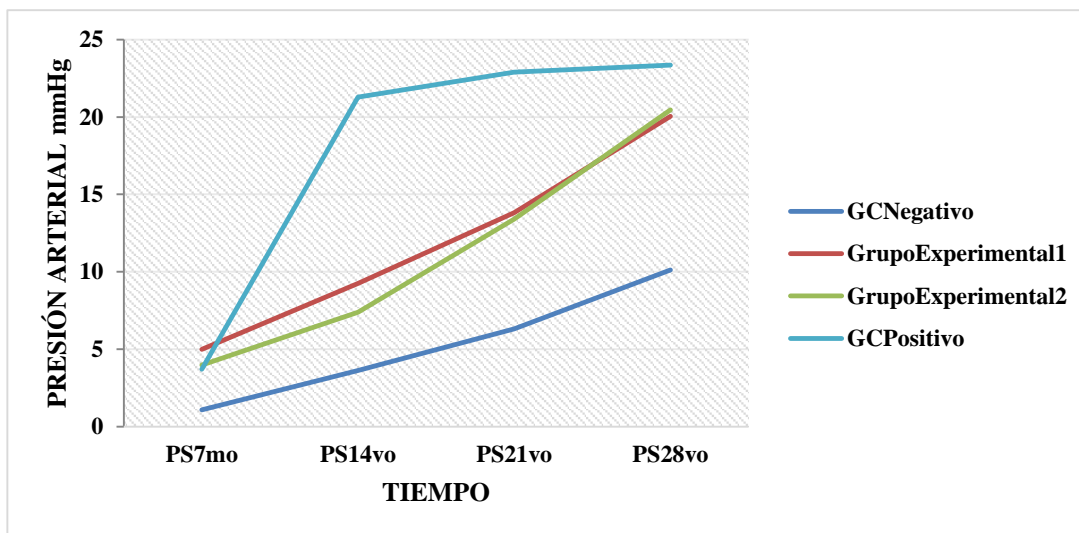
Grupos	N°	Valor	PS7mo	PS14vo	PS21vo	PS28vo
GC Negativo	3	\bar{X} mmHg	182.00	177.00	172.20	165.14
		\bar{X} %	1.09	3.63	6.32	10.12
		D.E. %	0.556	2.255	1.693	0.401
Grupo Experimental 1 (10 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	173.80	166.00	157.60	146.20
		\bar{X} %	4.98	9.24	13.81	20.05
		D.E. %	2.462	3.029	2.928	2.857
Grupo Experimental 2 (100 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	168.80	162.80	152.20	139.80
		\bar{X} %	3.97	7.38	13.4	20.45
		D.E. %	1.958	1.854	2.745	2.585
GC Positivo (Enalapril)	5	\bar{X} mmHg	170.80	139.60	136.80	136.00
		\bar{X} %	3.71	21.29	22.89	23.34
		D.E. %	0.962	1.963	1.055	0.36

Este comportamiento de la presión arterial se aprecia mucho mejor a través del (Fig. N°16) de medias correspondiente.

Luego del análisis descriptivo es importante realizar un análisis inferencial de comparación de grupos ello con la finalidad de ver la eficacia de los tratamientos considerando además todos los momentos medidos para ello se realizó un ANOVA MR, los resultados se presentan a continuación.

Figura N° 17.

Fase de post inducción de presión arterial



En la fase de post inducción de presión arterial sistólica de acuerdo a nuestro modelo experimental de ratas (**tabla N° 12**), se logró una variación de los niveles de presión arterial. Demostrando que el extracto *Capsicum pubescens* R&P tiene efecto antihipertensivo, llegando a un decremento de 20.05 % y 20.45% siendo que el enalapril tiene mayor porcentaje de decremento de 23.34% permiten considerarlo para el tratamiento de esta enfermedad.

Esta administración del agente hipertensor y su efecto se corroboró a los 28 días de administrado ya que se produjo elevación de incremento de presión arterial sistólica en comparación al estado normotenso del animal de experimentación.

Tras esta administración crónica, ya en la fase de tratamiento, a través del análisis de los resultados para la presión sistólica de los extractos secos de *Capsicum pubescens* R&P a dos dosis: 10 y 100 mg/kg/peso. El primer cuadro de resultados del análisis de medidas repetidas es la prueba multivariante que nos permite contrastar la hipótesis de igualdad de medias de los cuatro momentos medidos (7, 14, 21 y 28), podemos elegir cualquiera de los estadísticos, en todos ellos como podemos apreciar en el cuadro de resultados tienen asociada una Sig.= 0.000 lo que permite rechazar la hipótesis de igualdad de medias

Tabla N° 13

Prueba Multivariante para la presión sistólica en la fase post inducción o de tratamiento

Efecto		Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
Post Inducción	Traza de Pillai	.996	1307.199 ^b	3.000	16.000	.000
	Lambda de Wilks	.004	1307.199 ^b	3.000	16.000	.000
	Traza de Hotelling	245.100	1307.199 ^b	3.000	16.000	.000
	Raíz mayor de Roy	245.100	1307.199 ^b	3.000	16.000	.000
Post Inducción * Grupo	Traza de Pillai	1.942	8.255	12.000	54.000	.000
	Lambda de Wilks	.003	30.514	12.000	42.624	.000
	Traza de Hotelling	64.262	78.543	12.000	44.000	.000
	Raíz mayor de Roy	59.435	267.458 ^c	4.000	18.000	.000

La igualdad de medias se rechaza en cuanto al momento de medición en la etapa de Post Inducción, también en cuanto a la interacción más importante que es la medición realizada considerando los grupos, es decir, ambos factores en la (**tabla N°13**), por lo que concluimos considerando esta significancia y sin asumir esfericidad que existe diferencias significativas entre los grupos en cuanto a presión sistólica medida en las cuatro oportunidades.

En nuestra investigación existen 4 niveles de medición, por lo que existen 6 pares de posibles combinaciones, calculándolas diferencias entre esos 6 pares tenemos 6 nuevas variables. En el presente análisis se parte de la suposición que las varianzas de las seis variables son iguales. Este supuesto equivale a afirmar que la matriz de varianzas es circular o esférica, por lo que este análisis ofrece la prueba de esfericidad de Mauchly, y tal como observamos en el cuadro el nivel crítico asociado es de 0.003 que es menor a 0.05 por lo que rechazamos la hipótesis de esfericidad, por lo que concluimos en base al cuadro anterior.

Tabla N° 14

Prueba de esfericidad de Mauchly para la presión sistólica en la fase post inducción o de tratamiento

Efecto inter sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	gl	Sig.	Épsilon		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite inferior
PostInducción	.338	18,161	5	.003	.655	.898	.333

La tabla referida a la prueba de efectos inter sujetos *grupo de tratamiento* (tabla N°14) tiene asociado un nivel de significancia de 0.000, y al ser menor de 0.05 concluimos el efecto intersujetos grupo es significativo y que la presión diastólica medida en el día 7, 14, 21 y 28 no es la misma en los cuatro grupos experimentales. Esta inhibición aumenta la cantidad de estos fármacos endógenos lo que contribuye al aumento de la resistencia vascular periférica.

Tabla N° 15

Prueba de efectos inter sujetos para la presión sistólica en la fase post inducción o de tratamiento

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	10066,026	1	10066.026	719.102	.000
Grupo	1661,039	4	415.260	29.666	.000
Error	251,965	18	13.998		

No puede pasar desapercibido la presencia de los triperpenos y esteroides así como los alcaloides, y que si bien es cierto estos compuestos existe una diversidad química como farmacológica, y el estudio fitoquímico preliminar no indagó sobre la identidad química de cada sustancia del extracto, ya que escapa al objetivo de la tesis que es la evaluación del

efecto farmacológico, debemos tener presente la existencia de muchos activos presentes en plantas que por su naturaleza esteroidal tienen acciones sobre el tejido cardiaco como vascular (Ej. digital, castaño de indias, por citar algunos).

Tabla N° 16

Prueba HSD Tukey para la presión sistólica en la fase post inducción o de tratamiento

Grupo	N°	Subconjunto		
		1	2	3
Control Negativo	3	5.2900		
Experimental 2 (100mg/Kg)	5		11.3005	
Experimental 1 (10mg/Kg)	5		12.0190	
Control Positivo	5			17.8085
Sig.		.667	.978	1.000

La prueba HSD Tukey contenida en la muestra que las diferencias y semejanzas de los 4 grupos de tratamiento, luego de una comparación por pares, se concluye que el grupo control positivo es distinto del resto conformado de manera exclusiva y superior en cuanto promedio de presión sistólica, por su parte ocupan un segundo grupo e intermedio los grupos experimental 2 y 1, y un último tercer conjunto (1) conformado por el grupo control negativo (**tabla N°16**). Este análisis permite concluir que en cuanto a los grupos tratados con extracto ambas dosis muestran similitud en cuanto eficacia hipotensora diastólica, sin embargo, esta es menor que la observada para el grupo al que se administró enalapril.

Tabla N° 17

**Fase post inducción, porcentaje de decremento de la presión arterial diastólica:
promedios y D.E.**

Grupos	N°	Valor	PS7mo	PS14vo	PS21vo	PS28vo
GC Negativo	3	\bar{X} mmHg	123.33	119.00	114.66	111.00
		\bar{X} %	1.85	5.28	8.73	11.65
		D.E. %	0.427	1.072	1.923	2.104
Grupo Experimental 1 (10 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	120.60	115.60	110.40	103.00
		\bar{X} %	2.9	6.91	11.06	17.03
		D.E. %	0.413	0.784	3.151	3.659
Grupo Experimental 2 (100 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	116.80	113.20	110.00	101.80
		\bar{X} %	5.31	8.24	10.84	17.51
		D.E. %	2.956	2.696	2.044	3.17
GC Positivo (Enalapril)	5	\bar{X} mmHg	117.00	102.00	101.20	99.40
		\bar{X} %	4.25	16.5	17.14	18.63
		D.E. %	0.865	3.699	4.636	2.776

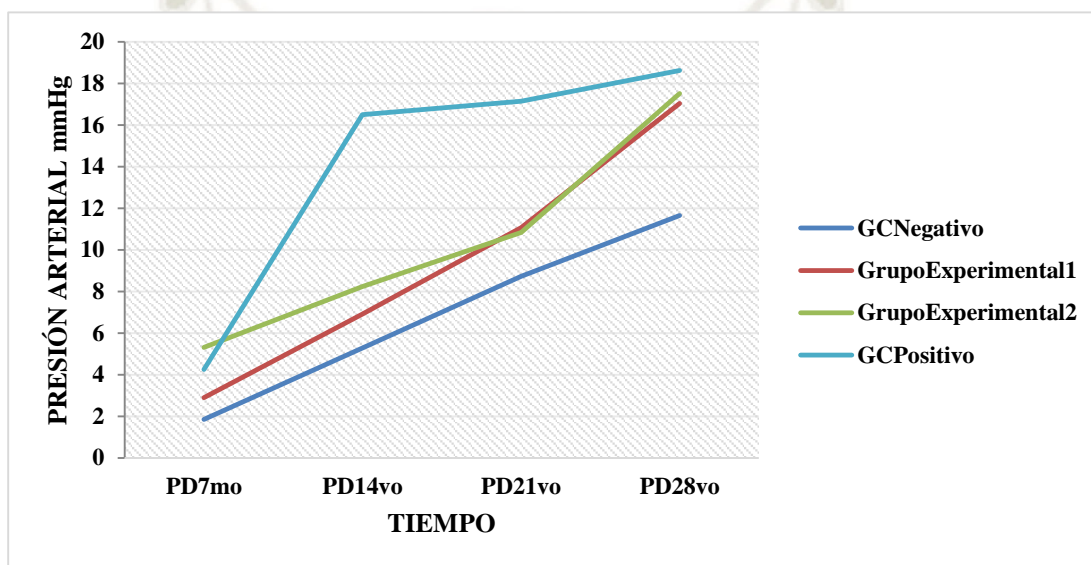
Similar a la presión sistólica en este caso también hubo para todos los grupos experimentales un incremento sostenido de la presión arterial diastólica a través del tiempo, sin embargo, al final, es decir, en el día 28 de tratamiento se observa que el mayor porcentaje de incremento corresponde al grupo tratado con enalapril con un 18.63%, seguido del grupo experimental 1 y 2, de 10mg/kg/peso y 100 mg/kg/peso de extracto seco de rocoto con 17.03 y 15.71% respectivamente, luego se encuentran el grupo control negativo. La figura ilustra mejor estos resultados. En otras investigaciones como Juan Rojas, 2006 ,estudio “Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora edulis* (maracuyá), en ratas” encontrándose que el extracto etanólico y el jugo del fruto disminuyeron la presión arterial sistólica (PAS) desde el primer día de tratamiento:

157,2 ± 2,3 y 156,2 ± 2,1 mmHg comparado con 167,7 ± 1,7 mmHg del grupo L-NAME ($p < 0,005$ y $p < 0,001$), respectivamente; la presión arterial diastólica (PAD) también disminuyó significativamente a partir del primer día⁴⁵.

Los resultados para el ANOVA MR, se presentan a continuación.

Figura N° 18.

Fase de Post inducción de presión arterial diastólica



Como se puede observar en el (Fig. N° 18) se representa en porcentaje la fase de post-inducción de presión arterial diastólica llegando a disminuir con el extracto etanólico de *Capsicum pubescens* R&P un 17.03 y 15.71% y el de mayor incremento en disminuir es el de grupo control positivo con enalapril a un 18.63% luego se observa el grupo control negativo.

Tabla N° 18

Prueba Multivariante para la presión diastólica en la fase post inducción o de tratamiento

Efecto		Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
Post Inducción	Traza de Pillai	0.959	124.997 ^b	3.000	16.000	.000
	Lambda de Wilks	0.041	124.997 ^b	3.000	16.000	.000
	Traza de Hotelling	23.437	124.997 ^b	3.000	16.000	.000
	Raíz mayor de Roy	23.437	124.997 ^b	3.000	16.000	.000
Post Inducción * Grupo	Traza de Pillai	1.512	4.576	12.000	54.000	.000
	Lambda de Wilks	0.063	6.571	12.000	42.624	.000
	Traza de Hotelling	6.769	8.273	12.000	44.000	.000
	Raíz mayor de Roy	5.485	24.683 ^c	4.000	18.000	.000

El primer cuadro de resultados del análisis de medidas repetidas es la prueba multivariante que nos permite contrastar la hipótesis de igualdad de medias de los cuatro momentos medidos (7, 14, 21 y 28), podemos elegir cualquiera de los estadísticos, en todos ellos como podemos apreciar en el cuadro de resultados tienen asociada una Sig.= 0.000 lo que permite rechazar la hipótesis de igualdad de medias.

La igualdad de medias se rechaza en cuanto al momento de medición en la etapa de post inducción, también en cuanto a la interacción más importante que es la medición realizada considerando los grupos, es decir, ambos factores (**tabla N°18**), por lo que concluimos considerando esta significancia y sin asumir esfericidad que existe diferencias significativas entre los grupos en cuanto a presión sistólica medida en las cuatro oportunidades.

La prueba de esfericidad de Mauchly del cuadro presenta un nivel crítico asociado es de 0.032 que es menor a 0.104 por lo que rechazamos la hipótesis de esfericidad, por lo que concluimos en base al cuadro anterior multivariante.

Tabla N° 19

Prueba de esfericidad de Mauchly para la presión diastólica en la fase post inducción o de tratamiento

Efecto inter sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	gl	Sig.	Épsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite inferior
Post Inducción	0.425	14.315	5	.014	.685	.946	.333

La tabla referida a la prueba de efectos inter sujetos *grupo de tratamiento* en el (**tabla N°19**) tiene asociado un nivel de significancia de 0.000, y al ser menor de 0.05 concluimos el efecto intersujetos grupo es significativo y que la presión diastólica medida en el día 7, 14, 21 y 28 no es la misma en los cuatro grupos experimentales. Es muy importante hacer hincapié en que las componentes principales se expresan como una combinación lineal de las variables originales. Desde el punto de vista de su aplicación, el método de componentes principales es considerado como un método de reducción de datos, es decir, un método que permite reducir la dimensión del número de variables que inicialmente se han considerado.

Se puso énfasis también en el marco teórico el rol de los procesos oxidativos en la regulación de la presión arterial, en donde se revisó que el estrés oxidativo no solo genera disfunción endotelial sino su propia lesión generada por procesos apoptóticos, además su acción sobre la angiotensina, en efecto esta aumenta el riesgo CV en parte estimulando la producción de oxidante.(7)

En otras investigaciones hechas por Job Nexar Q, Jhon Sillo-Surco, con el estudio “Efecto vasodilatador e inhibidor de vasoconstricción del extracto hidroalcohólico de hojas de *Olea europaea* (olivo) sobre anillos aórticos de ratas” se registró que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Olea europea*, a una dosis de 100 mg/mL, tiene efecto vasodilatador sobre anillos aórticos de ratas, mediado por el bloqueo de canales de calcio; además, posee efecto inhibidor de la vasoconstricción⁴⁶.

Tabla N° 20

Prueba de efectos intersujetos para la presión diastólica en la fase post inducción o de tratamiento

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	7633.167	1	7633.167	408.455	.000
Grupo	842.659	4	210.665	11.273	.000
Error	336.382	18	18.688		

La prueba HSD Tukey, muestra que las diferencias y semejanzas de los cuatro grupos de tratamiento, luego de una comparación por pares, se concluye que el grupo control positivo es estadísticamente similar al grupo que recibió extracto etanólico de *capsicum pubescens* R&P a una dosis de 100 mg/Kg/peso (**tabla N°20**), conformando ambos el conjunto 2 y 3, sin embargo, este último grupo tiene una eficacia no clara ya que comparte ubicación en el conjunto 2, junto al grupo que recibió 10 mg/kg/peso de extracto etanólico de rocoto. Este último grupo más bien su eficacia es menor ya que a su vez tiene un efecto similar al control negativo ya que se compara al grupo control negativo. El análisis estadístico a un nivel de confianza del 95% señalo que solo los extractos secos tenían una eficacia diferente al control en tanto inferior al enalapril.

El mecanismo es la inhibición de la catecol-o-metiltransferasa, enzima encargada de la metabolización de catecolaminas, esta inhibición aumenta la cantidad de estos fármacos endógenos lo que contribuye al aumento de la resistencia vascular periférica¹⁰. A estas actividades reconocidas se suma aunque controvertida su reputación de venotropos o venotónicos que sin duda repercute en la integridad vascular.

Tabla N° 21

Prueba HSD Tukey para la presión diastólica en la fase post inducción o de tratamiento

Grupo	N°	Subconjunto		
		1	2	3
Control Negativo	3	6.8792	6.8792	
Experimental 1 (10mg/Kg)	5	9.4745	9.4745	
Experimental 2 (100mg/Kg)	5		10.4770	10.4770
Control Positivo	5			14.1285
Sig.		.093	.141	.132

Los resultados muestran que, la presión arterial sistólica y diastólica disminuyen significativamente desde la segunda semana de tratamiento con el extracto etanólico de *Capsicum pubescens* R&P. Estudios previos han demostrado que otras plantas también tiene efecto antihipertensivo en modelos preclínicos y clínicos.

En otras investigaciones hechas por, Jorge Ramírez, M.D., MSC.1 , Mauricio Palacios, M.D, MSC.2, Oscar Gutiérrez, M.D, estudio “Estudio del efecto antihipertensivo de la *Salvia scutellarioides* en un modelo de ratas hipertensas” se registró, 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 arterial⁴⁷.

Tabla N° 22

**Fase post inducción, porcentaje de decremento de la presión arterial media:
promedios y D.E.**

Grupos	N°	Valor	PS7mo	PS14vo	PS21vo	PS28vo
GC Negativo	3	\bar{X} mmHg	143.00	138.55	134.00	129.22
		\bar{X} %	1.53	4.57	7.7	11
		D.E. %	0.316	1.367	1.665	1.375
Grupo Experimental 1 (10 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	138.33	132.40	126.13	117.40
		\bar{X} %	3.81	7.94	12.28	18.36
		D.E. %	1.031	1.218	1.756	2.318
Grupo Experimental 2 (100 mg/kg)	5	\bar{X} mmHg	134.13	129.73	124.07	114.47
		\bar{X} %	4.76	7.88	11.92	18.74
		D.E. %	2.521	2.302	1.981	2.599
GC Positivo (Enalapril)	5	\bar{X} mmHg	134.93	114.53	113.07	111.60
		\bar{X} %	4.03	18.51	19.56	20.61
		D.E. %	0.866	2.553	2.797	1.739

Los resultados de la presión arterial media que se presentan en la (tabla N°22) muestran un decremento sostenido, ello es de esperarse ya que esta magnitud es calculada a partir de la presión arterial sistólica y diastólica en donde se observó también un descenso paulatino, el análisis de este cuadro también llama la atención en cuanto al grupo con enalapril ya que en este se observa un decremento al 14avo día, no así para el resto de grupos que fue paulatino. Al final, es decir, en el día 28 de tratamiento se observa que el mayor porcentaje de descenso corresponde al grupo tratado con enalapril con un 20.61%, seguido

del grupo experimental 1 y 2, de 10 mg/kg y 100 mg/kg de extracto seco de rocoto con 18.36 y 18.74% respectivamente, el grupo control negativo. El gráfico ilustra mejor estos resultados.

Tabla N° 23

Prueba Multivariante para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento

Efecto		Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
Post Inducción	Traza de Pillai	.983	312.284 ^b	3.000	16.000	.000
	Lambda de Wilks	.017	312.284 ^b	3.000	16.000	.000
	Traza de Hotelling	58.553	312.284 ^b	3.000	16.000	.000
	Raíz mayor de Roy	58.553	312.284 ^b	3.000	16.000	.000
Post Inducción * Grupo	Traza de Pillai	1.716	6.014	12.000	54.000	.000
	Lambda de Wilks	.015	13.776	12.000	42.624	.000
	Traza de Hotelling	18.034	22.041	12.000	44.000	.000
	Raíz mayor de Roy	14.969	67.359 ^c	4.000	18.000	.000

El primer cuadro de resultados del análisis de medidas repetidas es la prueba multivariante que nos permite contrastar la hipótesis de igualdad de medias de los cuatro momentos medidos (7, 14, 21 y 28), podemos elegir cualquiera de los estadísticos, en todos ellos como podemos apreciar en el cuadro de resultados tienen asociada una Sig.= 0.000 lo que permite rechazar la hipótesis de igualdad de medias.

La igualdad de medias se rechaza en cuanto al momento de medición en la etapa de post inducción, también en cuanto a la interacción más importante que es la medición

realizada considerando los grupos, es decir, ambos factores (**tabla N°23**) post inducción grupo, por lo que concluimos considerando esta significancia y sin asumir esfericidad que existe diferencias significativas entre los grupos en cuanto a presión sistólica medida en las cuatro oportunidades.

La prueba de esfericidad de Mauchly del cuadro presenta un nivel crítico asociado es de 0.014 que es menor a 0.051 por lo que no rechazamos la hipótesis de esfericidad, por lo que se procede al análisis multivariante siguiente.

Tabla N° 24
Prueba de esfericidad de Mauchly para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento

Efecto inter sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	gl	Sig.	Épsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite inferior
Post Inducción	.517	11.040	5	.051	.708	.984	.333

La (**tabla N°25**) de efector intra sujetos muestra una significancia asociada de 0.000, lo que es consistente con la tabla multivariante, concluyendo que las presiones arteriales medias son diferentes en los cuatro distintos momentos, considerando el factor grupo de tratamiento.

El análisis de esfericidad de Mauchly del cuadro presenta un nivel crítico asociado es de 0.014 que es menor a 0.051 por lo que no rechazamos la hipótesis de esfericidad, por lo que se procede al análisis multivariante.

De acuerdo a ello es de tener en cuenta la actividad antioxidante del extracto de *Capsicum pubescens* R&P, que fue medido mediante el método DPPH, esta actividad antioxidante sin duda se debe a los flavonoides, que como sabemos tienen actividad antirradicalaria, asociada al agrupamiento O-hidroxi en el anillo B, doble enlace 2-3 en conjugación con una función oxo en cuatro y la presencia de sustitutos hidroxilo en posición 3, 5 y 5 del anillo A. ⁽²⁸⁾

Tabla N° 25

Prueba de efectos dentro de sujetos para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Post Inducción	Esfericidad asumida	1898.021	3	632.674	455.408	.000
	Greenhouse-Geisser	1898.021	2.124	893.742	455.408	.000
	Huynh-Feldt	1898.021	2.951	643.267	455.408	.000
	Límite inferior	1898.021	1.000	1898.021	455.408	.000
Post Inducción * Grupo	Esfericidad asumida	350.519	12	29.210	21.026	.000
	Greenhouse-Geisser	350.519	8.495	41.263	21.026	.000
	Huynh-Feldt	350.519	11.802	29.699	21.026	.000
	Límite inferior	350.519	4.000	87.630	21.026	.000
Error (Post Inducción)	Esfericidad asumida	75.019	54	1.389		
	Greenhouse-Geisser	75.019	38.226	1.963		
	Huynh-Feldt	75.019	53.111	1.413		
	Límite inferior	75.019	18.000	4.168		

La tabla referida a la prueba de efectos inter sujetos *grupo de tratamiento* (en el cuadro grupo) tiene asociado un nivel de significancia de 0.000, y al ser menor de 0.05 concluimos el efecto intersujetos grupo es significativo y que la presión diastólica medida en el día 7, 14, 21 y 28 no es la misma en los cinco grupos experimentales.

En otras investigaciones hechas por Birina Luz Caballero Gutiérrez, Carlos Julio Márquez Cardozo², Benjamín Alberto Rojano, estudio “Efecto de la liofilización sobre las propiedades funcionales del ají rocoto (*Capsicum pubescens*)” se registró, que el ají rocoto fresco con semilla incluida, la placenta valores de 1,18mg, equivalentes de ácido ascórbico/g base seca (b.s.) probablemente dando una actividad antihipertensiva asociado a los otros metabólicos⁴⁸.

Tabla N° 26

Prueba de efectos inter sujetos para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	8628.327	1	8628.327	830.967	.000
Grupo	1132.349	4	283.087	27.263	.000
Error	186.903	18	10.383		

La prueba HSD Tukey contenida en la (**tabla N°27**), muestra que las diferencias y semejanzas de los cuatro grupos de tratamiento, luego de una comparación por pares, se concluye que el grupo control positivo es diferente al resto ya que ocupa en forma exclusiva y excluyente el conjunto dos, con un promedio de porcentaje de descenso superior al resto. Del mismo modo ocupan el conjunto 2 los grupos tratados con 10 y 100mg/Kg/peso de extracto seco de rocoto, pero con un promedio de porcentaje de descenso de la presión arterial media un tanto menor al control positivo. El análisis estadístico a un nivel de

confianza del 95% señalaron que solo los extractos secos tenían una eficacia diferente al control. Esta evaluación permitió concluir que para la presión arterial sistólica de los extractos etanólico del *Capsicum pubescens* R&P tenían una eficacia diferente al control en tanto inferior al enalapril.

En otras investigaciones hechas por Jorge Arroyo, Renán Hañari, Aldo Tinco, Deyvis Baca, Lester Domínguez, Jesús Buendía con el estudio “Efecto antihipertensivo del extracto de Piper aduncum matico sobre la hipertensión inducida por L-NAME en ratones” se registró en los días 19 y 23 se observó los mejores niveles de presión arterial en el grupo control y los experimentales, correspondiendo a las mediciones 6 y 7. La eficacia antihipertensiva para enalapril fue 24,1 a 20,6%, respectivamente, seguida por matico, entre 24,9 y 13,7% ($p < 0,05$)⁴⁹.

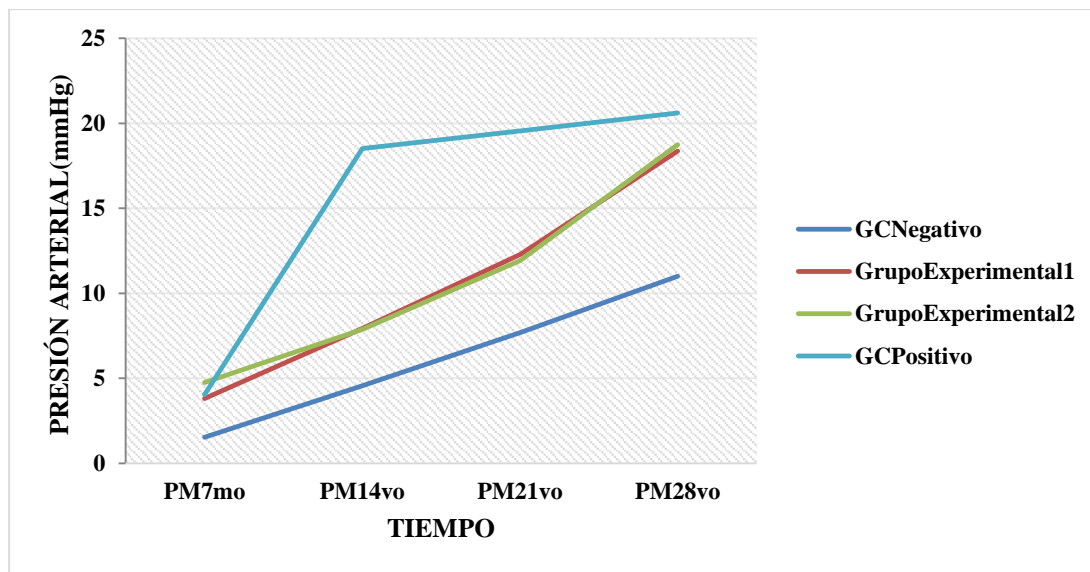
Tabla N° 27

Prueba HSD Tukey para la presión arterial media en la fase post inducción o de tratamiento

Grupo	N°	Subconjunto		
		1	2	3
Control Negativo	3	6.2008		
Experimental 1 (10mg/Kg)	5		10.5955	
Experimental 2 (100mg/Kg)	5		10.8240	
Control Positivo	5			15.6795
Sig.		1.000	1.000	1.000

Figura N° 19.

Fase de inducción de presión arterial media



El porcentaje de la fase post inducción de presión arterial media que se presenta en la (tabla N°27) un decremento que de acuerdo al tratamiento que se llevó con enalapril es de mayor porcentaje de descenso es 20.61% luego del grupo experimental 1 y 2 del extracto etanólico. En otras investigaciones hechas por David Chaupis Meza, Juan Rojas, Manuel Gasco, Gustavo F. Gonzales, con el estudio “Efecto hipotensor del extracto de ajo (*allium sativum*) macerado por 18 semanas en un modelo experimental in vivo” se registró que el ajo macerado a un periodo de 18 semanas resultó eficaz para producir un efecto hipotensor en ratas, inducidas a hipertensión arterial por L-NAME cuando el resultado se hizo una comparación sobre la PAM final versus PAM basal (medias no diferentes) y el efecto hipotensor (%) fueron: ajo-100 ($p=0,008$), 59,8%; ajo-500 ($p=0,021$), 80,6%; ajo-1000 ($p=0,034$), 88,5%, Captopril ($p=0,437$), 99,9% y vehículo ($p=0,001$), 0%⁵⁰.

DISCUSIÓN

La hipertensión arterial es un importante problema de salud pública en todos los países desarrollados y ello es debido por un lado a su alta frecuencia y por otro a la gravedad que pueden tener sus posibles complicaciones. El número de personas hipertensas en el mundo supera en estos momentos los mil millones y se espera que aproximadamente dentro de un cuarto de siglo, cuando los países actualmente en vías de desarrollo hayan adquirido los hábitos de países industrializados, esta cifra se habrá triplicado. Actualmente, el riesgo de ser hipertenso a lo largo de la vida, con los criterios actuales de diagnóstico y el aumento de la esperanza de vida, es de alrededor del 90%. Es decir, los difícil e no llegar a ser hipertenso, si la vida es suficientemente larga.⁽²⁹⁾ Por ello a través de este estudio se evaluó un fruto que tradicionalmente la población lo señala como antihipertensivo entre otros usos.

De acuerdo a la ecuación hidráulica, la presión arterial es directamente proporcional al producto del riego sanguíneo (gasto cardíaco) y la resistencia al paso de la sangre por las arteriolas precapilares o resistencia vascular periférica (RVP).⁽¹⁸⁾

Fisiológicamente en individuos normales e hipertensos la presión arterial se mantiene por una regulación de un momento a otro en el gasto cardíaco y la resistencia vascular periférica, ejercidos en tres tipos anatómicos: arteriolas, vénulas poscapilares (vasos de capacitancia) y corazón. Un cuarto sitio de control anatómico, el riñón, contribuye al mantenimiento de la presión arterial por regulación del volumen del líquido intravascular. Los barorreflejos, mediados por nervios autonómicos actúan en combinación con mecanismos humorales que incluyen al sistema renina-angiotensina-aldosterona para coordinar la función en estos cuatro sitios de control y mantener la presión arterial normal. Finalmente, la secreción local de sustancias vasoactivas del endotelio vascular también participa en la regulación y la resistencia vascular. Por ejemplo, la endotelina produce vasoconstricción y el óxido nítrico causa vasodilatación. La presión arterial en el paciente hipertenso se controla por los mismos mecanismos que en sujetos normotensos; dicho control difiere del de sujetos sanos porque los barorreceptores y el sistema de control de la presión y volumen sanguíneo renales parecen “ajustarse” a un nivel más alto.⁽¹⁸⁾

Precisamente el modelo experimental utilizado que fue a través de la administración crónica de N-nitro-L-arginina metil ester o conocido comúnmente como L-NAME, este compuesto fue administrado durante 28 días tiempo durante el cual ejerce una acción de falso sustrato, sobre la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS), inhibiendo la síntesis de óxido nítrico que como se mencionó en el precedente, es un poderoso vasodilatador secretado a nivel endotelial y que se sintetiza a partir de L-arginina. Esta administración del agente hipertensor y su efecto se corroboró a los 28 días de administrado ya que se produjo elevación de alrededor del 23% de incremento de presión arterial sistólica en comparación al estado normotenso del animal de experimentación, también se apreció un incremento de alrededor del 17% para la presión arterial diastólica y de 19% para la presión arterial media, ello sucedió en todos los animales de experimentación que conformaron los cinco grupos experimentales. Este incremento en los parámetros de presión arterial de la rata de laboratorio se consideró suficiente para evaluar un recurso vegetal como el fruto de rocoto con potencial actividad antihipertensiva señalada por la población. Por otra parte este incremento que se observó en la fase de inducción se corrobora con un estudio cercano, en donde se observaron incrementos significativos en los valores de presión arterial en ratas de laboratorio tras la administración crónica de L-NAME. En otras investigaciones hechas por Jorge Arroyo, Renán Hañari, Aldo Tinco, Deyvis Baca, Lester Domínguez, Jesús Buendía con el estudio “Efecto antihipertensivo del extracto de Piper aduncum matico sobre la hipertensión inducida por L-NAME en ratones” se registró en los días 19 y 23 se observó los mejores niveles de presión arterial en el grupo control y los experimentales, correspondiendo a las mediciones 6 y 7. La eficacia antihipertensiva para enalapril fue 24,1 a 20,6%, respectivamente, seguida por matico, entre 24,9 y 13,7% ($p < 0,05$).

Tras esta administración crónica, ya en la fase de tratamiento, a través del análisis de los resultados para la presión sistólica de los extractos secos de *Capsicum pubescens* R&P (rocoto) a dos dosis: 10 y 100 mg/kg. El análisis estadístico a un nivel de confianza del 95 % señaló que solo los extractos secos tenían una eficacia diferente al control en tanto inferior al enalapril. Resultados similares se observó para la presión arterial media, sin embargo, sobre la presión diastólica la eficacia no es tan clara para el extracto de *Capsicum pubescens* R&P (rocoto) a una dosis de 10 mg/kg, si para el caso del extracto seco administrado a una dosis de 100 mg/kg. En otras investigaciones hechas por, Jorge Ramírez, M.D., MSC.1, Mauricio Palacios, M.D, MSC.2, Oscar Gutiérrez, M.D, estudio “Estudio del

efecto antihipertensivo de la *Salvia scutellarioides* en un modelo de ratas hipertensas” se registró, 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

Viendo los resultados de la cromatografía en capa fina en donde se detectó la presencia de sustancias terpenicas, tipo esteroides, triterpenos y saponinas, además de flavonoides y alcaloides. Podríamos que este complejo activo tuvo implicancia los flavonoides ya que como sabemos tienen efectos protectores sobre las paredes de los vasos sanguíneos, en especial sobre capilares, disminuyendo su permeabilidad y fragilidad capilar y, por consiguiente, aumentan la resistencia capilar.⁽²⁸⁾ El mecanismo es la inhibición de la catecol-o-metiltransferasa, enzima encargada de la metabolización de catecolaminas, esta inhibición aumenta la cantidad de estos fármacos endógenos lo que contribuye al aumento de la resistencia vascular periférica.⁽¹⁰⁾ A estas actividades reconocidas se suma aunque controvertida su reputación de venotópicos o venotónicos que sin duda repercute en la integridad vascular.

No puede pasar desapercibido la presencia de los triperpenos y esteroides así como los alcaloides, y que si bien es cierto estos compuestos existe una diversidad química como farmacológica, y el estudio fitoquímico preliminar no indagó sobre la identidad química de cada sustancia del extracto, ya que escapa al objetivo de la tesis que es la evaluación del efecto farmacológico, debemos tener presente la existencia de muchos activos presentes en plantas que por su naturaleza esteroidea tienen acciones sobre el tejido cardíaco como vascular (Ej., digital, castaño de indias, por citar algunos). La presencia de alcaloides no puede ser desdeñada ya que como sabemos existen muchos alcaloides químicamente diferentes que tienen acciones parasimpático miméticas generando hipertensión, algunos de ellos son la neostigmina y la pilocarpina, existen otros que tienen acción sobre las terminaciones nerviosas postganglionares agotando reservas de catecolaminas hipertensoras, un claro ejemplo de ello es la reserpina. Probablemente la acción antihipertensiva del extracto de *Capsicum pubescens* R&P (rocoto) a dos dosis: 10 y 100

mg/kg se deba – como casi todas las plantas – al complejo total activo, que actuaría a modo de un sinergismo fisiológico sobre el sistema de regulación de la presión arterial, que como se mencionó de por sí es multifactorial y complejo, interviniendo varios órganos y ligandos endógenos. En otras investigaciones como Birina Luz Caballero Gutiérrez, Carlos Julio Márquez Cardozo, Benjamín Alberto Rojano, estudio “Efecto de la liofilización sobre las propiedades funcionales del ají rocoto (*Capsicum pubescens*)” se registró, que el ají rocoto fresco con semilla incluida, la placenta valores de 1,18mg, equivalentes de ácido ascórbico/g base seca (b.s.) probablemente dando una actividad antihipertensiva asociado a los otros metabolitos.

Sumado a ello es de tener en cuenta la actividad antioxidante del extracto de *Capsicum pubescens* R&P (rocoto), que fue medido mediante el método DPPH. El resultado obtenido fue 33.91mM equivalente de TROLOX, mostrándonos una mejor capacidad antioxidante en comparación con otra investigación que determinó la capacidad antioxidante de limón y plátano obteniendo un resultado de 6.7 mM y 8.2 mM. También se determinó en otro estudio la capacidad antioxidante del extracto de semilla de uva mediante el método DPPH dio un resultado de 1.96mM, esta actividad antioxidante sin duda se debe a los flavonoides, que como sabemos tienen actividad antirradicalaria, asociada al agrupamiento O-hidroxilo en el anillo B, doble enlace 2-3 en conjugación con una función oxo en 4 y la presencia de sustitutos hidroxilo en posición 3, 5 y 5 del anillo A. ⁽²⁸⁾

Se puso énfasis también en el marco teórico el rol de los procesos oxidativos en la regulación de la presión arterial, en donde se revisó que el estrés oxidativo no solo genera disfunción endotelial sino su propia lesión generada por procesos apoptóticos, además su acción sobre la angiotensina, en efecto esta aumenta el riesgo CV en parte estimulando la producción de oxidante. La hipertensión asociada a infusión crónica de Ang está asociada a la activación de la NADPH oxidasa dependiente del receptor de Ang II que a su vez se asocia a un mayor nivel de formación del oxidante anión superóxido (O_2^-), que reacciona fácilmente con el NO para formar el oxidante peroxinitrito ($ONOO^-$). La consiguiente reducción de la bioactividad del NO puede constituir un mecanismo adicional que explique la mayor respuesta vasoconstrictora a la Ang II en la hipertensión. ⁽⁷⁾ Este cúmulo de factores farmacológicos positivos sobre la presión arterial permite de algún sustentar el efecto de los extractos de *Capsicum pubescens* sobre la presión arterial en particular el extracto seco.

CONCLUSIONES

- PRIMERA:** Se evaluó el efecto antihipertensivo en animales de experimentación con hipertensión inducida mediante la administración de L-NAME durante 28 días, además se determinó la actividad antioxidante del extracto del pericarpio de *Capsicum pubescens* R&P mediante el método de DPPH.
- SEGUNDA:** Se obtuvo mediante el método de extracción continuo denominado percolación el extracto seco de *Capsicum pubescens* R&P utilizando como disolvente alcohol etílico, el rendimiento del método fue de 8.74%.
- TERCERA:** Se realizó un análisis fitoquímico de tipo preliminar, utilizando la cromatografía en capa fina, revelándose la presencia de los siguientes metabolitos secundarios: terpenos, flavonoides y alcaloides.
- CUARTA:** Se evaluó la actividad antioxidante *in-vitro* mediante el método DPPH utilizando como estándar Trolox, determinándose que el extracto del pericarpio de *Capsicum pubescens* R&P tiene un porcentaje de inhibición del 51.3% y un resultado de 33.91mmol equivalente Trolox por gramos de pericarpio detectando presencia de compuestos fenólicos en el extracto.
- QUINTA:** Se indujo hipertensión arterial experimental mediante la administración por vía oral de una solución de L-NAME en animales de experimentación, luego de administrar este agente durante 28 días. Se observó un incremento sostenido expresado en porcentaje de incremento de presión arterial sistólica, diastólica y media.
- SEXTA:** En la fase de post inducción o tratamiento se evaluó los extractos secos de *Capsicum pubescens* R&P a dos dosis: 10 y 100 mg/kg así como el análisis

estadístico HSD de Tukey posterior al ANOVA MR, a un nivel de confianza del 95 % señalo que el extracto seco tenía una eficacia diferente al control en tanto inferior al enalapril. Para la presión diastólica bajo el mismo estadístico, la eficacia no es tan clara para el extracto de *Capsicum pubescens* R&P a una dosis de 10 mg/kg, si para el caso del extracto seco administrado a una dosis de 100 mg/kg. Finalmente para la presión arterial media el extracto seco de *Capsicum pubescens* R&P, muestra eficacia diferente al control pero al igual que con la presión sistólica esta es inferior al enalapril o control positivo.

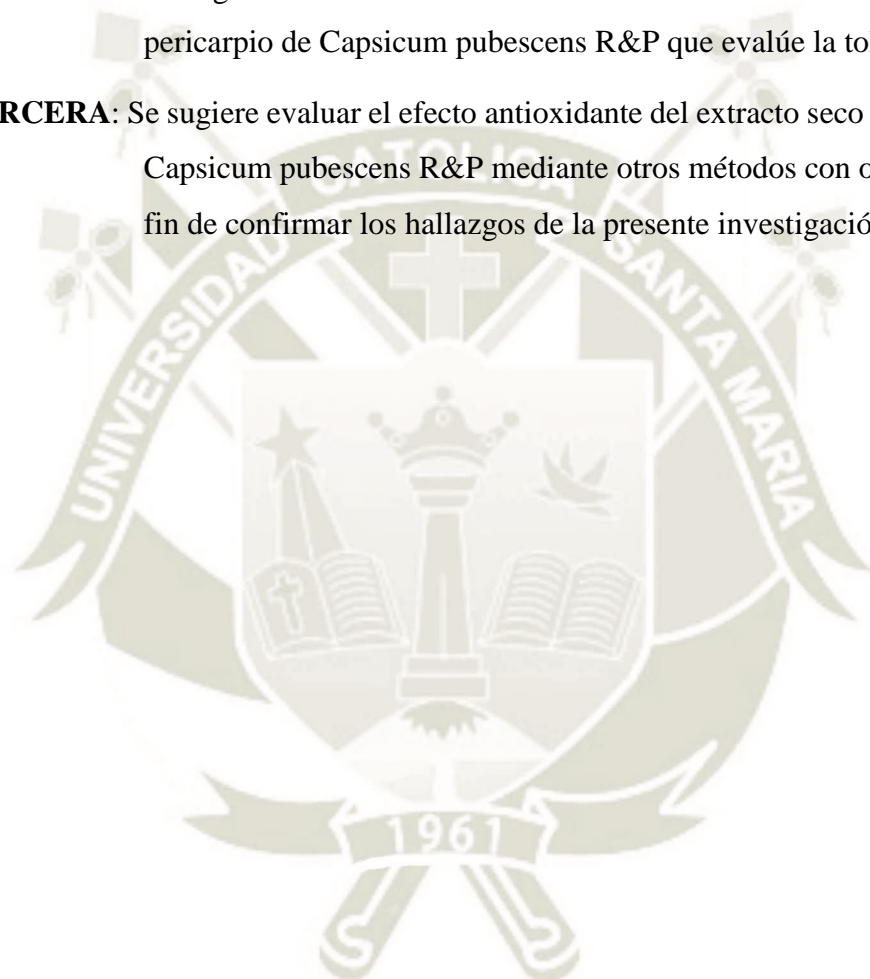


SUGERENCIAS

PRIMERA: Se sugiere realizar trabajos de investigación para evaluar el efecto del extracto seco del pericarpio de *Capsicum pubescens* R&P sobre la integridad de la pared gástrica en animales de experimentación.

SEGUNDA: Se sugiere realizar un estudio clínico de fase I del extracto seco del pericarpio de *Capsicum pubescens* R&P que evalúe la tolerancia gástrica

TERCERA: Se sugiere evaluar el efecto antioxidante del extracto seco del pericarpio de *Capsicum pubescens* R&P mediante otros métodos con otros estándares a fin de confirmar los hallazgos de la presente investigación.



BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmad and Owais: Modern Phytomedicine, First Edition. Wiley-VCH Press. 2006.
2. Aldave Pajares Augusto; Mostacero León José: Botánica Farmacéutica. 1ª Edición. 1988. Editorial Libertad. Lima, Perú.
3. Alonso Jorge: Tratado de Fitomedicina Bases Clínicas y Farmacológicas. 1ª Edición. 2004. Editorial ISIS. Argentina.
4. Alvarado Alva J.: Apuntes de Farmacología. 3ª Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
5. Barnes Joanne, Anderson Linda y Phillipson David: Herbal Medicines. 3ª Edición, Pharmaceutical Press. 2007.
6. Baynes J. y Dominizack M.: Bioquímica Médica. 4ª Edición, Editorial Elsevier. 2015. Barcelona España.
7. Black H. y Elliot W.: Hipertensión. Complemento de Braunwald. Tratado de Cardiología. 2ª Edición, Editorial Elsevier. 2013. Barcelona España.
8. Brack Egg Antonio: Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. 1ª Edición. 1999.
9. Bravo Díaz Luis: Farmacognosia. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
10. Bruneton J.: Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.
11. Brunton L, Chabner B. Knollman B.: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 12ª Edición. 2012. McGraw-Hill Interamericana. México
12. Castillo García E., Martínez Solís I.: Manual de Fitoterapia. 2ª Edición. 2014. Editorial Elsevier Masson. España.
13. Flores Rivera E.: Determinación de la actividad antioxidante y su relación con los componentes fenólicos totales presentes en el alpechin. Universidad Católica de Santa María. Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa 2014.

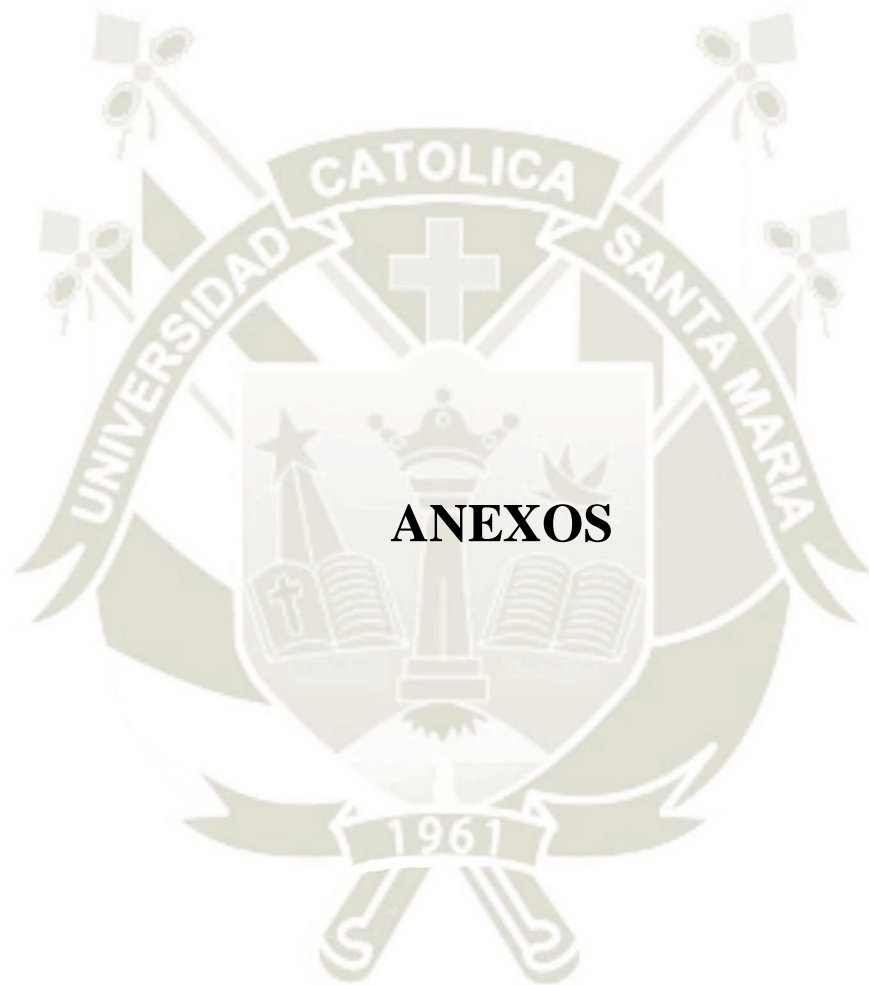
14. Flórez Jesús (Dir.): Farmacología Humana, 6ª Edición. 2014. Editorial Elsevier España. Barcelona España.
15. Ganong William: Ganong Fisiología Médica. 23ª Edición, 2010. Editorial McGraw Hill-Interamericana. México.
16. Gaw Allan, Murphy M., Srivastava R., Cowan R.: Bioquímica Clínica Texto y Atlas en Color. 5ª Edición. 2013. Editorial Elsevier, Barcelona, España.
17. Harvey Richard. (Editor): Farmacología. 5ª Edición, 2014. Editorial Lippincott
18. Katzung Bertram G.: Farmacología Básica y Clínica. 12ª Edición, 2013. Editorial McGraw Hill Interamericana. México.
19. Konigsberg Fainstein Mina: Radicales libres y estrés oxidativo. Aplicaciones médicas. 1ª Edición, 2008. Editorial Manual Moderno. México.
20. Kukllinski C.: Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas De Origen Natural, 1ª Edición, 2000. Ediciones Omega S.A.
21. Lock de Ugaz O.: Investigación Fitoquímica Métodos En El Estudio De Productos Naturales. 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
22. López A., Moreno L., Villagrasa V.: Manual de Farmacología, Guía Para el Uso Racional del Medicamento. 1ª Edición 2006. Editorial ELSEVIER S.A.
23. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C. y Moro M.A.: Velázquez Farmacología Básica y Clínica, 18ª Edición. 2008. Editorial Médica Panamericana.
24. Mathews C., Van Holde K., Ahern K.: Bioquímica Médica. 3ª Edición. 2002. Editorial Pearson Educación, España.
25. Murray Robert y otros: Harper Bioquímica Ilustrada. 29ª Edición. 2013. Editorial McGraw Hill Interamericana, México.
26. Mostacero J.; Mejía F.; Gamarra O.: Taxonomía de las Fanerogamas Útiles del Perú. 1ª Edición. 2002. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú.
27. Skoog D.; Leary J.: Análisis Instrumental. 6ª Edición. 2008. Editorial Latinoamericana.
28. Villar del Fresno A. (Editor): Farmacognosia General. 1ª Edición 2000. Editorial Síntesis S.A.

29. Tovar José I.: Comprender la Hipertensión. 1ª Edición 2009. Editorial Amat S.L. Barcelona, España.
30. Brunton L, Chabner B. Knollman B.: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 12ª Edición. 2012. McGraw-Hill Interamericana. México
31. Adams Michale y Holland Norman: Farmacología para enfermería. Un enfoque fisiopatológico, 2ª Edición. 2009. Editorial Pearson Educación. Madrid, España.
32. Wagner H, Bladt S.: Plant Drug Analysis Berlin, Berlin Heidelberg: Springer Heidelberg
33. Mishari, K., Ojha H., Chaudhury, N. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: a critical review and results. Journal of food chemistry. 130: 1036- 1043, 2011.
34. Rojas J., Ronceros S. Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 de jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas *Passiflora edulis* (maracuyá), en ratas. Rev. Soc. Química Perú. 2006;67 (206-213)
35. Chaupis M. David, Rojas Juan, Efecto Hipotensor del extracto de ajo (*allium sativum*) macerado por 18 semanas en un modelo experimental in vivo. Rev. Peru Med. Exp Salud Publica 2014, vol. 31 num. 3 (461-466)
36. Avalos S. Joaquin, Treviño N. Jaime, Evaluación citotóxica de los extractos etanólicos *Azadirachta indica* (A. Juss) sobre diferentes líneas celulares, Rev. Mex. Cienc. Farm 2014 .45 ;3 (39- 44)
37. Arroyo Jorge, Hañari Renan, Tinco Aldo, Efecto antihipertensivo del extracto de *Piper aduncum* “matico” sobre la hipertensión inducida por L-NAME en ratones. An. Fac. med. 2012; 73 (275-280)
38. Alva B. Dapfruthnee , Avalos R. Samir, Jara R. Marlyng, Efecto del extracto acuoso del fruto de *Capsicum pubescens* sobre úlceras gástricas inducidas en *Rattus rattus* var. *Albinus*. Rev. Farmaciencia 2015 Vol.03, N°1 .(31-38).
39. Nexar-QH. Job, Sillo-S. Jhon, Efecto vasodilatador e inhibidor de vasoconstricción del extracto hidroalcohólico de hojas de *Olea europaea* (olivo) sobre anillos aórticos de ratas. An Fac med. 2013;74(4):285-90

40. Ramírez M. Jorge , Palacios M. Mauricio, Gutiérrez M. Oscar, Estudio del efecto antihipertensivo de la *Salvia scutellarioides* en un modelo de ratas hipertensas Rev. Colomb Med 2006;37:(53-60)
41. Jouad H, Lacaille-Dubois M, Lyoussi B, Eddouks M. Effects of the flavonoids extracted from *Spergularia purpurea* Pers. on arterial blood pressure and renal function in normal and hipertensive rats. J Ethnopharmacology. 2001;76:159- 63.
42. Duarte J, Perez R, Vargas F, Angeles M, Perez F, Zarzuelo A, et al. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. Brit J Pharmacology. 2001;133:117-24.
43. Avalos S. Joaquin, TreviñoN. Jaime, Evaluación citotóxica de los extractos etanólico *Azadirachta indica* (A. Juss) sobre diferentes líneas celulares, Rev. Mex. Cienc. Farm 2014 .45 ;3 (39- 44)
44. R. Sanchez- Humala, A.M.Ruiz Briceño, Actividad antioxidante y marcha fitoquímica de los capítulos de *Tagetes filifolia* Lag. “pacha anis” Rev. Horiz Med 2017, 17(1):18-24.
45. Rojas J., Ronceros S. Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 de jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas *Passiflora edulis* (maracuyá), en ratas. Rev. Soc. Química Perú. 2006;67 (206-213)
46. Nexar-QH.Job,Sillo-S.Jhon, Efecto vasodilatador e inhibidor de vasoconstricción del extracto hidroalcohólico de hojas de *Olea europaea* (olivo) sobre anillos aórticos de ratas. An Fac med. 2013;74(4):285-90
47. Ramírez M. Jorge , Palacios M. Mauricio, Gutiérrez M. Oscar, Estudio del efecto antihipertensivo de la *Salvia scutellarioides* en un modelo de ratas hipertensas Rev. Colomb Med 2006;37:(53-60)
48. Birina Luz Caballero Gutiérrez¹, Carlos Julio Márquez Cardozo², Benjamín Alberto Rojano, estudio “Efecto de la liofilización sobre las propiedades funcionales del ají rocoto (*Capsicum pubescens*)” Rev. U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica 2017, 20 (1):111-119

49. Arroyo Jorge, Hañari Renan, Tinco Aldo, Efecto antihipertensivo del extracto de Piper aduncum “matico” sobre la hipertensión inducida por L-NAME en ratones. An. Fac. med. 2012; 73 (275-280)
50. Chaupis M. David, Rojas Juan, Efecto Hipotensor del extracto de ajo (allium sativum) macerado por 18 semanas en un modelo experimental in vivo. Rev. Peru Med. Exp Salud Publica 2014, vol. 31 num. 3 (461-466)





ANEXO N° 1: CONSTANCIA DE IDENTIFICACION TAXONOMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA 20- 2017-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense (HUSA)* de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Se hace constar que las muestras frescas de hojas y tallos de la planta traída al laboratorio por la Srta: KARIN JUDITH FERNANDEZ COHAILA Y Srta. BONNIE EKATERINA FLOR ORDOÑEZ, para el análisis botánico corresponde a la especie *Capsicum pubescens* R & P "rocoto" de la familia Solanaceae. Dicha muestra fue obtenida de los campos de cultivo de la localidad de San Gregorio. Provincia de Camana. Dpto. Arequipa. para el estudio de la Tesis de pregrado titulada: **DETERMINACION DEL EFECTO ANTIOXIDANTE Y ANTIHIPERTENSIVO DEL EXTRACTO DEL FRUTO *Capsicum pubescens* R & P "Rocoto" EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS POR L-NAME 2017** de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica Santa María.

Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE: ASTERIDAE
ORDEN: SOLANALES
FAMILIA: SOLANACEAES
GENERO: Capsicum
ESPECIE: *Capsicum pubescens* R & P

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

Arequipa 10 de Agosto del 2017


Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
Teléfono: (054) 237755 / 984248674
Apartado Postal: 0028
AREQUIPA – PERÚ

ANEXOS N° 2: SABANA DE DATOS

FASE DE INDUCCIÓN: Presión Arterial Sistólica

N°	Grupo Experimental	Presión arterial Sistólica				
		PS Basal	PS7mo	PS14vo	PS21vo	PS28vo
1	GC Negativo	142	149	156	168	181
2	GC Negativo	144	148	149	166	189
3	GC Negativo	142	151	154	177	183
4	Grupo Experimental 1	141	152	156	162	180
5	Grupo Experimental 1	137	141	150	158	181
6	Grupo Experimental 1	141	146	155	170	187
7	Grupo Experimental 1	132	139	145	165	176
8	Grupo Experimental 1	147	158	162	183	191
9	Grupo Experimental 2	133	139	144	160	178
10	Grupo Experimental 2	139	149	153	162	174
11	Grupo Experimental 2	138	148	157	166	176
12	Grupo Experimental 2	141	153	163	176	179
13	Grupo Experimental 2	135	148	153	163	172
14	GC Positivo	132	139	151	164	176
15	GC Positivo	143	149	155	170	183
16	GC Positivo	139	146	154	168	181
17	GC Positivo	131	139	158	164	168
18	GC Positivo	138	151	153	166	179

FASE DE INDUCCIÓN: Presión Arterial Diastólica

N°	Grupo Experimental	Presión arterial Diastólica				
		PS Basal	PS7mo	PS14vo	PS21vo	PS28vo
1	GC Negativo	112	112	117	122	128
2	GC Negativo	99	111	115	124	128
3	GC Negativo	104	107	112	115	121
4	Grupo Experimental 1	101	106	116	122	127
5	Grupo Experimental 1	96	109	110	118	124
6	Grupo Experimental 1	106	114	115	117	127
7	Grupo Experimental 1	105	109	115	121	125
8	Grupo Experimental 1	102	115	118	121	118
9	Grupo Experimental 2	100	111	115	122	126
10	Grupo Experimental 2	109	109	111	117	123
11	Grupo Experimental 2	107	109	115	116	127
12	Grupo Experimental 2	98	111	106	114	120
13	Grupo Experimental 2	97	108	113	116	121
14	GC Positivo	99	113	111	121	125
15	GC Positivo	104	106	115	119	123
16	GC Positivo	102	109	116	118	120
17	GC Positivo	105	115	118	115	122
18	GC Positivo	110	112	114	115	121

FASE DE INDUCCIÓN: Presión Arterial Media

N°	Grupo Experimental	Presión arterial Media				
		PM Basal	PM7mo	PM14vo	PM21vo	PM28vo
1	GC Negativo	122.00	124.33	130.00	137.33	145.67
2	GC Negativo	114.00	123.33	126.33	138.00	148.33
3	GC Negativo	116.67	121.67	126.00	135.67	141.67
4	Grupo Experimental 1	114.33	121.33	129.33	135.33	144.67
5	Grupo Experimental 1	109.67	119.67	123.33	131.33	143.00
6	Grupo Experimental 1	117.67	124.67	128.33	134.67	147.00
7	Grupo Experimental 1	114.00	119.00	125.00	135.67	142.00
8	Grupo Experimental 1	117.00	129.33	132.67	141.67	142.33
9	Grupo Experimental 2	111.00	120.33	124.67	134.67	143.33
10	Grupo Experimental 2	119.00	122.33	125.00	132.00	140.00
11	Grupo Experimental 2	117.33	122.00	129.00	132.67	143.33
12	Grupo Experimental 2	112.33	125.00	125.00	134.67	139.67
13	Grupo Experimental 2	109.67	121.33	126.33	131.67	138.00
14	GC Positivo	110.00	121.67	124.33	135.33	142.00
15	GC Positivo	117.00	120.33	128.33	136.00	143.00
16	GC Positivo	114.33	121.33	128.67	134.67	140.33
17	GC Positivo	113.67	123.00	131.33	131.33	137.33
18	GC Positivo	119.33	125.00	127.00	132.00	140.33

FASE DE POST INDUCCIÓN: Presión Arterial Sistólica

N	Grupo Experimental	Presión Arterial Sistólica			
		PS7mo	PS14vo	PS21vo	PS28vo
1	GC Negativo	178	170	168	163
2	GC Negativo	187	183	175	169
3	GC Negativo	182	180	175	165
4	Grupo Experimental 1	171	165	159	145
5	Grupo Experimental 1	172	163	155	142
6	Grupo Experimental 1	180	175	161	147
7	Grupo Experimental 1	172	163	157	149
8	Grupo Experimental 1	174	164	156	148
9	Grupo Experimental 2	165	159	151	135
10	Grupo Experimental 2	168	162	150	139
11	Grupo Experimental 2	171	165	158	144
12	Grupo Experimental 2	172	167	149	140
13	Grupo Experimental 2	168	161	153	141
14	GC Positivo	170	135	133	134
15	GC Positivo	175	142	143	140
16	GC Positivo	176	147	141	139
17	GC Positivo	163	135	130	129
18	GC Positivo	170	139	137	138

FASE DE POST INDUCCIÓN: Presión Arterial Diastólica

N	Grupo Experimental	Presión Arterial Diastólica			
		PD7mo	PD14vo	PD21vo	PD28vo
1	GC Negativo	126	121	118	115
2	GC Negativo	125	120	114	110
3	GC Negativo	119	116	112	108
4	Grupo Experimental 1	123	117	112	102
5	Grupo Experimental 1	120	115	105	97
6	Grupo Experimental 1	124	119	112	108
7	Grupo Experimental 1	121	116	113	105
8	Grupo Experimental 1	115	111	110	103
9	Grupo Experimental 2	113	110	108	99
10	Grupo Experimental 2	117	115	112	105
11	Grupo Experimental 2	121	117	114	109
12	Grupo Experimental 2	115	110	107	99
13	Grupo Experimental 2	118	114	109	97
14	GC Positivo	119	100	96	98
15	GC Positivo	117	98	99	97
16	GC Positivo	116	101	100	99
17	GC Positivo	118	104	103	100
18	GC Positivo	115	107	108	103

FASE DE POST INDUCCIÓN: Presión Arterial Media

N	Grupo Experimental	Presión Arterial Media			
		PM7mo	PM14vo	PM21vo	PM28vo
1	GC Negativo	143.33	137.33	134.67	131.00
2	GC Negativo	145.67	141.00	134.33	129.67
3	GC Negativo	140.00	137.33	133.00	127.00
4	Grupo Experimental 1	139.00	133.00	127.67	116.33
5	Grupo Experimental 1	137.33	131.00	121.67	112.00
6	Grupo Experimental 1	142.67	137.67	128.33	121.00
7	Grupo Experimental 1	138.00	131.67	127.67	119.67
8	Grupo Experimental 1	134.67	128.67	125.33	118.00
9	Grupo Experimental 2	130.33	126.33	122.33	111.00
10	Grupo Experimental 2	134.00	130.67	124.67	116.33
11	Grupo Experimental 2	137.67	133.00	128.67	120.67
12	Grupo Experimental 2	134.00	129.00	121.00	112.67
13	Grupo Experimental 2	134.67	129.67	123.67	111.67
14	GC Positivo	136.00	111.67	108.33	110.00
15	GC Positivo	136.33	112.67	113.67	111.33
16	GC Positivo	136.00	116.33	113.67	112.33
17	GC Positivo	133.00	114.33	112.00	109.67
18	GC Positivo	133.33	117.67	117.67	114.67