



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

TESIS

“EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE RAÍZ DE *Waltheria ovata*. Cav. (LUCRACO)  
SOBRE SU ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA”

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICA FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:  
HUGO LEÓN, CARLA SOFÍA

ASESOR:  
Jaramillo Briceño, Marilú R.

LIMA, PERÚ OCTUBRE 2018

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a Dios, quien guía mi camino en todo momento para poder lograr todas mis metas, a mi madre y a toda mi familia por su apoyo constante durante mi etapa universitaria.

### **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a la Universidad Alas Peruanas, a la Universidad San Luis Gonzaga de Ica- Facultad de Agronomía, a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, a la Mg. Jaramillo Briceño Marilú por sus colaboraciones y asesoramientos.

## ÍNDICE

	Pág.
<b>CARATULA</b> .....	i
<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iii
<b>ÍNDICE</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE IMÁGENES</b> .....	vii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	ix
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS</b> .....	x
<b>RESUMEN</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	xiii
 <b>CAPÍTULO I : PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	14
1.2 Problemas de la investigación.....	16
1.2.1 Problema General.....	16
1.2.2 Problemas Específicos.....	16
1.3 Objetivos.....	17
1.3.1 Objetivo General.....	17
1.3.2 Objetivos Específicos.....	17
1.4 Justificación, importancia y limitaciones de la investigación.....	17
1.4.1 Justificación.....	17
1.4.2 Importancia.....	19
1.4.3 Limitaciones.....	19
 <b>CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLE DE LA INVESTIGACIÓN</b>	
2.1 Hipótesis de la investigación.....	20
2.1.1 Hipótesis General.....	20
2.1.2 Hipótesis específicas.....	20
2.2 Variables de la investigación.....	21

2.2.1	Identificación y clasificación de variables.....	21
2.2.1	Operacionalización de variables .....	21

### **CAPÍTULO III: MARCO TEÓRICO**

3.1	Antecedentes de la investigación .....	22
3.1.1	A nivel Nacional .....	22
3.1.2	A nivel Internacional.....	28
3.2	Bases Teóricas.....	32
3.2.1	<i>Waltheria ovata</i> . Cav. (Lucraco).....	32
3.2.2	Mecanismo de la Inflamación.....	35
3.2.3	Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) .....	52
3.2.4	Bioensayos para la determinación de actividad antiinflamatoria.....	59
3.2.5	Tamizaje fitoquímico .....	63
3.3	Definición de términos básicos.....	67

### **CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

4.1	Tipo y Nivel de investigación .....	69
4.1.1	Tipo de investigación .....	69
4.1.2	Nivel de Investigación .....	69
4.2	Método y diseño de la investigación.....	70
4.2.1	Método de investigación .....	70
4.2.2	Diseño de la investigación .....	70
4.3	Población y Muestra de la investigación.....	70
4.3.1	Población .....	70
4.3.2	Muestra .....	70
4.4	Técnicas e instrumentos y procedimiento de la recolección de datos.....	70
4.4.1	Técnicas .....	70
4.4.2	Instrumentos .....	71
4.4.3	Procedimientos .....	71

**CAPÍTULO V: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

5.1 Análisis de tablas y gráficos .....	80
5.2 Discusión de los resultados.....	90
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>94</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>95</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>96</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>102</b>

## ÍNDICE DE IMÁGENES

	Pág.
<b>IMAGEN N° 1:</b> <i>Waltheria ovata</i> . Cav. (Lucraco).....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>FIGURA N° 1:</b> Sistema calicreína-cininas. Estructura y síntesis de cininas.....	42
<b>FIGURA N° 2:</b> Síntesis y metabolismo de la serotonina (5-Hidroxitriptamina).....	48
<b>FIGURA N° 3:</b> Representación esquemática de las influencias locales de la 5-HT de las plaquetas.....	51
<b>FIGURA N° 4:</b> Representación esquemática de la acción de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), glucocorticoide (GC) e inductores de la expresión sobre el COX-1 y COX-2.....	54
<b>FIGURA N° 5:</b> Reacción de Dragendorff.....	64
<b>FIGURA N° 6:</b> Reacción de Mayer.....	64
<b>FIGURA N° 7:</b> Reacción de Tricloruro Férrico.....	65
<b>FIGURA N° 8:</b> Reacción de Shinoda.....	65
<b>FIGURA N° 9:</b> Reacción de Borntrager.....	66



## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>TABLA N° 1:</b> Características de los receptores histaminicos. Autacoides: farmacoterapia de la inflamación...	39
<b>TABLA N° 2:</b> Principales grupos de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).....	53
<b>TABLA N° 3:</b> Esquema de trabajo para evaluar el efecto antiinflamatorio.....	78
<b>TABLA N° 4:</b> Prueba de solubilidad.....	80
<b>TABLA N° 5:</b> Tamizaje fitoquímico.....	81
<b>TABLA N° 6:</b> Estadísticas descriptivas porcentaje de inflamación.....	88

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>GRÁFICO N° 1:</b> Curva de actividad antiinflamatoria del control negativo (NaCl 0.9%) y el control positivo (Ibuprofeno).....	82
<b>GRÁFICO N° 2:</b> Curva de actividad antiinflamatoria del control negativo (NaCl 0.9%) y los extractos etanólicos de raíz de <i>Waltheria ovata Cav.</i> al 10% (100mg/kg) y 20 % (250mg/kg).....	83
<b>GRÁFICO N° 3:</b> Curva de actividad antiinflamatoria del control positivo (Ibuprofeno) y los extractos etanólicos de raíz de <i>Waltheria ovata Cav.</i> al 10% (100mg/kg) y 20 % (250mg/kg).....	84
<b>GRÁFICO N° 4:</b> Curva de actividad antiinflamatoria del control negativo (NaCl 0.9%), control positivo (Ibuprofeno) y los extractos etanólicos de raíz de <i>Waltheria ovata Cav.</i> al 10% (100mg/kg) y 20 % (250mg/kg).....	85
<b>GRÁFICO N° 5:</b> Evolución del porcentaje de inflamación promedio por hora .....	86
<b>GRÁFICO N° 6:</b> Evolución del porcentaje de inhibición del proceso inflamatorio por hora.....	87

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el efecto de la concentración del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria. **Metodología:** Se recolectó la raíz de *Waltheria ovata*. Cav. de la provincia de Ica, departamento de Ica a 826 m.s.n.m, fue secado, triturado y macerado en alcohol etílico 70%. Al que se realizó la prueba de solubilidad y tamizaje fitoquímico mediante reacciones de coloración y precipitación. Se establecieron 4 grupos de 5 ratas: control negativo (NaCl al 0.9%), control positivo (ibuprofeno 10mg/kg) y se utilizó extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% (Dosis:100mg/Kg) y 20% (Dosis: 250mg/kg) todos administrados por sonda orogástrica a ratas cepa Holtzman para determinar el efecto antiinflamatorio a través del bioensayo del edema plantar inducido con albumina al 1%. **Resultados:** Se obtuvo como resultado que el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 20% presenta un porcentaje de inhibición de la inflamación al cabo de 6 horas de 54% siendo esta mayor al extracto de 10% con un 53%. El tamizaje fitoquímico reveló la presencia de carbohidratos, compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas, taninos y quinonas, en la prueba de solubilidad el extracto etanólico fue soluble en agua e insoluble en éter etílico, benceno y cloroformo. **Conclusión:** Se concluye que los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% y 20% presentan actividad antiinflamatoria, de las cuales siendo la más óptima para contrarrestar la inflamación el extracto al 20% a una dosis de 250mg/kg, en comparación con el extracto etanólico 10% (Dosis:100mg/Kg) y el ibuprofeno 10mg/kg, así mismo su contenido en metabolitos es variado siendo significativa la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos a los cuales se les confiere las propiedades antiinflamatorias por la captación de radicales libres en los procesos inflamatorios.

**Palabras clave:** Actividad antiinflamatoria, *Waltheria ovata* Cav., extracto etanólico.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the effect of the concentration of the ethanolic root extract of *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) about its anti-inflammatory activity. **Methodology:** The root of *Waltheria ovata* was collected. Cav. from the province of Ica, department of Ica to 826 m.s.n.m, was dried, crushed and macerated in 70% ethyl alcohol. To which was carried out the solubility test and phytochemical screening by means of coloration and precipitation reactions. Four groups of 5 rats were established: negative control (0.9% NaCl), positive control (ibuprofen 10mg / kg) and ethanolic root extracts of *Waltheria ovata*. Cav. to 10% (Dose: 100mg / Kg) and 20% (Dose: 250mg / kg) all administered by orogastric tube to rat Holtzman strain to determine the anti-inflammatory effect through the bioassay of the plantar edema induced with 1% albumin. **Results:** The ethanolic root extract of *Waltheria ovata* was obtained as a result. Cav. at 20% it has a percentage of inhibition of inflammation after 6 hours of 54%, this being greater than the extract of 10% with 53%. The phytochemical screening revealed the presence of carbohydrates, phenolic compounds, flavonoids, saponins, tannins and quinones, in the solubility test the ethanolic extract was soluble in water and insoluble in ethyl ether, benzene and chloroform. **Conclusion:** It is concluded that the ethanolic root extracts of *Waltheria ovata*. Cav. 10% and 20% have anti-inflammatory activity, of which the 20% extract at a dose of 250 mg / kg is the most optimal to counteract the inflammation, compared to the 10% ethanolic extract (Dose: 100 mg / kg) and ibuprofen 10mg / kg, likewise its content in metabolites is varied being significant the presence of flavonoids and phenolic compounds to which the anti-inflammatory properties are conferred by the uptake of free radicals in inflammatory processes.

**Key words:** Anti-inflammatory activity, *Waltheria ovata* Cav., Ethanolic extract.

## INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define como medicina tradicional al conjunto de conocimientos, actitudes y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, un concepto de suma significancia ya que somos un país con una amplia biodiversidad en flora y fauna.

La medicina tradicional forma parte importante de la historia y de la cultura de los pueblos, dentro de ella se encuentran los medicamentos herbarios preparaciones que tienen como principio activo metabolitos o partes de un recurso vegetal cuyas acciones farmacológicas no se encuentran totalmente estudiadas.

*Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) es una planta medicinal cuyas bondades son ampliamente conocidas en distintos departamentos del país como Ica, Huánuco, Tacna, La Libertad y otros. La población le atribuye propiedades medicinales a nivel genitourinario, gastrointestinales y próstata importante para el desarrollo de fitofármacos. Las investigaciones realizadas en la Industria Farmacéutica de los recursos vegetales contribuyen al aislamiento de nuevas moléculas farmacológicamente activas y al desarrollo de nuevos fármacos.

Así mismo, es importante que los profesionales de la salud promuevan el uso racional de los medicamentos y de esta manera contribuyan a la reducción de las reacciones adversas que se presentan por la automedicación con Antiinflamatorios no Esteroideos (AINEs).

El presente proyecto de investigación tiene como objetivo determinar el efecto de la concentración del extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria, además se realizará el tamizaje fitoquímico para identificar sus metabolitos secundarios y aportar de esta manera mayor información sobre dicho recurso vegetal.

## **CAPÍTULO I**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.1 Descripción de la Realidad Problemática**

La medicina tradicional es parte importante en nuestro país, uno de sus pilares es utilizar recursos naturales para poder aliviar signos y síntomas característicos de una enfermedad, dicha información ha sido transmitida de una generación a otra de forma empírica siendo respaldada posteriormente con estudios científicos y fuentes de información confiables. El avance de la industria farmacéutica se basa en ensayos preclínicos y clínicos que comprueben las propiedades terapéuticas de dichos recursos naturales porque son la fuente de nuevas moléculas para la elaboración de fármacos innovadores.

Sin embargo, la automedicación entendiéndose como el consumo de medicamentos de forma irracional se ha ido incrementando en los últimos años, adoptando la utilización de medicamentos de forma excesiva o indebida sin tomar las precauciones necesarias en cuanto a su administración, dosis del fármaco entre otros factores importantes que pueden tener grandes repercusiones en la salud de las personas ocasionando efectos no deseados o reacciones adversas. En el Perú dentro de los medicamentos que se consumen más frecuentemente en forma indiscriminada son los antiinflamatorios ya que pueden ser adquiridos sin restricción alguna.

Según la encuesta relámpago LinkQ de Kantar Worldpanel realizado en octubre 2017 sobre los medicamentos de venta libre (OTC) el 95% de los peruanos afirma automedicarse, del total de los encuestados el 61% declaró la compra de analgésicos y antiinflamatorios encontrándose en el segundo lugar después de los antigripales que presentan dentro de su composición estos mismos medicamentos.<sup>1</sup>

En el estudio realizado por Alegría J. Prevalencia del Uso de Antiinflamatorios No Esteroideos en la Población del Centro Poblado Año Nuevo de Comas en el 2014 de las 191 personas encuestadas, el 89% consumía AINES, la forma farmacéutica más frecuente fueron tabletas con 62,9%, los medicamentos de mayor uso fueron genéricos en un 54% y de ellos el más utilizado es el paracetamol 30,8%.<sup>2</sup>

Por otro lado de enero a setiembre del 2017 el Seguro Integral de Salud (SIS) contaba con 16 millones 762 mil asegurados un equivalente al 45% de la población total del país, tras analizar los 6 millones 935 mil atenciones determinó cuales eran las 10 enfermedades que aquejaban más a los peruanos encontrándose en primer lugar faringitis aguda y amigdalitis, seguida de infecciones en vías respiratorias (rinofaringitis, sinusitis, laringitis obstructiva, etc.), continuando con caries, enfermedades urinarias producidas por bacterias, trastornos de dientes y estructuras de soporte, dorsopatías, traumatismo, gastritis y duodenitis; síntomas, signos y hallazgos anormales clínicos y de laboratorio (dolencias no específicas de una enfermedad), por ultimo diarreas y gastroenteritis<sup>3</sup> muchas de las cuales cursan con signos inflamatorios incrementando la probabilidad de que antes de asistir a una consulta médica se hallan automedicado.

Con el desarrollo de la presente tesis se desea contribuir al conocimiento de plantas medicinales entre ellas *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco), ya que de comprobarse sus propiedades antiinflamatorias se contaría con información científica que respaldaría su uso tradicional, posteriormente se podrían realizar estudios para descartar algún tipo de toxicidad, de las estructura en cuanto a sus metabolitos, entre otros que aseguren y respalden las propiedades atribuidas.

## **1.2 Problemas de la investigación**

### **1.2.1 Problema General**

¿Cuál es el efecto de la concentración del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria?

### **1.2.2 Problemas Específicos**

- **P.E.1:** ¿Cuál es el efecto de la concentración al 10% del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria?
- **P.E.2:** ¿Cuál es el efecto de la concentración al 20% del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria?
- **P.E.3:** ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios que contiene el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco)?
- **P.E.4:** ¿Cuál de las dos concentraciones de extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata* Cav. tendrá mayor actividad antiinflamatoria?



## 1.3 Objetivos

### 1.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto de la concentración del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria.

### 1.3.2 Objetivos Específicos

- **O.E.1:** Determinar el efecto de la concentración al 10% del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria.
- **O.E.2:** Determinar el efecto de la concentración al 20% del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria.
- **O.E.3:** Identificar los metabolitos secundarios contenidos en el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco).
- **O.E.4:** Determinar cuál de las dos concentraciones de extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. tiene mayor actividad antiinflamatoria.

## 1.4 Justificación, importancia y limitaciones de la investigación

### 1.4.1 Justificación

La atención primaria de salud de los países en desarrollo el 80% de la población se basa en la medicina tradicional, por tradición cultural firmemente arraigada o porque no existen los medios necesarios para solventar un tratamiento. En la actualidad en muchos países las personas recurren a diversos tipos de remedios naturales porque consideran que “natural” es sinónimo de inocuidad.<sup>4</sup>

Sin embargo a medida que aumenta el uso de las medicinas tradicionales, también aumenta el número de informes sobre reacciones adversas <sup>4</sup>, es por ello que investigaciones y estudios científicos sobre plantas medicinales es sumamente importante en la salud de los pacientes, puesto que no está bien establecido las dosis, frecuencias, posibles interacciones con fármacos o alimentos, la estabilidad de los metabolitos presentes, entre otras características que se deben tener en cuenta, lo cual genera un riesgo para la población.

La OMS apoya el uso de las medicinas tradicionales y alternativas cuando éstas han demostrado su utilidad para el paciente y representan un riesgo mínimo, declarado por el fallecido Director General de la OMS Dr. LEE Jong-wook pero a medida que aumenta el número de personas que utilizan esas medicinas, los gobiernos deben contar con instrumentos para garantizar que todos los interesados dispongan de la mejor información sobre sus beneficios y riesgos.<sup>4</sup>

Actualmente en el Perú hay un alto porcentaje de automedicación sobre todo por el consumo de los Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs) los que causan reacciones adversas a nivel gástrico, hepático y renal, pero a la vez poseemos una gran biodiversidad en cuanto a nuestra flora es por ello que debemos apreciarla y protegerla, realizando investigaciones científicas que validen el uso tradicional de nuestros recursos vegetales y permitan conocer más a detalle asegurando su eficacia y seguridad.

#### **1.4.2 Importancia**

El desarrollo de la presente investigación permitirá comprobar si *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) presenta actividad antiinflamatoria, de esta manera contar con información más robusta sobre dicha planta medicinal lo que permitirá contribuir como fuente de información para futuros proyectos. Además debemos contribuir al uso sostenible y sustentable de nuestros recursos naturales para promover el uso racional de los preparados Fitoterapéuticos.

Por otro lado los Químicos Farmacéuticos como profesionales de la salud debemos promover la medicina tradicional para utilizarla como tratamiento complementario de las diversas patologías, contribuyendo a disminuir el consumo de medicamentos sintéticos, evitando de esta manera las reacciones adversas medicamentosas (RAM) por el uso indiscriminado de Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs).

#### **1.4.3 Limitaciones**

La obtención de la muestra de *Waltheria ovata*. Cav. fue una limitación puesto que no se pudo contar con la persona que apoyaría en la extracción del recurso vegetal en la fecha pactada por lo que se tuvo que coordinar una fecha posterior para la extracción y asegurar a su vez el correcto transporte a la ciudad de lima viajando en dos oportunidades a Ica, originando una extensión del tiempo de recolección.

## CAPÍTULO II

### HIPÓTESIS Y VARIABLE DE LA INVESTIGACIÓN

#### 2.1 Hipótesis de la investigación

##### 2.1.1 Hipótesis General

La concentración del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) modifica su actividad antiinflamatoria.

##### 2.1.2 Hipótesis específicas

- **H.E.1:** La concentración al 10% del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) modifica su actividad antiinflamatoria.
- **H.E.2:** La concentración al 20% del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) modifica su actividad antiinflamatoria.
- **H.E.3:** Los metabolitos secundarios contenidos en el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) presentan actividad antiinflamatoria.
- **H.E.4:** El extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 20% presenta mayor actividad antiinflamatoria.

## 2.2 Variables de la investigación

### 2.2.1 Identificación y clasificación de variables

IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES	CLASIFICACIÓN DE VARIABLES
Efecto de la concentración del Extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i> . Cav. (Lucraco).	VARIABLE INDEPENDIENTE
Actividad antiinflamatoria	VARIABLE DEPENDIENTE

### 2.2.1 Operacionalización de variables

VARIABLE	CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
Efecto de la concentración del Extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i> . Cav (Lucraco).	Preparado de consistencia líquida a partir de una cantidad de la droga vegetal seca en 100ml de solvente.	Concentración adecuada para reducir la inflamación.	Concentración al 10%	g/100mL
			Concentración al 20%	g/100mL
Actividad antiinflamatoria	Propiedad para contrarrestar los diversos mecanismos de la inflamación.	Reducción del volumen de inflamación	Porcentaje de inhibición de la inflamación	%

## CAPÍTULO III

### MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Antecedentes de la investigación

##### 3.1.1 A nivel Nacional

La investigación realizada por Herrera O., Enciso E., Pari B., Arroyo J. **PHYTOCHEMICAL SCREENING, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ANALGESIC EFFECT OF *Waltheria ovata* Cav. ROOTS IN MICE**, 2016, estudio realizado por Asian Pacific Journal of Tropical Disease. Los objetivos de la presente investigación fueron realizar el tamizaje fitoquímico, determinar la actividad antioxidante y el efecto analgésico del extracto etanólico crudo de la raíz de *Waltheria ovata* Cav. en ratones. Se realizó el tamizaje fitoquímico mediante reacciones de coloración y precipitación, la evaluación de la actividad antioxidante y el contenido fenólico total se halló utilizando el método del DPPH y el reactivo de Folin-Ciocalteu respectivamente. El efecto analgésico fue determinado por el ensayo de ácido acético y formalina a diferentes dosis de *Walteria ovata* Cav. 50, 150, 300 y 500 mg/kg p.o. Los resultados en el tamizaje fitoquímico reportan la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas, terpenoides y esteroides. La actividad antioxidante mostró un 25% para 0,1 µg /ml y fue significativamente mayor (P <0,01)

que el trolox y la vitamina C, mientras tanto, el total Fenólico (equivalentes de ácido gálico) fue de 2200 mg/g de extracto seco. *Walteria ovata Cav.* demostró un efecto analgésico independiente en diferentes modelos experimentales, como ácido acético (72,51%,  $P < 0,01$ ) y formalina (primera fase: 58,6%,  $P < 0,01$ , segunda fase: 91,5%,  $P < 0,01$ , respectivamente). A una dosis de 300 mg/kg de *Walteria ovata Cav.*, similar efecto al diclofenaco (5mg/kg) y a la morfina (30 mg/kg) respectivamente. Concluyendo que el extracto etanólico crudo de la raíz de *Walteria ovata Cav.* presenta una fuerte actividad antioxidante y alto contenido fenólico. El efecto analgésico se demostró en dos modelos experimentales de dolor implicando que ambos mecanismos periférico y central estaban involucrados esto puede deberse a la presencia de diversos fitoquímicos en el extracto.<sup>5</sup>

En la investigación realizada por Diaz H. **ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL LÁTEX DE *Argemone mexicana* (“CARDO SANTO”)**, 2016, Tesis para optar al título profesional de Química Farmacéutica en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El presente estudio tuvo como objetivos determinar la actividad antiinflamatoria y antioxidante, evaluar la seguridad determinando la DL50 y el test de irritación ocular del extracto hidroalcohólico del látex de *A. mexicana*. La metodología empleada fue la prueba de solubilidad mediante el empleo de diferentes solventes, tamizaje fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante in vitro mediante la neutralización del radical del DPPH, método del edema pedal inducido por Carragenina en ratas hembras Sprague Dawley, determinación de la DL50 por vía oral en ratones Balb/c y el test de irritación ocular en conejos Nueva

Zelanda. Los resultados indicaron que el extracto hidroalcohólico del látex de *A. mexicana* es mayormente soluble en agua, N-Hexano y metanol, poco soluble en acetona, cloroformo, butanol y etanol, insoluble en éter de petróleo, benceno y acetato de etilo. El extracto hidroalcohólico del látex de *A. mexicana* presento metabolitos secundarios como carbohidratos, fenoles, taninos, aminoácidos y grupos aminos, flavonoides, quinonas, alcaloides, leucoantocianidinas y glicósidos. Se obtuvo que el porcentaje de captación de los radicales libres a 15, 20, 50, 75 y 100 µg/mL fueron de 59.38%, 63.64%, 81.62%, 89.75% y 91.20% respectivamente. El porcentaje de eficacia antiinflamatoria para los controles positivos dexametasona y diclofenaco fueron de 55.57% y 77.62% respectivamente, los extracto hidroalcohólico del látex de *A. mexicana* a una concentración de 200, 400, 600 y 800 mg/Kg fueron de 63.47%, 49.00%, 46.55% y 45.18% respectivamente. Se procedió a evaluar la DL50 a dosis de 20 000, 2500, 250, 25 y 2.5 mg/Kg, no hubo mortalidad a ninguna de las dosis probada, pero si se observó a la dosis de 20 000 mg/ kg debilidad muscular y movimientos lentos que desaparecieron a las 8 horas. El test de Irritación ocular se trabajó con diluciones de 1/10 y 1/5 afectando la córnea y conjuntiva solo a la primera hora de aplicación sumando 15 puntos entre los 3 conejos dando un índice de irritación ocular de 1.25. Por los que se concluye que el extracto hidroalcohólico del látex de *A. mexicana* posee una mayor una mayor actividad antioxidante a 100 µg/mL, la dosis más efectiva para contrarrestar la inflamación es de 200mg/Kg, la DL50 del extracto hidroalcohólico del látex de *A. mexicana* seria mayor a 20g/kg y el extracto hidroalcohólico del látex de *A. mexicana*, así como el látex puro no produce irritación ocular.<sup>6</sup>



La investigación realizada por Herrera, O. **EFFECTO ANTIOXIDANTE Y ANTITUMORAL IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ DE *Waltheria ovata* Cav. "LUCRACO" EN LÍNEA CELULAR DE CÁNCER DE PRÓSTATA DU-145**, 2014, tesis para optar al Grado Académico de Magister en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antioxidante y antitumoral *in vitro* del extracto etanólico sobre la línea celular de cáncer de próstata DU-145, evaluar los metabolitos secundarios, evaluar la seguridad del extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata* Cav. "Lucraco". Se determinó el efecto antitumoral mediante el ensayo de coloración con Sulforodamina B (SRB), cuantificación de polifenoles totales, ensayos de captación del radical mediante el DPPH, FRAP y ABTS, tamizaje fitoquímico, determinación de la DL50 en ratas a dosis repetidas por 28 días y en ratones a dosis única con observación de 14 días. Los resultados evidenciaron que el extracto obtenido de la raíz no mostró actividad citotóxica frente a la línea celular DU-145 con un GI50 > 250 µg/mL sin llegar a superar al 5-Fluro-uracilo (compuesto puro) con GI50 de 0,93 ± 0,05 µg/mL, también posee gran cantidad de compuestos fenólicos con un valor de 2250 mgEAG/g extracto, en la determinación de la actividad antioxidante el extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata* Cav. "Lucraco" presento un mayor porcentaje de reducción del radical DPPH con 70.04%, Ion Fe +3/Fe+2 con 88.00% y ABTS con 96.56% frente al trolox y la vitamina, se demostró que el extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata* Cav. "Lucraco" contiene grupos aminos libres, compuestos fenólicos,

flavonoides, quinonas, triterpenos y esteroides y saponinas C. En el ensayo de toxicidad oral no evidenció muertes durante los 14 días de evaluación ni signos clínicos de toxicidad a nivel bioquímico y hematológico durante los 28 días. Por lo que se concluye que el extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata* Cav. “Lucraco” no presentó citotoxicidad sobre la línea celular tumoral humana DU-145 de adenocarcinoma de próstata, sin embargo presenta una alta cantidad de polifenoles por gramo de extracto, presenta efecto antioxidante in vitro al requerir concentraciones muy bajas para reducir el radical DPPH, FRAP y ABTS+, no presentó signos de toxicidad ni muerte en los ratones observados por 14 días que recibieron dosis única de 2000 mg/Kg ni en las ratas tratadas por 28 días a 100 y 200 mg/Kg.<sup>7</sup>

En la investigación realizada por Ramírez E. **ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA E INMUNOMODULADORA DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO DE LAS HOJAS DE *Chuquiraga lessing* “HUAMANPINTA”**, 2014, tesis para optar al Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los objetivos de la presente investigación fueron determinar la actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* “huamanpinta”, determinar la actividad antioxidante, identificar los metabolitos secundarios presentes, elucidar la estructura química de algunos metabolitos secundarios, determinar la toxicidad del extracto de las hojas de *Chuquiraga lessing* “huamanpinta. Se emplearon las siguientes metodologías como el método del edema subplantar según Winter y el test de granuloma según Sedwick inducido por carragenina, método de velocidad de aclaramiento de la tinta china,

método del DPPH, tamizaje fitoquímico, Cromatografía en capa fina y espectrofotometría UV para determinar la estructura química, Toxicidad aguda a dosis única de 2000 mg/kg de peso durante 14 días. Los extractos clorofórmicos de las hojas de *Chuquiraga lessing* "huamanpinta" a dosis de 100, 200 y 300mg/kg en un lapso de 7 horas presentaron eficiencia antiinflamatoria de 26.6%, 32.9% y 38.6% respectivamente siendo menor en comparación con los estándares Ibuprofeno (41.7%) y prednisona (41.8%). la actividad antiinflamatoria en procesos crónicos por inducción de granuloma con carragenina tanto los controles positivos ibuprofeno y prednisona y los extractos presentan una disminución significativa de los valores de Malondialdehído (MDA), proteínas totales y albumina frente al control negativo que no llevo tratamiento alguno. El extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* "huamanpinta" a las concentraciones de 50, 100, 200 y 300 µg/mL tuvo como resultado la reducción del radical DPPH en 30.2, 49.9, 72.0 y 86.4 % respectivamente, comparados frente al Trolox con capacidad antioxidante de 44.3, 51.5, 74.0 y 85.7%. Los resultados evidencian una mayor captación de la tinta china empleada como un agente cromóforo en los extractos de 200 mg/kg y 300 mg/kg en un 48.23 % y 46.78 %. Se identificaron los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, triterpenos, esteroides, alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, lactonas sesquiterpénicas, antronas, principios amargos y astringentes. En la evaluación de toxicidad no se registró la aparición de síntomas, se controló el peso corporal durante los 14 días siendo normales y la necropsia no arrojó ninguna alteración macroscópica de los órganos y tejidos examinados. Se caracterizó la estructura química de los siguientes flavonoides: 5,6,7-trihidroxi-4'-metoxiflavona;

3',5,6,7-tetrahidroxi-4'-metoxiflavona; 4',5,7,8-tetrahidroxiflavona; 5,7,8-trihidroxi-4'-metoxiflavona. Se concluye que la DL50 estaría sobre 2000 mg/kg peso corporal, considerándose el extracto como No Clasificado (no tóxico). La mayor actividad antioxidante del extracto *in vitro* fue de 86.4% a una concentración de 300 µg/mL e *in vivo* aumentó la actividad de las enzimas antioxidantes CAT (2146.8 UI/ml sangre), SOD (10.12 UI/ml sangre) y redujo la lipoperoxidación como MDA (3.6 µmol/ml sangre). El extracto presentó la mayor actividad antiinflamatoria a las dosis de 300 mg/kg (39.1 %) y 200 mg/kg de peso (32.7%); y una eficiencia Inmunomoduladora de 48.23% (200 mg/kg) y de 46.78% (300 mg/kg) respectivamente ( $p < 0,05$ ).<sup>8</sup>

### 3.1.2 A nivel Internacional

La investigación realizada por Zongo F, Ribuo C, Boumendjel A, Guissou I. **BOTANY, TRADITIONAL USES, PHYTOCHEMISTRY AND PHARMACOLOGY OF WALTHERIA INDICA L. (SYN. WALTHERIA AMERICANA): A REVIEW**, 2013, estudio realizado por Journal of Ethnopharmacology 148. El objetivo de la presente investigación fue proporcionar una visión actualizada de la botánica, la fitoquímica, los usos tradicionales, las actividades farmacológicas y los datos de toxicidad de *Waltheria indica* basados en la evidencia proporcionada por diversas investigaciones en varios países. Se basó en la recopilación de información de revistas científicas, libros, tesis, informes y búsqueda electrónica como Pubmed, Web of Science, Portal de Portales-Latindex, Science Research publicados en diferentes idiomas. La presente investigación muestra a detalle las partes utilizadas del recurso vegetal principalmente las raíces y las hojas, los diferentes preparados hechos a base de *Waltheria indica* o en conjunto con otras plantas

medicinales como infusiones, decocciones, jugos, maceraciones y en polvo, también nos resume los modelos experimentales utilizados en animales para determinar cada una de las propiedades que se le atribuye a *Waltheria indica* entre ellas para actividad analgésica (inducción con ácido acético), actividad antiinflamatoria (edema plantar con carragenina, lipopolisacárido (LPS) e interferón (IFN) activada por la murina de macrófagos peritoneales in vitro, medida de la producción NO por la reacción Griess y TNF- $\alpha$  e IL-12 por ELISA), actividad antibacteriana (frente a *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus viridians*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella spp*), actividad antifúngica (frente a *Aspegillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*), actividad antioxidante (técnica de DDPH). Los metabolitos encontrados en las diversas investigaciones son alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides, terpenos, glucósidos cardiotónicos, saponinas, antraquinonas, carbohidratos y mucilagos. Está comprobada mediante diversas investigaciones científicas las propiedades de *Waltheria indica*, el tamizaje fitoquímico indican un mayor estudio de los flavonoides los cuales se encuentran distribuidos en la planta entera, Los estudios de toxicidad aguda en animales indicaron que *Waltheria indica* puede ser tóxico sin embargo no indican una dosis establecida.<sup>9</sup>

En la investigación realizada por Santamaría L. **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTOS DE VERDOLAGA (*Portulaca oleracea*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON EDEMA INDUCIDO POR CARRAGENINA EN EL BIOTERIO ESPOCH”**, 2011, tesis para optar al título de Bioquímico Farmacéutico en la Escuela

Superior Politécnica de Chimborazo - ECUADOR. Los objetivos fueron evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos de verdolaga en ratas con edema inducido por carragenina, determinar los parámetros de calidad del recurso vegetal, determinar los parámetros de calidad en el extracto etanólico. Se empleó el modelo de edema plantar inducido por carragenina en las ratas, tamizaje fitoquímico, cromatografía de capa fina para el análisis cualitativo, determinación de humedad, cenizas totales, sustancias solubles e insolubles, pH, índice de refracción, sólidos totales. Los extractos de verdolaga (*Portulaca oleracea*) a una dosis de 250 y 350 mg/kg presentan un porcentaje de inflamación menor con 58% y 74% respectivamente frente a Indometacina 25mg/kg (38%) y el extracto de 500 mg/kg (40%), lo cual indica que el extracto a una dosis de 500 mg/kg es la que más se asemeja al control positivo. El tamizaje fitoquímico demostró la presencia de alcaloides, catequinas, flavonoides, saponinas, taninos, aminoácidos, antocianidinas, azúcares reductores y mucílagos, control de calidad al recurso vegetal contiene abundante agua con un 84.54% de humedad, humedad residual de 4.82%, cenizas totales se obtuvo 4.92%, sustancias solubles 0.99% e insolubles 2.26%. En el control de calidad realizado al extracto etanólico se determinó una densidad relativa de 0.957 g/mL, un índice de refracción de 1.358, el pH fue 5.79 y los sólidos totales 1.27%. La cromatografía de capa fina evidenció dos manchas definidas de color morado pasando a marrón identificando el flavonoide quercetina. Se concluye que la concentración de 500mg/kg mostró una mayor actividad antiinflamatoria siendo la dosis más adecuada, las pruebas realizadas para determinar los controles de calidad para el recurso vegetal como para el extracto etanólico de verdolaga (*Portulaca oleracea*) se

encontraban dentro de los valores referenciales establecidos.<sup>10</sup>

En la investigación realizada por Velásquez E. **VALIDACIÓN FARMACOLÓGICA DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LAS INFUSIONES ACUOSAS DE LAS HOJAS DE *Buddleja americana* L. (SALVIA SANTA), HOJAS DE *Eupatorium semialatum* (BACCHÉ), Y HOJAS DE *Psidium guajava* L. (GUAYABA) EN RATAS HEMBRAS ALBINAS. GUATEMALA**, 2008, tesis para optar al título de Química Farmacéutica en la Universidad de San Carlos de Guatemala. La presente investigación tuvo por objetivos validar las propiedades farmacológicas atribuidas a plantas medicinales de uso popular en Guatemala, evaluar la actividad antiinflamatoria de las infusiones acuosas de las hojas de *Buddleja americana*, *Eupatorium semialatum* y *Psidium guajava* L, determinar la dosis letal media DL50 de las infusiones. Se empleó el método descrito por Winter y Robin para determinar la actividad antiinflamatoria, método de Sperman y Karber para determinar la DL50. los extractos de *Buddleja americana* L. a dosis 750 y 1000 mg/kg presentan un porcentaje de inflamación de 61.50% y 50.77% y el control positivo Fenilbutazona de 31.90%; los extractos de *Eupatorium semialatum* a dosis 750 y 1000 mg/kg presentan un porcentaje de inflamación de 32.65% y 22.10% y el control positivo Fenilbutazona de 15.79%; los extractos de *Psidium guajava* L. a dosis 750 y 1000 mg/kg presentan un porcentaje de inflamación de 46.86% y 42.28% y el control positivo Fenilbutazona de 22.70%. La toxicidad aguda de la infusión acuosa de las hojas de *Buddleja americana*, a dosis de 1 a 5 g/Kg no mostró ningún signo precursor de muerte, así también los estudios toxicológicos para *Eupatorium semialatum* el extracto acuoso de la planta demostró un buen margen de

seguridad a dosis de 0.2 a 6.4 g/kg. El recurso vegetal *Eupatorium semialatum* presento actividad antiinflamatoria en ambas concentraciones, mientras que las plantas *Buddleja americana L* y *Psidium guajava L* solo presentaron actividad antiinflamatoria con la dosis de 1000mg/kg. Las infusiones acuosas al 10% de las hojas de *Buddleja americana*, hoja y corteza de *Psidium guajava L*. no presentaron toxicidad aguda hasta una dosis de 5 g/Kg de peso y el extracto acuoso de la hoja de *Eupatorium semialatum* no presento toxicidad aguda hasta una dosis de 6.4 g/Kg de peso.<sup>11</sup>

### 3.2 Bases Teóricas

#### 3.2.1 *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco)

- TAXONOMÍA:

Según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: MALVALES

FAMILIA: STERCULIACEAE

GENERO: *Waltheria*

ESPECIE: ***Waltheria ovata***. Cav.<sup>7</sup>





**IMAGEN N° 1:** *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco).

Fuente: Claudia Luthi, Fotógrafa y Conservacionista, editora blog. PERÚCONICA CONSERVAMOS ICA.

### **Descripción botánica de la familia Sterculiaceae.**

La familia Sterculiaceae, en la actualidad, comprende aproximadamente más de 50 géneros y 1500 especies, distribuidas entre árboles y arbustos que presentan flores hermafroditas o unisexuales apétalas y asépalas. Esta familia de plantas se puede encontrar en los países tropicales y subtropicales.<sup>7</sup>

### **Especies relacionadas**

- *Waltheria indica* L.

Se realizó un estudio florístico en la provincia de Concepción-Junín en altitudes comprendidas entre 2500 y 4000 msnm en el cual se encontró la planta *Waltheria indica* L. describiéndolo como un arbusto de 50 – 80 cm de alto, tomentoso con pelos estrellados, hojas alternas, simples pecioladas, peciolo 7-10

mm de largo, margen aserrado, ápice agudo, envés más pubescente que el haz. Flores actinomorfas, 5 sépalos, 5 pétalos libres amarillos, 5 estambres, ovario pentacarpelar, unilocular, uniovular.<sup>9, 12, 13, 14, 15.</sup>

*Waltheria indica* L. se utiliza habitualmente en la medicina tradicional en África, América del Sur, América del Norte y Hawái, principalmente contra el dolor, las condiciones de inflamación, diarrea, disentería, conjuntivitis, heridas, abscesos, epilepsia, convulsiones, anemia, disfunción eréctil, problemas de vejiga y asma.<sup>9, 14, 15, 16</sup>

Una investigación demostró que *Waltheria indica* L. posee actividad antidiabética y antioxidante sugiriendo su uso en el tratamiento de diabetes mellitus. Shai *et al* reportaron que *Waltheria indica* L. tiene actividad inhibitoria de 60% para la enzima  $\alpha$ -glucosidasa y posee buena actividad antioxidante.<sup>17</sup>

Se indicó que las extracciones etanólicas y metanólicas de raíz de *Waltheria indica* L. posee grandes propiedades antibacterianas. Los resultados mostraron que inhibió a bacterias como *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Alcaligenes faecalis*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella flexneri* validando el uso etnofarmacológico.<sup>14, 16, 18.</sup>

Los constituyentes químicos que se identificaron en estos extractos fueron alcaloides, flavonoides (epicatequina, tilirosido, quercetina, kaempferol), esteroides, terpenos, glicósidos cardíacos, saponinas, antraquinonas y carbohidratos. Asimismo, estudios han revelado que la mayoría de estos compuestos se obtienen principalmente de extractos utilizando la planta completa.<sup>14, 16.</sup>

- *Waltheria ovata*. Cav.

Dentro de la contribución de conocimiento en cuanto a la composición florística de los departamentos de Huánuco, Moquegua, La Libertad, Ica, Tacna, Cajamarca y Piura se encuentra *Waltheria ovata*. Cav. conocida también por los siguientes nombres comunes: Lucraco, membrillejo, palo negro, negrillo, ancoacha cimarrona. Con propiedades a nivel genitourinario y próstata, desordenes gastrointestinales, antioxidante, diarrea y cefalea.<sup>12, 19, 20, 21, 22, 23.</sup>

Clasificándola como arbusto de 1-2 m de altura, tallo piloso con abundantes ramificaciones largas desde la base, hojas medianas de color verde opaco, simple, alternas, pecioladas, dentada, forma ovalada y flores pequeñas de color amarillo, extendido por las regiones tropicales donde frecuente cultivos y tierras abandonadas o alteradas, lugares rocosos, bordes de caminos, terrenos arenosos y arcilloso-pedregoso, ubicados entre los 70 – 1500 m.s.n.m.<sup>12, 22</sup>

En las investigaciones por Herrera *et al*<sup>5, 7</sup> en el tamizaje fitoquímico se obtuvieron metabolitos secundarios como flavonoides, quinonas, compuestos fenólicos, saponinas, terpenos , esteroide y taninos.

### **3.2.2 Mecanismo de la Inflamación**

La inflamación es la respuesta del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por cualquier agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. La inflamación es normalmente una respuesta reparadora, un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica.<sup>24, 25, 26.</sup>

## **Tipos de agresores o noxas**

- **Biológicos:** Bacterias, virus, hongos, parásitos.
- **Químicos:** productos industriales, ácidos y álcalis, artículos de uso personal (lociones, cosméticos, desodorantes, etc.), artículos de uso doméstico (detergentes, insecticidas, etc.), aditivos alimenticios (colorantes, saborizantes, conservadores, etc.), medicamentos, alcohol, tabaco, etc.
- **Físicos:** Principalmente los relacionados con traumatismos, cirugías, quemaduras y radiaciones.<sup>25, 26</sup>

La inflamación es una respuesta rápida y ampliada, controlada humoral y celularmente (complemento, cininas, coagulación y cascada fibrinolítica) y desencadenada por la activación conjunta de fagocitos y células endoteliales. Es una respuesta beneficiosa si el proceso inflamatorio mantiene un equilibrio entre células y mediadores.<sup>26</sup>

Aparece vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, activación/adhesión celular e hipercoagulabilidad. Los cambios hemodinámicos producen los cuatro síntomas clásicos asociados a la inflamación local: rubor (eritema), tumor (edema), calor y dolor.<sup>24, 25, 26</sup>

## **Mediadores de la inflamación**

Las reacciones inmediatas o de fase aguda que siguen a la agresión y que pretenden la separación y la restauración de la homeostasis constituyen el fenómeno inflamatorio.<sup>26</sup>

La liberación de mediadores ocurre de diferentes maneras pero tal vez la más frecuente es la lesión directa de la célula por cualquier tipo de agresor sin importar su naturaleza. Entre los mediadores tenemos histamina, serotonina, bradicinina,

eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos), enzimas (triptasas y otras proteasas), factor activador de plaquetas, citocinas.<sup>24, 25, 26, 27.</sup>

#### **a) Histamina**

La histamina se forma por descarboxilación del aminoácido histidina, el sitio principal de depósito de la histamina en casi todos los tejidos es la célula cebada y en la sangre, el basófilo, la concentración de esta sustancia es particularmente grande en tejidos que contienen un gran número de células cebadas como piel, mucosa del árbol bronquial y de las vías intestinales.<sup>27</sup>

Como parte de la respuesta frente a un antígeno se generan anticuerpos reagínicos (IgE), las moléculas de IgE se unen a la superficie de las células cebadas y los basófilos a través de los receptores  $F_{c\epsilon}RI$  ( $F_c$  receptor épsilon I) de gran afinidad, logrando la descarga de los gránulos de almacenamiento.

La histamina interviene en reacciones de hipersensibilidad inmediata y alérgica. Sin embargo también se libera histamina siempre que surja una lesión celular inespecífica de cualquier causa.<sup>27</sup>

#### **Receptores de histamina**

La histamina produce una variedad enorme de acciones en distintas células y órganos, la aparición de sustancias análogas de la histamina que mostraban preferencias por unos u otros efectos ha permitido reconocer la existencia de 4 tipos de receptores histamínicos.<sup>28</sup>

Los receptores  $H_1$  se encuentran en la membrana de células musculares lisas de vasos, bronquios y tracto

gastrointestinal, en el tejido de conducción del corazón, en algunas células secretoras, en terminaciones de nervios sensitivos<sup>27, 28</sup>, SNC y se concentran densamente en el hipotálamo.<sup>27</sup>

Los receptores H<sub>2</sub> se encuentran principalmente en la membrana de las células parietales de la mucosa gástrica, células musculares lisas de vasos, en células miocárdicas y del nodo sinusal, en diversos leucocitos, mastocitos y células basófilas, donde se comportan como autorreceptores.<sup>27, 28</sup>

Los receptores H<sub>3</sub> en la periferia son bajas, aunque se ha podido detectar en diversos tejidos entre ellos pulmón, estómago, intestino y páncreas.<sup>28</sup> Expresándose predominantemente en el SNC, en particular en ganglios basales, hipocampo y corteza.<sup>27</sup>

Los receptores H<sub>4</sub> presentan una fuerte homología estructural con el H<sub>3</sub>.<sup>28</sup> Se encuentran localizados fundamentalmente en médula ósea y en células de origen hematopoyético (eosinófilos, neutrófilos y mastocitos), también en vías gastrointestinales (GI)<sup>27, 28</sup> y SNC.<sup>27</sup>

La Tabla N°1 nos resume los cuatro receptores histaminicos detallando el tamaño de cada receptor, a qué tipo de proteína G se acopla, su distribución, cuáles son sus agonistas y antagonistas más representativos.

**TABLA N°1**

Características de los receptores histaminicos. Autacoides:  
farmacoterapia de la inflamación.

	H <sub>1</sub>	H <sub>2</sub>	H <sub>3</sub>	H <sub>4</sub>
Tamaño (aminoácidos)	487	359	373, 445, 365	390
Acoplamiento a proteína G (segundos mensajeros)	G <sub>q/11</sub> (↑Ca <sup>2+</sup> , ↑cGMP)	G <sub>s</sub> (↑cAMP)	G <sub>i/o</sub> (↓cAMP)	G <sub>i/o</sub> (↓cAMP; ↑Ca <sup>2+</sup> )
Distribución	Músculo de fibra lisa, células endoteliales, SNC	Células parietales del estómago, músculo miocárdico, células cebadas, SNC	SNC: plexo mientérico presináptico	Células de origen hematopoyético
Agonista representativo	2-CH <sub>3</sub> -histamina	Dimaprit	(R)-α-CH <sub>3</sub> -histamina	Clobenpropit (parcial)
Antagonista representativo	Clorfeniramina	Ranitidina	Tioperamida Clobenpropit	JNJ777120 Tioperamida

Fuente: Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11<sup>va</sup> Ed.

### Efectos de la histamina sobre los receptores

Vasodilatación: Predomina en los vasos más pequeños: arteriolas, metaarteriolas y esfínteres precapilares.<sup>28</sup> Incluye la participación de receptores H<sub>1</sub> y H<sub>2</sub>, sin embargo se advierte diferencias cuantitativas en el grado de dilatación. Los receptores H<sub>1</sub> muestran mayor afinidad por la histamina y median la dilatación que depende del óxido nítrico de endotelio cuyo comienzo es relativamente rápido y breve.<sup>27</sup>,<sup>28</sup> En cambio la activación de los receptores H<sub>2</sub> origina dilatación que surge con mayor lentitud y es más sostenida.<sup>27</sup>

Hiperpermeabilidad capilar: Es consecuencia de la salida de proteínas plasmáticas y líquido hacia el espacio extracelular con formación de edema por efecto sobre la presión capilar y acción directa sobre las células endoteliales de las vénulas poscapilares a las que contrae de manera que se separen

unas de otras y aumenten los espacios intercelulares los receptores H<sub>1</sub> son importantes para que ocurra dicha reacción, no se sabe si también participan los H<sub>2</sub>.<sup>27, 28</sup>

Contractibilidad y fenómenos eléctricos del corazón: Intensifica la fuerza de contracción de los músculos auriculares y ventriculares al estimular la penetración de calcio e incrementa la frecuencia cardiaca al apresurar la despolarización diastólica en el nódulo sinoauricular (efecto H<sub>2</sub>) y reduce la contracción AV (efecto H<sub>1</sub>).<sup>27, 28</sup>

Terminaciones Nerviosas Sensitivas: Mediante receptores H<sub>1</sub> la histamina estimula intensamente terminaciones sensoriales provocando sensación de picor y dolor.<sup>28</sup>

Secreción de ácido estomacal: Al actuar en los receptores H<sub>2</sub> es un potente secretagogo gástrico por estimulación sobre las células parietales, también intensifica la generación de pepsina y factor intrínseco.<sup>27, 28</sup>

Vigilia y apetito: Intensifica el estado de vigilia e inhibición del apetito por medio de los receptores H<sub>1</sub>.<sup>27</sup>

SNC: Inhiben la liberación de histamina y modulan la liberación de otros neurotransmisores por medio de los receptores H<sub>3</sub>.<sup>27</sup>

Activación de receptores en los eosinófilos: Los receptores H<sub>4</sub> inducen cambio de forma de la célula, de su quimiotaxia e incremento del número de moléculas de adherencia como CD11b/CD18 y de la molécula de adherencia intercelular-I (ICAM).<sup>27</sup>



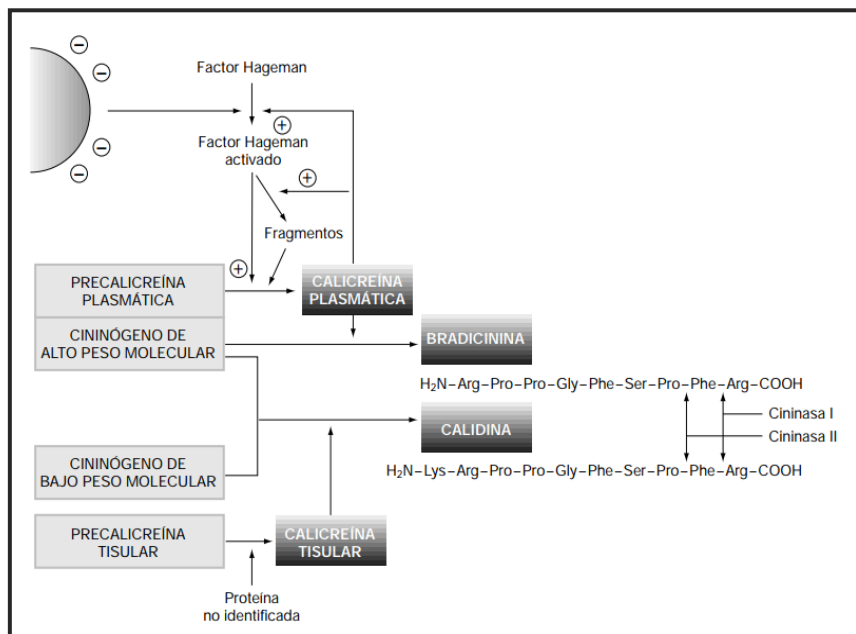
## **b) Bradicinina y kalidina**

Factores como lesión hística, reacciones alérgicas, infecciones víricas y otros fenómenos inflamatorios ponen en marcha una serie de acciones proteolíticas que generan bradicinina y kalidina en los tejidos, contribuyendo como autacoides a respuestas inflamatorias porque actúan en forma local para originar dolor, vasodilatación y mayor permeabilidad.<sup>27</sup>

Gran parte de su actividad proviene de la estimulación de la liberación de mediadores potentes como prostaglandinas, óxido nítrico o factor hiperpolarizante derivado del endotelio.<sup>27</sup>

La bradicinina y kalidina provienen de las globulinas  $\alpha_2$  de síntesis principalmente hepática (cininógenos) de las cuales se conocen dos de ellas de alto peso molecular (HMW) y bajo peso molecular (LMW) separadas por proteasas altamente específicas calicreína plasmática y calicreína tisular (páncreas, riñón, glándula salival, etc.) respectivamente.<sup>27, 28</sup>

En la Figura N°1 se observa la síntesis de bradicinina y kalidina provenientes de dos globulinas hepáticas una de alto peso molecular y la otra de bajo peso molecular.



**Figura N°1:** Sistema calicreína-cininas. Estructura y síntesis de cininas.

Fuente: Floréz J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacología Humana. 5<sup>TA</sup> Ed.

En situaciones experimentales el sistema de precalicreína plasmática es activado por la unión del factor XII (*factor de Hageman: proteasa común en la cascada de coagulación intrínseca*) a superficies con cargas negativas (p.ej., colágeno, lipopolisacáridos bacterianos, heparina, productos plaquetarios y depósito de uratos). Como dato siguiente la calicreína activada activa el factor XII y así ejerce un efecto de retroalimentación positiva en el sistema.<sup>27, 28</sup> No se ha identificado la proteasa que activa la precalicreína tisular.<sup>28</sup>

Se conoce por lo menos dos receptores de cininas B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, ambos son receptores acoplados con proteínas G y comparten el 36% de su identidad en la secuencia de aminoácidos. El receptor B<sub>2</sub> se expresa en forma constitutiva en casi todos los tejidos normales en los cuales se liga

selectivamente a la bradicinina y la kalidina y media la mayor parte de sus efectos.<sup>27, 28</sup>

El receptor B<sub>1</sub> se liga de manera selectiva a los metabolitos des-Arg con la terminación C de la bradicinina y kalidina, liberados por carboxipeptidasas N o M y los efectos no aparece o se expresa en niveles muy pequeños en los tejidos. La expresión se regula al alza con la inflamación y con las citocinas, endotoxinas y factores de crecimiento.<sup>27, 28</sup>

El receptor B<sub>2</sub> activa a través de la proteína G<sub>i</sub> a la PLA<sub>2</sub> y ácido araquidónico que se transforma en diversos mediadores inflamatorios potentes. La activación de PLC inducida por el receptor B<sub>2</sub> a través de la proteína G<sub>q</sub> activa la vía de IP<sub>3</sub>-Ca<sup>2+</sup>, estimula la actividad de PKC y también incrementa la síntesis y liberación de óxido nítrico.<sup>27</sup>

Los receptores B<sub>2</sub> por lo común median la algesia aguda por bradicinina, en tanto el dolor de la inflamación crónica parece requerir la participación de un mayor número de receptores B<sub>1</sub>.<sup>27</sup>

Las cininas plasmáticas intensifican la permeabilidad en la microcirculación ocurriendo en las venas finas y entraña la separación de las uniones entre células endoteliales, aunado a un mayor gradiente de presión hidrostática genera edema y estimulación de las terminaciones nerviosas origina una reacción “de roncha y eritema”.<sup>28</sup>

Los receptores B<sub>1</sub> en células de inflamación, como macrófagos pueden desencadenar la producción de mediadores inflamatorios como interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral α (TNF-α).<sup>27</sup>

Las cininas pueden intervenir de modo importante en diversas patologías como gota, coagulación intravascular, enteropatías inflamatorias, artritis reumatoide y asma.<sup>27</sup>

Los compuestos mencionados también contribuyen a los cambios en los huesos que se advierte en estados inflamatorios crónicos. Las cininas estimulan la resorción ósea a través de los receptores B<sub>1</sub> y quizá B<sub>2</sub>, tal vez por una activación de osteoclastos mediada por osteoblastos.<sup>27</sup>

### **c) Eicosanoides**

El ácido araquidónico (AA) es el precursor más abundante en el ser humano y se ingiere con la dieta o deriva del metabolismo del ácido linoleico. Se almacena formando parte de los fosfolípidos de membrana celular y se libera mediante la acción de la fosfolipasa A<sub>2α</sub>.<sup>28</sup>

Tras ser movilizado, el ácido araquidónico es rápidamente oxigenado por 4 sistemas enzimáticos: La ciclooxigenasa (COX): prostaglandinas (PG), los tromboxanos (TX) y las prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), lipooxigenasa (LOX): leucotrienos (LT), el citocromo P450 que originan los denominados productos de la vía de la epooxigenasa o epóxidos y la vía del isoprostano; de los cuales la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa son las más importantes.<sup>28</sup>

Las prostaglandinas contribuyen a la aparición de dolor en regiones periféricas y en el sistema nervioso central, aumentan la síntesis de PLA<sub>2</sub> y COX-2 en sitio de inflamación local, que a su vez guardan relación con una mayor biosíntesis de PGE<sub>2</sub> central.<sup>27</sup>

La PGE<sub>2</sub> y la PGI<sub>2</sub> sensibilizan las terminaciones de nervios periféricos a los estímulos dolorosos, al disminuir el “umbral”

de los nociceptores. En el SNC la PGE<sub>2</sub> intensifica la excitabilidad de las vías neuronales de transmisión del dolor en la médula espinal e intensifican en grado extraordinario la formación de edema.<sup>27, 28</sup>

Las lipooxigenasas constituyen una familia de enzimas citosólicas encargadas de oxidar (sin ciclar) los ácidos grasos poliénicos a la altura del carbono 5 (5-LOX), 12 (12-LOX) o 15 (15-LOX), formando los correspondientes hidroperóxidos lipídicos. La 5-LOX es la más importante y se localiza sobre todo en células que participan en la respuesta inflamatoria como neutrófilo, eosinófilos, basófilos, monocitos/macrófagos y mastocitos.<sup>28</sup>

El LTB<sub>4</sub> constituye un agente quimiotáctico potente para polimorfonucleares (PMN), eosinófilos y monocitos. En concentraciones altas el LTB<sub>4</sub> estimula la agregación de los PMN y promueve la desgranulación y la generación de superóxidos.<sup>27, 28</sup>

El LTB<sub>4</sub> estimula la adherencia de los neutrófilos a las células del endotelio vascular y su migración transendotelial, y estimula la síntesis de citocinas proinflamatorias a partir de macrófagos y linfocitos.<sup>27</sup>

Tanto los derivados de la COX (PGE y PGI<sub>2</sub>) como algunos de la vía LOX (LTB<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub>) favorecen la vasodilatación aguda, incrementan la permeabilidad vascular y la subsiguiente filtración de leucocitos y células fagocíticas.<sup>28</sup>

#### **d) Citocinas**

A diferencia de las hormonas clásicas, las citocinas no se almacenan como moléculas preformadas y actúan

especialmente por mecanismos paracrino (en células vecinas) y autocrino (en las propias células productoras).<sup>29</sup>

Diferentes tipos de células segregan la misma citocina, y una única citocina puede actuar en diversos tipos de células, fenómeno denominado pleiotropia. Acciones similares pueden ser desencadenadas por diferentes citocinas. Entre las consideradas proinflamatorias, tenemos las interleucinas (IL) 1, 2, 6, 7 y FNT (factor de necrosis tumoral).<sup>29, 30</sup>

Las citocinas son mediadores necesarios para conducir la respuesta inflamatoria hacia las regiones de infección y lesión, favoreciendo la cicatrización apropiada de la herida. La producción exagerada de citocinas proinflamatorias puede manifestarse sistémicamente con una inestabilidad hemodinámica o con disturbios metabólicos.<sup>29, 30, 31</sup>

La IL-1 $\beta$  produce una inflamación sistémica por medio de la activación de la ciclooxigenasa-2, con la formación de PGE2 en el hipotálamo anterior causando fiebre. También produce la sustancia-P (SP), óxido nítrico (activando la enzima óxido nítrico sintetasa) y moléculas de adherencia endotelial. Posee una importante función en el desarrollo y en el mantenimiento del dolor postoperatorio.<sup>31</sup>

La IL-2 induce a la producción de otras citocinas, como, por ejemplo, IFN $\gamma$  y FNT $\beta$ , lo que resulta en la activación de los monocitos, neutrófilos y células matadoras naturales.<sup>29</sup>

La IL-6 es inducida de forma potente por FNT $\alpha$  e IL-1, Esa interleucina es uno de los más precoces e importantes mediadores de la inducción y el control de la síntesis y la liberación de proteínas de la fase aguda por los hepatocitos durante los estímulos dolorosos.<sup>29</sup>

Posteriormente a la lesión, las concentraciones plasmáticas de IL-6 se detectan en 60 minutos, con un pico entre 4 y 6 horas, pudiendo persistir durante 10 días. Se considera el marcador más relevante del grado de lesión tisular durante un procedimiento quirúrgico.<sup>29</sup>

El FNT $\alpha$  es una citocina pro-inflamatoria producida principalmente por monocitos, macrófagos y linfocitos T también está presente en las neuronas y células de la glía, desempeñando funciones importantes tanto en la hiperalgesia inflamatoria como en la neuropática.<sup>29, 31</sup>

El FNT $\alpha$  es uno de los mediadores más precoces y potentes de la respuesta inflamatoria. Aunque su vida media plasmática sea de apenas 20 minutos, es suficiente para provocar cambios metabólicos y hemodinámicos importantes, y activar distalmente otras citocinas.<sup>32</sup>

Otras acciones del FNT $\alpha$  consisten en activar la coagulación, estimular la expresión o la liberación de moléculas de adhesión, PGE<sub>2</sub>, factor activador de plaquetas y eicosanoides.<sup>32</sup>

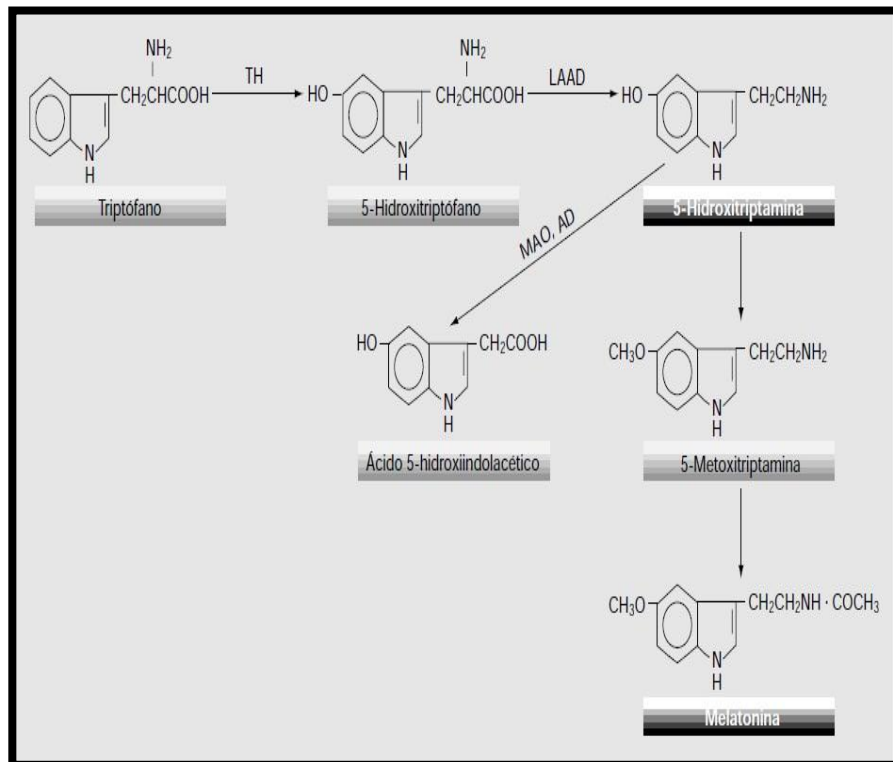
#### **e) Serotonina (5-hidroxitriptamina)**

Es una amina compuesta por un anillo indólico y una cadena lateral etilamino, se localiza y es sintetizada por las células enterocromafines del tracto gastrointestinal con mayor densidad en duodeno y en las neuronas serotoninérgicas del SNC, mientras que en plaquetas solo se almacena.<sup>27, 28.</sup>

La síntesis se produce a partir del aminoácido L-triptofano el cual se observa en la Figura N° 2 sufre un proceso de oxidación en el C5 del anillo indólico mediante la triptófano-hidroxilasa que lo convierte en 5-hidroxitriptofano (5-HTP)

posteriormente es dextracarboxilado en la cadena lateral por la L-aminoácido dextracarboxilasa y convertido en 5-hidroxitriptamina (5-HT).<sup>27, 28</sup>

La 5-HT pasa así la sangre donde es captado por el hígado y el endotelio vascular, en especial al pulmonar ahí es transformada por la monoaminoxidasa (MAO) y la aldehidodeshidrogenasa, la fracción que escapa de la captación es incorporada a las plaquetas, de las que son liberadas cuando sufren un proceso de agregación.<sup>27, 28</sup>



**Figura N° 2:** Síntesis y metabolismo de la serotonina (5-Hidroxitriptamina).

Fuente: Floréz J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacología Humana. 5<sup>TA</sup> Ed.

En el SNC las neuronas serotoninérgicas sintetizan la 5-HT la cual queda almacenada en vesículas para protegerlas de la



acción de MAO intraneuronal, esta es liberada en la terminación nerviosa por despolarización y entrada de  $Ca^{+2}$ .<sup>27, 28</sup>

Se han localizado neuronas con 5-HT junto con sustancia P, con Hormona liberadora de tirotrópina (TRH) o encefalinas, en las células enterocromafines la encontramos junto con la sustancia P y motilina.<sup>27, 28</sup>

En la glándula pineal es sintetizada como un precursor de la melatonina hormona con amplia actividad endocrina por su capacidad de actuar sobre el hipotálamo.<sup>27, 28</sup>

La aplicación de técnicas bioquímicas y funcionales han identificado hasta siete tipos de receptores histaminicos 5-HT<sub>1</sub> a 5-HT<sub>7</sub>, aunque para algunos de ellos es perfil farmacológico y funcional no están bien definidos.<sup>27, 28</sup>

Se ha podido identificar 5 subtipos de 5-HT<sub>1</sub> (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub> y 5-HT<sub>1F</sub>) y tres 5-HT<sub>2</sub> (5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> y 5-HT<sub>2C</sub>). Todos los receptores están acoplados a proteína G excepto 5-HT<sub>3</sub>.<sup>27, 28</sup>

Los receptores 5-HT<sub>1A</sub> se encuentran en el hipocampo, núcleo del rafe, septo y corteza en el cerebro, también lo encontramos en algunos vasos sanguíneos. Los receptores 5-HT<sub>1B</sub> en ganglios de la base, sustancia negra y corteza, estos dos receptores son predominantes en la especie humana.<sup>27, 28</sup>

Los receptores 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub> y 5-HT<sub>1F</sub> todos en el SNC, los receptores 5-HT<sub>2A</sub> en SNC (corteza y ganglios basales), fibras musculares lisas (vasculares, traqueales, gastrointestinales y uterina) y plaquetas; los receptores 5-

HT<sub>2B</sub> en tubo digestivo (fundus gástrico) y vasos y los receptores 5-HT<sub>2C</sub> en plexos coroideos.<sup>27, 28</sup>

Los receptores 5-HT<sub>3</sub> se localizan periféricamente en plexos nerviosos entéricos, terminaciones nerviosas sensitivas y vegetativas.<sup>27, 28</sup>

Los receptores 5-HT<sub>4</sub> en el SNC (neuronas de los cuerpos cuadrigeminos anterior y posterior) y en el tubo digestivo en neuronas del plexo mientérico, lo mismo en el musculo liso y células secretoras, se cree que estimula la secreción en el tubo digestivo y facilita el reflejo peristáltico. Los receptores 5-HT<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub> se localizan en el SNC (tálamo e hipotálamo).<sup>27, 28</sup>

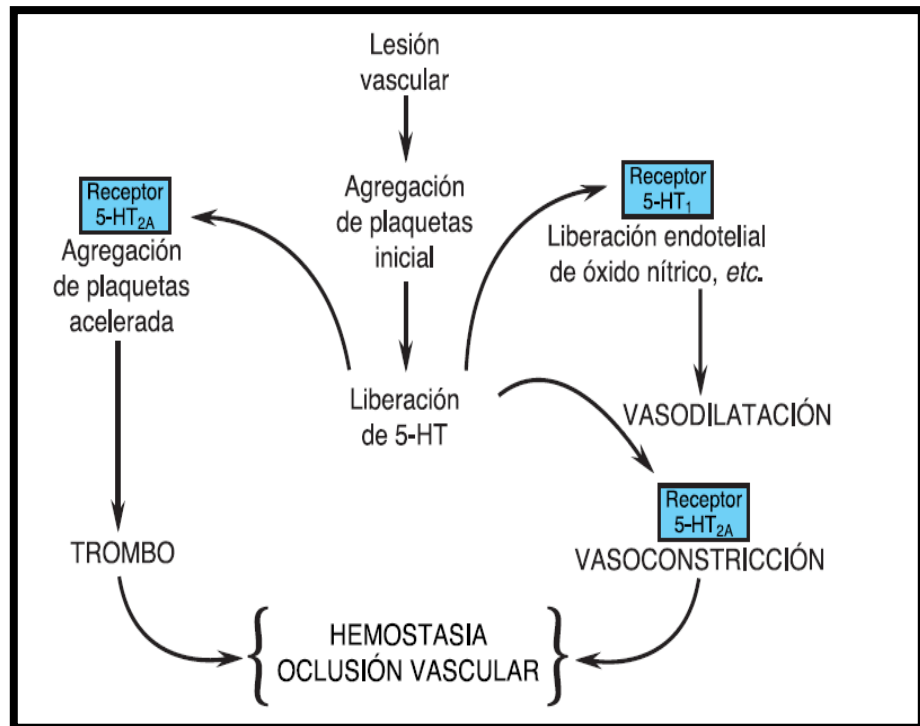
En la gran mayoría de los territorios la 5-HT produce vasoconstricción tanto arteriolar como venosa: en territorios, cerebrales, viscerales y cutáneos dada principalmente por la acción sobre el receptor 5-HT<sub>2</sub>.<sup>27, 28</sup>

La amplia distribución por el SNC del sistema serotoninérgicas parece estar implicado en las siguientes funciones: control eferente de la sensibilidad dolorosa (5-HT<sub>1</sub>); regulación del sueño, la posición, el tono postural, actividad sobre los ganglios basales, regulación endocrina: secreción de ACTH, hormonas gonadotropas, hormona del crecimiento y prolactina (5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>2</sub>).<sup>27, 28</sup>

Otras funciones como la regulación de funciones vegetativas: presión arterial y actividad respiratoria están relacionadas principalmente con el receptor 5-HT<sub>1</sub>, control del apetito (5-HT<sub>2C</sub>) y control central de la actividad emética (5-HT<sub>3</sub>).<sup>27, 28</sup>

Por otro lado las plaquetas con 5-HT cuando se ponen en contacto con el epitelio lesionado liberan sustancias que

estimulan su agregación y como fenómeno secundario la 5-HT el cual se liga al 5-HT<sub>2</sub> y desencadena una débil respuesta de agregación, esta también puede estimular la producción de óxido nítrico y antagonizar su propia acción vasoconstrictora como se muestra en la Figura N° 3.<sup>27, 28</sup>



**Figura N° 3:** Representación esquemática de las influencias locales de la 5-HT de las plaquetas.

Fuente: Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11<sup>va</sup> Ed.

**f) Factor activador de plaquetas (PAF)**

Es un mediador fosfolipídico de gran potencia y formado en una gran diversidad de células la mayoría implicadas en la respuesta inflamatoria, este se produce en respuesta a diversos estímulos como reacción antígeno-anticuerpo, autacoides, trombina, colágeno y el propio PAF.<sup>27, 28</sup>

El PAF actúa a través de receptores selectivos acoplados a la proteína G las cuales activan la fosfolipasa A<sub>2</sub> (producción de prostanoídes, tromboxanos y leucotrienos) y la fosfolipasa C (producción de inositol trifosfato y diacilglicerol).<sup>27, 28</sup>

El PAF tiene importantes acciones proinflamatorias: produce quimiotaxis, agregación de PMN, monocitos y eosinófilos, aumenta la producción del factor de necrosis tumoral.<sup>27, 28</sup>

Es 1000 veces más potente que la histamina y bradicinina para producir aumento de la permeabilidad vascular y extravasación de fluido.<sup>27, 28</sup>

### **3.2.3 Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)**

Aunque la mayoría de los componentes como se muestra a continuación en la Tabla N°2 comparten tres acciones que lo definen (analgesia, antitérmica y antiinflamatoria) su eficacia relativa puede ser diferente para cada uno de ellas, presentando mayor actividad antiinflamatoria o viceversa. Así mismo su toxicidad puede ser más o menos específica. Todos los AINEs inhiben la COX de forma reversible excepto el Ácido Acetil Salicílico (AAS).<sup>27, 28</sup>

**Tabla N° 2**

Principales grupos de antiinflamatorios no esteroideos  
(AINEs).

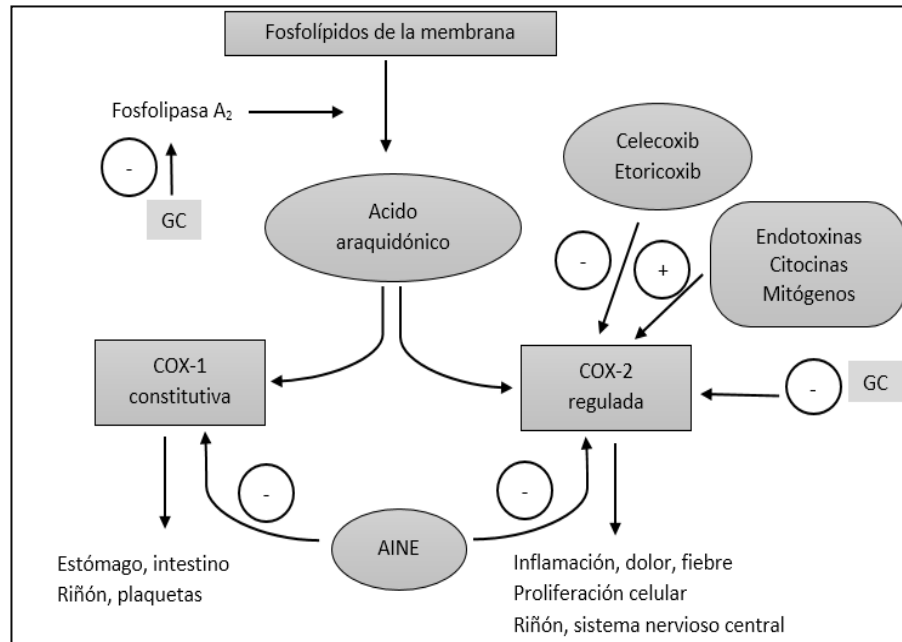
<b>Grupo farmacológico</b>	<b>Fármaco prototipo</b>
<b>Ácidos</b>	
<b>Salicílico</b>	Ácido acetilsalicílico
<b>Enólicos</b>	
<b>Pirazolonas</b>	Metamizol
<b>Pirazolidindionas</b>	Fenilbutazona
<b>Oxicams</b>	Piroxicam y meloxicam
<b>Acéticos</b>	
<b>Indolacético</b>	Indometacina
<b>Pirrolacético</b>	Ketorolaco
<b>Fenilacético</b>	Diclofenaco
<b>Piranoindolacético</b>	Etodolaco
<b>Propiónico</b>	Naproxeno
<b>Antranílico</b>	Ácido mefenámico
<b>Nicotínico</b>	Clonixina
<b>No ácidos</b>	
<b>Sulfoanilidas</b>	Nimesulida
<b>Alcanonas</b>	Nabumetona
<b>Paraaminofenoles</b>	Paracetamol

Fuente: Floréz J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacología Humana. 5<sup>TA</sup> Ed.

Existen dos isoformas de la COX: COX-1 y COX-2 el cual se observa en la FIGURA N°4. La COX-1 es una isoformas de expresión constitutiva, es el producto de un gen que se transcribe de forma estable y continua, y es responsable de la síntesis de eicosanoides implicados en el control homeostático de múltiples funciones fisiológicas (p. ej., citoprotección de la mucosa gástrica, trombogénesis plaquetaria, hemodinámica renal o diferenciación de macrófagos).<sup>27, 28</sup>

La COX-2 es el producto de un gen con un elevado nivel de regulación, cataliza la producción local de PG en situaciones

fisiológicas y patológicas y es inducida por diversos mediadores proinflamatorios (interferón  $\gamma$ , FNT, IL-1, factores de crecimiento, etc.).<sup>27, 28</sup>



**Figura N° 4:** Representación esquemática de la acción de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), glucocorticoide (GC) e inductores de la expresión sobre el COX-1 y COX-2. Fuente: Floréz J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacología Humana. 5<sup>TA</sup> Ed.

Un caso especial es el del paracetamol que posee efectos analgésicos y antitérmicos notables pero no efectos antiinflamatorios. Su efecto antitérmico parece depender de la inhibición preferente de la COX-2 central o de una variante de esta isoforma (COX-3), en función de una buena penetración en el SNC.<sup>27, 28</sup>

- **Ácido acetil salicílico (Salicilatos)**

El Ácido acetilsalicílico (AAS) acetila e inhibe de forma irreversible la COX, mientras que la acción inhibidora de

estas por los salicilatos no acetilados es reversible, para lograr su acción antiinflamatoria requiere de dosis más elevadas.<sup>27, 28</sup>

Los salicilatos a concentraciones elevadas estimulan directamente el centro respiratorio: aumentan la ventilación, disminuyen la  $P_{CO_2}$  favoreciendo la aparición de alcalosis respiratoria. Como compensación aumenta la eliminación renal de  $HCO_3$ . Esta acción puede coincidir con un aumento del consumo de  $O_2$ , de la producción de  $CO_2$  y de metabolitos ácidos (pirúvico y láctico), lo cual tiende a producir acidosis metabólica.<sup>28</sup>

A dosis bajas (p.ej., 1-2 g/día) el salicilato inhibe la secreción activa de ácido úrico en el túbulo renal, mientras que a dosis elevadas (p.ej., 5 g/día) inhibe la reabsorción activa comportándose como uricosúrico. También tiene efecto antiagregante plaquetario a dosis inferiores a las analgésicas.<sup>27, 28</sup>

Se absorbe rápidamente por vía oral en parte del estómago y en la parte superior del intestino delgado, se identifican concentraciones apreciables en menos de 30 min y a la hora una cifra máxima. Los productos metabólicos son el ácido salicílico (conjugado con glicina), el glucorónido de éter y el glucorónido de éster.<sup>27, 28</sup>

Los salicilatos se excretan por la orina en la forma de ácido salicílico libre (10%), ácido salicílico (75%) los glucorónidos fenólico (10%) y ácido salicílico (5%).<sup>27, 28</sup>

- **Paracetamol (Paraaminofenoles)**

El acetaminofén tiene efectos antiinflamatorios débiles y se piensa que tiene poca capacidad para inhibir la acción de

COX si existen altas concentraciones de peróxidos, como se detectan en los sitios de inflamación. Se ha sugerido que la inhibición de la COX puede ser desproporcionadamente intensa en el encéfalo, lo cual explicaría su acción antipirética.<sup>27, 28</sup>

Las dosis terapéuticas únicas o repetidas no ejercen efecto alguno sobre el aparato cardiovascular o respiratorio, plaquetas o coagulación. Ni aparecen cambios ácidos básicos ni efectos uricosúricos.<sup>27, 28</sup>

Por vía oral muestra una excelente biodisponibilidad, de 30 a 60 min de ingerido surgen las concentraciones máximas en plasma, su semivida es de 2 h, su unión a las proteínas plasmáticas (UPP) es menor a otros AINEs de 20 a 50 %, entre el 90 a 100% del medicamento se recupera en la orina antes de 24 horas.<sup>27, 28</sup>

Una porción pequeña del acetaminofén experimenta N-hidroxilación por acción de CYP 2E1 hasta formar N-acetil-p-benzoquinoneimina un producto fuertemente reactivo, dicho metabolito reacciona normalmente con los grupos sulfhidrilo del glutatión (GSH) y lo torna inocuo. Sin embargo al ingerir grandes dosis hace que se agote el GSH lo cual contribuye a presentarse efectos toxicos.<sup>27</sup>

- **Indometacina (Indolacético)**

La Indometacina es un inhibidor potente 20 veces más que la aspirina. La Indometacina inhibe la movilidad de los PMN y disminuye la biosíntesis de mucopolisacáridos. Puede tener un efecto vasoconstrictor directo independiente de la ciclooxigenasa.<sup>27</sup>



Los estudios observacionales han planteado la posibilidad de que dicho medicamento agrave el riesgo de infarto al miocardio y accidente cerebrovascular.<sup>27, 28</sup>

La Indometacina después de ingerida se alcanzan concentraciones máximas en 1-2 horas, la concentración del fármaco en el líquido cefalorraquídeo es pequeña, pero en el líquido sinovial es igual a la del plasma. Los metabolitos la mayor parte son inactivos, estos pueden encontrarse libres o conjugados el cual se eliminan en la orina, bilis y heces. En algunos enfermos se obtiene mayor analgesia nocturna y alivio de la rigidez matinal con 100 mg vía oral al acostarse.<sup>27, 28</sup>

- **Ibuprofeno (Propiónico)**

A las dosis más bajas se utiliza como analgésico o antitérmico, a dosis elevadas uso como antirreumático, se absorbe rápidamente, UPP es de 90% y se metaboliza en el hígado (90%) a sus derivados hidroxilado o carboxilado, sus metabolitos se excretan por los riñones, semivida es de 2 horas.<sup>27, 28</sup>

El equilibrio lento dentro del espacio sinovial denota que sus efectos antiartríticos pueden persistir después de que disminuya los niveles plasmáticos. El ibuprofeno es mejor tolerado que la aspirina e Indometacina y se ha utilizado en pacientes con intolerancia gastrointestinal a otros AINEs.<sup>27, 28</sup>

Entre sus indicaciones están el tratamiento del dolor agudo leve o moderado, fiebre y dismenorrea: 200 – 400mg/4-6h, como antitérmico en niños mayores de 6 meses la dosis unitaria es de 5-10mg/Kg cada 4-6h, como antirreumático adultos: 1200-3200mg/día, en niños 20-40mg/kg/día.<sup>27, 28</sup>

- **Diclofenaco (Fenilacético)**

Su potencia contra COX-2 es sustancialmente mayor que la Indometacina, Naproxeno y otros AINEs tradicionales. Además a dosis habituales interfiere menos en la agregación plaquetaria que la mayoría de los AINEs y es uricosúrico, al parecer disminuye las concentraciones intracelulares de AA libre en leucocitos.<sup>27, 28</sup>

Un miembro de la subfamilia CYP2C lo metaboliza en el hígado hasta 4-hidroxidiclofenaco (metabolito principal) y otras formas hidroxiladas: después de glucuronidación y sulfatación.<sup>27</sup> Pasa al líquido sinovial donde alcanza concentraciones menores a las plasmáticas pero más mantenidas, lo que explica su efecto más prolongado. La dosis habitual por V.O es de 50mg/8h su dosis máxima 200mg/día.<sup>27, 28</sup>

### **Reacciones adversas**

Todos los medicamentos pueden tener un riesgo al momento de usarlo, los efectos indeseados o reacciones adversas varían de acuerdo al fármaco y dependen en su mayoría de sus propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas, es por eso que se debe tomar con precaución el consumo de los AINEs.

Entre las reacciones adversas tenemos las hemorragias digestivas y úlceras por la inhibición de la COX en el epitelio gástrico disminuyendo el nivel de prostaglandinas citoprotectoras de la mucosa en particular PGI<sub>2</sub> y PGE<sub>2</sub>, náuseas, anorexia, dolor abdominal. A nivel de riñones tenemos la retención de sodio y agua, edema, disminución de la eficacia de antihipertensores y diuréticos.<sup>27, 28</sup>

SNC: cefalea, vértigo, mareo, confusión, depresión.  
Plaquetas: inhibición de la activación de plaquetas, propenso a aparición de hematomas y mayor riesgo de hemorragias.<sup>27,</sup>  
28

### **3.2.4 Bioensayos para la determinación de actividad antiinflamatoria**

Dentro de los bioensayos utilizados para determinar la actividad antiinflamatoria en inflamación aguda tenemos al edema plantar inducido por carragenina el cual fue modificado posteriormente y el edema auricular por 12-0-Tetradecanoil Forbol-13 Acetato (TPA) o aceite de crotón <sup>33,</sup> <sup>34</sup>, entre los modelos de inflamación subcrónica y crónica tenemos a granulomas inducidos por Discos de Algodón, artritis por adyuvantes y carragenina, etc.

Los resultados obtenidos de estos modelos experimentales en animales se pueden extrapolar al posible comportamiento de los extractos en humanos.

A continuación se detallaran los bioensayos utilizados para determinar actividad antiinflamatoria en la inflamación aguda:

- **Edema auricular por 12-0-tetradecanoil forbol-13 acetato (TPA)**

El TPA es uno de los componentes responsables de la acción irritante del aceite de crotón, la respuesta inflamatoria consiste en eritema, edema e infiltración por leucocitos PMN, así como liberación de mediadores de tipo eicosanoides y se induce la desgranulación de mastocitos; en consecuencia, las sustancias inhibitoras de la biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos son evaluadas por esta técnica.<sup>33, 34</sup>

El TPA actúa a través de la activación de la proteína quinasa C (PKC) y fosfolípidos, la cual es activada a su vez por el diacilglicerol (DAG) mediador liberado a partir de inositol-fosfolípidos de la membrana. El TPA cuando se intercala en la membrana puede actuar como un sustituto del DAG activando de forma permanente a la PKC responsable de la liberación de ácido araquidónico, aumento de los radicales libres, formación de prostanoïdes y síntesis de varios mediadores proinflamatorios.<sup>34</sup>

Muestra en estudio: el TPA se disuelve en acetona (1mg/8ml) también se puede optar por etanol/agua (>70%) y si es posible se hace lo mismo con los extractos.

La aplicación en la oreja del ratón se hace con una micropipeta depositando 10 µL por cada cara interna y externa del pabellón auricular.<sup>33, 34</sup>

Si la solubilidad lo permite los extractos en estudio se administran conjuntamente con el TPA a 0.5mg/oreja, caso contrario primero el agente flobógeno e inmediatamente la muestra en estudio. El fármaco de referencia mayormente utilizado es Indometacina a 0.5mg/oreja.<sup>33, 34</sup>

Transcurrida las 4 horas los animales son sacrificados por dislocación cervical y con un sacabocados se corta una porción circular de la oreja inflamada como de la no inflamada.<sup>33, 34</sup>

La media aritmética de las diferencias entre el peso de ambas porciones nos indica la magnitud del edema para cada grupo tratado, asignando el valor 100 al grupo que recibe solo TPA y refiriéndose en porcentaje de disminución del edema para los demás grupos.<sup>33, 34.</sup>

- **Edema auricular por aceite de crotón**

El aceite de crotón al 5% en acetona se aplica de forma tópica en la oreja derecha 10 µL, luego se aplican los compuestos en un volumen de 50 µL. Inmediatamente después se inyecta a los ratones por vía i.v. en la vena caudal 30mg/kg del colorante azul de Evans en disolución de NaCl 0.9% (10ml/kg).<sup>33</sup>

30 minutos después se sacrifican los animales con éter y se cortan las orejas a través de la arista, con un sacabocados se cortan discos de tejido de 6mm, se pesan y son introducidas en tubos de ensayo.<sup>33</sup>

El colorante azul de Evans se extraerá agregando 5 ml de formamida por tubo y manteniéndolos a 50-60°C durante 24 horas, la concentración del colorante se determina espectrofotométricamente a 615 nm.<sup>33</sup>

Para la valoración de los resultados se calcula el peso de las dos orejas la tratada y sin tratar.

El porcentaje de inflamación de la oreja tratada con respecto a la sin tratar se calcula de la siguiente manera:

$$\% \text{ inflamación} = ((T \times 100) / ST) \times 100$$

T= Promedio de los pesos de las orejas tratadas (derecha).

ST= Es el equivalente a las orejas sin tratar (izquierda).

El porcentaje de inhibición se calculara de la siguiente manera:

$$\% \text{ inhibición: } ((C-T) / C) \times 100$$

C= Es el valor medio del porcentaje de inflamación de los animales del grupo control.

T= El de los animales del grupo problema o patrón.

La inhibición de la permeabilidad vascular se determina calculando el porcentaje de incremento entre las orejas tratadas y no tratadas según la siguiente forma:

$$\% \text{ incremento de la permeabilidad} = ((AE_T \times 100) / AE_{ST}) - 100$$

AE<sub>T</sub>= concentración del colorante azul de Evans obtenida de las orejas tratadas.

AE<sub>ST</sub>= concentración del colorante azul de Evans obtenida de las orejas sin tratar.

Los porcentajes de inhibición de dicha extravasación de los grupos problema con respecto al control se calculan de la siguiente forma:

$$\% \text{ inhibición: } ((C - T) / C) \times 100$$

C= % de inflamación medio en el grupo control.

T= % de inflamación medio en el grupo problema o patrón.

Por último el análisis de la significancia estadística entre los diferentes grupos se calcula por "t" student.<sup>33</sup>.

- **Técnica de winter modificada (edema plantar inducido)**

Es la técnica más utilizada para determinar el efecto antiinflamatorio debido a su rapidez para ser ejecutada, la sencillez y reproducibilidad, estas características hacen de Winter modificado una técnica factible en inflamación aguda.

Esta técnica consiste en la administración de un agente flogístico como son la carragenina, Caolín, albúmina, dextrán, formaldehido y naftoilheparamina a nivel de la aponeurosis plantar derecha provocando intencionalmente una reacción de carácter inflamatorio. Esta técnica se

encuentra comprendida en el manual de técnicas de investigación publicado en 1995 por el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED).<sup>33, 35, 36</sup>

Se plantea que una hora después de la administración de la carragenina la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. Aproximadamente a las 2 horas intervienen las cininas. Entre las 3 y 4 horas después de la inducción ocurre la respuesta vascular máxima que coincide con la fase mediada por las prostaglandinas PGE1, PGE2 y PGF2.<sup>33, 35, 36</sup>

La extravasación de proteínas tiene lugar durante toda la respuesta al agente edematógeno. Respecto a la migración celular, fundamentalmente de leucocitos polimorfonucleares, comienza a las dos horas de haberse inyectado el agente.<sup>33, 36.</sup>

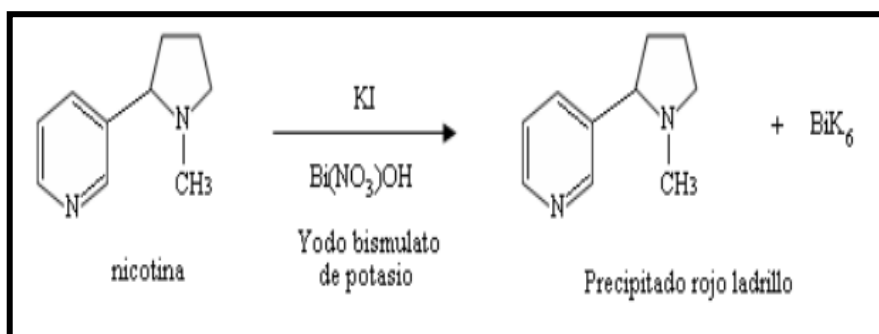
### **3.2.5 Tamizaje fitoquímico**

Consiste en la determinación de los metabolitos presentes en los recursos vegetales mediante ensayos cualitativos de coloración y precipitación a través de diferentes reacciones.

Reacción de Molish: A 1 mL de extracto añadir 2 gotas de reactivo alfa naftol al 1% mezclar bien, luego dejar caer por las paredes del tubo 0.5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, al colocar en posición vertical el tubo de ensayo se observara la formación de un anillo color violeta que separa las dos fases indicando la presencia de carbohidratos.<sup>6, 37, 38, 39</sup>

Dragendorff: En un tubo de ensayo se coloca 1 mL de extracto, se agrega 3 gotas de reactivo, un precipitado de color rojo ladrillo, naranja o marrón es positivo para

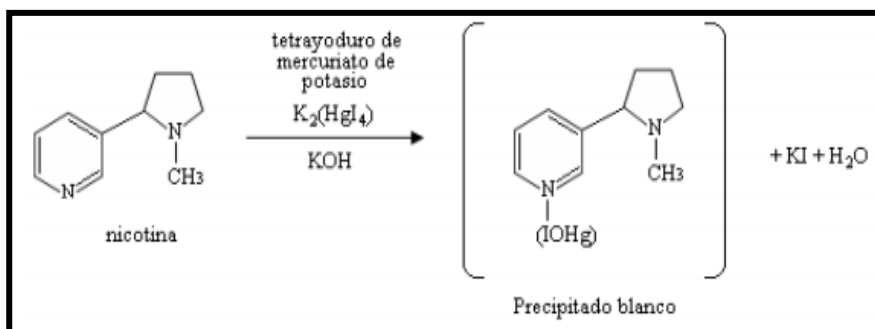
alcaloides, en la Figura N° 5 se observa cómo se forma el precipitado.<sup>6, 37, 38, 39</sup>



**Figura N°5:** Reacción de Dragendorff.

Fuente: Rubio Taípe P. DISEÑO Y ELABORACIÓN DE UN LIPO GEL ANTIINFLAMATORIO DE *Baccharis teindalensis* Kunt. (CHILCA).2013.

Mayer: Agregar unas gotas del reactivo de Mayer (sol. ácida de yoduro de mercurio y potasio) al extracto, homogenizar la mezcla, un precipitado blanco inmediato indica la presencia de alcaloides, en la Figura N° 6 se observa cómo se forma el precipitado.<sup>6, 37, 38, 39</sup>

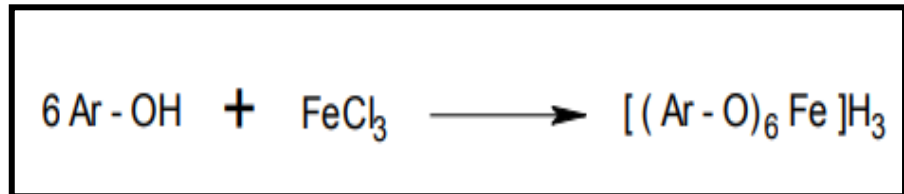


**Figura N°6:** Reacción de Mayer.

Fuente: Rubio Taípe P. DISEÑO Y ELABORACIÓN DE UN LIPO GEL ANTIINFLAMATORIO DE *Baccharis teindalensis* Kunt. (CHILCA).2013.



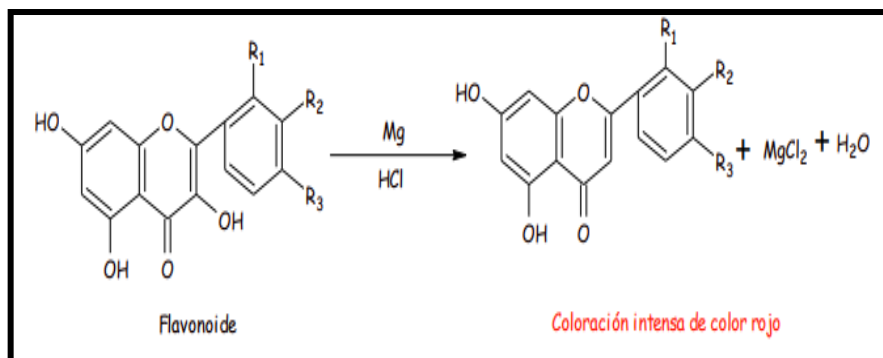
Tricloruro férrico: Agregar 2 gotas de la solución de FeCl<sub>3</sub> al 1% sobre el extracto, el color verde - azul indica la presencia de compuestos fenólicos, en la Figura N° 7 se observa el complejo responsable de la coloración.<sup>6, 37, 38, 39</sup>



**Figura N°7:** Reacción de Tricloruro férrico.

Fuente: Rubio Taipe P. DISEÑO Y ELABORACIÓN DE UN LIPO GEL ANTIINFLAMATORIO DE *Baccharis teindalensis* Kunt. (CHILCA).2013.

Shinoda: En un tubo de ensayo se coloca 1 mL de extracto, se agregara magnesio metálico más 1 mL de HCl concentrado, el cambio a tonos rojos indica la presencia de flavonoides, los tonos (rojizo, amarillo, naranja) depende del tipo de flavonoide, en la Figura N° 8 se observa el complejo responsable del cambio de color al reaccionar el extracto junto con los reactivos.<sup>6, 37, 38, 39</sup>

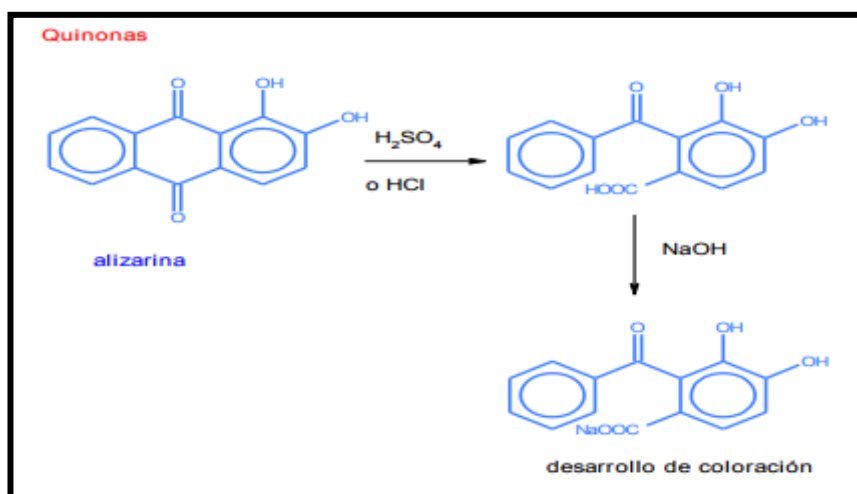


**Figura N°8:** Reacción de Shinoda.

Fuente: Rubio Taipe P. DISEÑO Y ELABORACIÓN DE UN LIPO GEL ANTIINFLAMATORIO DE *Baccharis teindalensis* Kunt. (CHILCA).2013.

Ensayo de espuma: Permite reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénicas. De modo que si la alícuota se encuentra en etanol, se diluye en 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 min. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor o altura y persiste por más de 15 min.<sup>6, 37, 38, 39</sup>

Borntrager: Esta reacción consiste en agregar un reactivo alcalino como amoníaco, solución de hidróxido de sodio o de potasio directamente al extracto y se basa en la coloración roja que dan los derivados antraquinónicos en medio alcalino; la aparición de una coloración anaranjada o roja indicará la presencia de agliconas libres oxidadas y la intensidad del color será proporcional a la concentración de principios activos, a continuación en la Figura N°9 se observa cómo se presenta el cambio de coloración.<sup>6, 37, 38, 39</sup>



**Figura N°9:** Reacción de Borntrager.

Fuente: Rubio Taipe P. DISEÑO Y ELABORACIÓN DE UN LIPO GEL ANTIINFLAMATORIO DE *Baccharis teindalensis* Kunt. (CHILCA).2013.

Antrona: En un tubo de ensayo se colocan 1-2 ml de extracto, agrega por las paredes del tubo una solución de Antrona al 0.2% en ácido sulfúrico concentrado; la prueba es positiva si en la interface aparece un anillo azul-verdoso o violeta evidenciando la presencia de carbohidratos.<sup>37, 39</sup>

Gelatina: en un tubo de ensayo agregar 1ml del extracto luego agregue 3 gotas de la solución de gelatina 1% que contiene NaCl al 10%, 2 ml de ácido sulfúrico, si se observa precipitado blanco indica la presencia de taninos.<sup>6, 37, 39.</sup>

Fehling: En un tubo de ensayo se coloca 1ml del extracto posteriormente se agrega 4 gotas del reactivo fehling A y 4 gotas ml de fehling B, se calienta y se observara un precipitado de color rojo nos indica la presencia de carbohidratos reductores.<sup>37</sup>

### **3.3 Definición de términos básicos**

- Homeostasis: mantenimiento de unas condiciones casi constantes del medio interno. Esencialmente todos los órganos y tejidos realizan funciones que colaboran en el mantenimiento de estas condiciones.<sup>40</sup>
- Autacoides: son sustancias que actúan como hormonas locales y se les confiere importantes roles regulatorios y patológicos en el organismo, algunas almacenadas y otras son sintetizadas, liberadas de forma inmediata en respuesta a estímulos.<sup>27</sup>
- Quimiotaxis: Es la habilidad de las células para determinar la dirección de su locomoción a lo largo de un gradiente de concentración de sustancias atrayentes o repelentes.<sup>41</sup>

- Endotoxinas: Toxina presente en la pared celular de algunos microorganismos como las bacterias, se liberan cuando esta muere y sus componentes quedan libres en el organismo.<sup>27</sup>
- Catálisis: Aumento de la rapidez de una reacción química o proceso producido por la presencia de una sustancia, enzima que no se consume en la reacción o el proceso químico neto.<sup>41</sup>
- Metabolito: Es cualquier sustancia producida durante el metabolismo, también se puede referir al producto que queda después de la descomposición de un fármaco por parte del cuerpo.<sup>28</sup>
- Anorexia: trastorno de la conducta alimentaria que supone una pérdida de peso provocada por el propio enfermo y lleva a un estado de inanición.<sup>41</sup>
- Disentería: trastorno inflamatorio del intestino, que normalmente ataca al colon y produce diarreas que contienen moco y sangre en las heces.<sup>41</sup>
- Alcalosis respiratoria: es una reducción primaria de la  $PCO_2$  con disminución compensadora de la concentración de  $HCO_3^-$  o sin ella; el pH puede ser elevado o casi normal.<sup>40</sup>
- Biodisponibilidad: cantidad y velocidad a la que el principio activo se absorbe a partir de una forma farmacéutica y llega al lugar de acción (biofase).<sup>27</sup>

## CAPÍTULO IV

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 4.1 Tipo y Nivel de investigación

##### 4.1.1 Tipo de investigación

**Cuantitativa:** Se basa en el análisis de datos para determinar si la concentración del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) modifica su actividad antiinflamatoria.

**Analítica:** Consiste en la comparación de los resultados obtenidos al aplicar la Técnica de Winter modificada.

**Transversal:** Porque las variables serán medidas en una sola ocasión y luego analizadas.

**Prospectiva:** Porque la investigación se realizara desde junio a octubre del 2017.

##### 4.1.2 Nivel de Investigación

**Explicativa:** Porque se evaluará la relación entre la variable dependiente e independiente analizadas previamente.

## **4.2 Método y diseño de la investigación**

### **4.2.1 Método de investigación**

**Deductivo:** Por que va de lo general a lo particular, para comprobar las hipótesis que se plantean.

### **4.2.2 Diseño de la investigación**

**Experimental:** Ya que la variable dependiente será manipulada, se observará y se analizarán los datos para demostrar si la concentración del extracto etanólico modifica la actividad antiinflamatoria de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco).

## **4.3 Población y Muestra de la investigación**

### **4.3.1 Población**

Planta: *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) procedente de Ica.

### **4.3.2 Muestra**

200 ml de extracto etanólico de raíces de *Walteria ovata*. Cav. (Lucraco).

## **4.4 Técnicas e instrumentos y procedimiento de la recolección de datos**

### **4.4.1 Técnicas**

#### **Técnica para la identificación botánica**

Recepción del recurso vegetal en buen estado de conservación, se realiza mediante el uso de claves dicotómicas y bibliografía específica, observando caracteres vegetativos y reproductivos bajo lupa, culminando en la elaboración de un informe.<sup>37</sup>

#### **Técnica del edema plantar de Winter modificada**

Se basa en la administración de un agente inflamatorio como son la carragenina, albúmina, dextrán u otro agente flogístico

a nivel de la aponeurosis plantar derecha posterior provocando una reacción de carácter inflamatorio, el cual se medirá los volúmenes de inflamación a la 1, 2, 3, 4, 5 y 6 Hora posterior de haberse administrado el tratamiento.<sup>33, 35, 36.</sup>

### **Prueba de solubilidad**

Capacidad de una sustancia de disolverse en otra llamada solvente. Es proporcional, esto quiere decir que una cantidad de soluto se puede disolver en una cantidad determinada de disolvente, a determinadas condiciones de temperatura e incluso presión.<sup>37</sup>

### **Técnica del tamizaje fitoquímico**

Permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés, mediante reacciones de coloración y precipitación.<sup>7, 8, 10, 37,</sup>

#### **4.4.2 Instrumentos**

- Ficha de datos experimentales
- Lista de cotejo.

#### **4.4.3 Procedimientos**

##### **Recolección del recurso vegetal**

La recolección de la raíz de *Waltheria ovata*. Cav. se realizó en la provincia de Ica, departamento de Ica a unos 826 m.s.n.m aproximadamente, posteriormente la muestra vegetal fue seleccionada, limpiada y colocada en bolsas de papel para su traslado a Lima, también se trajo un ejemplar del recurso vegetal entera con flores para su identificación botánica.

### **Certificación botánica**

La identificación del recurso vegetal traído de Ica se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos siendo estudiada y clasificada por el Mg. Hamilton Beltrán Santiago de acuerdo a la constancia según el sistema de Clasificación de Cronquist (1988) se trata de la **ESPECIE** *Waltheria ovata*. Cav.

### **Secado del recurso vegetal**

Una vez en Lima la raíz de *Waltheria ovata* fue nuevamente seleccionada dejando solo las raíces en buen estado, posteriormente fue finamente cortada, 400 g de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. fue secada a una temperatura no mayor de 40°C en estufa por 8 horas y triturada en partes pequeñas hasta su pulverización total.

### **Elaboración del extracto etanólico**

La preparación de los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% y 20% se realizó pesando 10 g y 20 g respectivamente de la droga pulverizada llevando a maceración en 100 ml de Etanol al 70% cada concentración durante 9 días en constante agitación, por último se procedió a filtrar.

### **Prueba de solubilidad**

Una vez obtenido el extracto etanólico se procedió a hacer la prueba de solubilidad colocando 4 tubos de ensayo 1 ml del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata* Cav., luego se agregó 1 ml de agua para el primer tubo de ensayo, 1 ml de éter etílico para el segundo tubo de ensayo, 1 ml de benceno para el tercer tubo de ensayo y 1 ml de cloroformo para el cuarto tubo de ensayo.



## Tamizaje fitoquímico

Se procedió a determinar los metabolitos presentes en el extracto etanólico de la raíz de *Waltheria ovata*. Cav. basados en la aplicación de pruebas de coloración y precipitación.

- **Determinación de carbohidratos:**

Reacción de Molish:

1ml extracto + II gotas  $\alpha$  naftol +  $H_2SO_4 \rightarrow (+)$  Anillo de color violeta

Reacción de Antrona:

1ml extracto + Antrona 0.2% +  $H_2SO_4 \rightarrow (+)$  anillo azul verdoso o violeta

- **Determinación de carbohidratos reductores**

Reacción de fehling:

Fehling A: Sulfato de cobre +  $H_2O$

Fehling B: NaOH + tartrato de sodio potasio +  $H_2O$

1ml extracto + Fehling A + Fehling B (+) $\rightarrow$  precipitado rojo

- **Determinación de alcaloides**

Reacción de Dragendorff:

1ml extracto + yodo bismulato de potasio  $\rightarrow (+)$  precipitado rojo ladrillo, naranja o marrón.

Reacción de Mayer:

1ml extracto + tetrayoduro de mercuriato de potasio  $\rightarrow (+)$  precipitado blanco.

- **Determinación de compuestos fenólicos**

Reacción con tricloruro férrico:

1ml extracto +  $\text{FeCl}_3$  1%  $\rightarrow$  (+) coloración verde o azul.

- **Determinación de flavonoides**

Reacción de Shinoda:

1ml extracto + magnesio metálico + 1 ml HCl  $\rightarrow$ (+) coloración naranja o rojo.

- **Determinación de saponinas**

Ensayo de espuma:

30 ml de extracto + agitación constante por 10 minutos  $\rightarrow$  (+) espuma de 2mm de espesor por 15 minutos mínimo.

- **Determinación de quinonas**

Reacción de Borntrager:

1ml extracto + III gotas de amoníaco  $\rightarrow$  (+) coloración naranja o roja.

- **Determinación de taninos**

Reacción de gelatina:

Reactivo gelatina: NaCl al 10% +  $\text{H}_2\text{SO}_4$

1ml extracto + III gotas de gelatina 1%  $\rightarrow$  (+) precipitado blanco.

### **Evaluación de la actividad antiinflamatoria:**

Para evaluar la actividad antiinflamatoria se trabajó con 20 ratas de cepa Holtzman los cuales fueron proporcionados por el Instituto Nacional de Salud (INS) con un peso promedio entre 175 g y 227 g. Previo a la realización de la parte experimental se acondiciono a las ratas en el Bioterio de la UNMSM siendo grupadas en 4 grupos de 5 individuos elegidos cada uno al azar colocadas en jaulas diferentes por tratamiento, estas fueron aclimatadas con un periodo de 12 horas luz / oscuridad, con agua y dieta adecuada *ad libitum* durante 7 días.

12 horas antes de realizar el bioensayo se privó a las ratas de alimentos dejándolas únicamente con agua, luego se procedió con el pesado e identificación de las ratas colocándole en la cola rayas de colores acuerdo al tratamiento para un mayor reconocimiento y diferenciación.

A los 4 grupos se les coloco por vía SC 0.1ml de albúmina 1% en la aponeurosis plantar derecha de las ratas media hora después de la administración de los tratamientos por sonda orogástrica.

- Tratamiento “A”: Grupo control negativo – Solución salina.
- Tratamiento “B”: Grupo control positivo –Ibuprofeno 10mg/kg.
- Tratamiento “C”: Grupo problema – Extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata Cav.* al 10% (100mg/Kg).
- Tratamiento “D”: Grupo problema – Extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata Cav.* al 20% (250mg/Kg).

### Determinación de volumen administrado para cada tratamiento

- Tratamiento "A" Grupo control negativo- solución salina

Peso promedio de las ratas: 174.60 g

Administrar 5ml/Kg

5 ml ——— 1000 g

X ——— 174.60 g

X = 0.9 ml de solución salina.

- Tratamiento "B": Grupo control positivo - Ibuprofeno 10mg/kg

Peso promedio de las ratas: 189.40 g

Administrar ibuprofeno 10mg/Kg

10 mg ——— 1000 g

X ——— 189.40 g

X = 1.9 mg

Presentación del ibuprofeno jarabe 100mg/5ml

100 mg ——— 5ml

1.9 mg ——— x

X = 0.1 mg

- Tratamiento "C": Grupo problema – Extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% (100mg/Kg).

Peso promedio de las ratas: 213.80 g

Administrar extracto al 10% 100mg/Kg

100 mg ——— 1000 g

X ——— 213.80 g

X = 21.38 mg

Presentación del extracto al 10%

$$1000 \text{ mg} \text{ ——— } 100 \text{ ml}$$

$$21.38 \text{ mg} \text{ ——— } x$$

$$X = 2.1 \text{ ml de extracto al 10\%}$$

- Tratamiento "D": Grupo problema – Extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 20% (250mg/Kg).

Peso promedio de las ratas: 227.40 g

Administrar extracto al 20% 250mg/Kg

$$250 \text{ mg} \text{ ——— } 1000 \text{ g}$$

$$X \text{ ——— } 227.40 \text{ g}$$

$$X = 56.85 \text{ mg}$$

Presentación del extracto al 20%

$$2000 \text{ mg} \text{ ——— } 100 \text{ ml}$$

$$56.85 \text{ mg} \text{ ——— } x$$

$$X = 2.8 \text{ ml de extracto al 20\%}$$

**TABLA N°3**

Esquema de trabajo para evaluar el efecto antiinflamatorio.

	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>VOLUMEN ADMINISTRADO</b>	<b>NÚMERO DE ANIMALES</b>	<b>ALBÚMINA 1% (ml)</b>
<b>A</b>	Grupo control negativo (solución salina).	<b>0.9 ml</b>	5	0.1 ml
<b>B</b>	Grupo control positivo (Ibuprofeno 10mg/kg).	<b>0.1 ml</b>	5	0.1 ml
<b>C</b>	Extracto etanolico de raíz de <i>Waltheria ovata</i> Cav. 10% (100mg/Kg).	<b>2.1ml</b>	5	0.1 ml
<b>D</b>	Extracto etanolico de raíz de <i>Waltheria ovata</i> Cav. 20% (250mg/Kg).	<b>2.8 ml</b>	5	0.1 ml

Elaboración Propia 2017.

Tabla N°3: indica que el volumen administrado de los tratamientos según su peso, tratamiento "A" control negativo - solución salina fue de 0.9 ml, para tratamiento "B" control positivo- ibuprofeno 10mg/kg fue de 0.1 ml, tratamiento "C" extracto etanolico de raíz de *W. ovata* Cav. 10% se administró 2.1 ml y tratamiento "D" extracto etanolico de raíz de *W. ovata* Cav. 20% se administró 2.8 ml.

Se utilizó un micrómetro digital STAINLESS HARDENED para medir los volúmenes normales e inflamados de la pata posterior derecha a 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas posterior a la aplicación del agente irritante la albúmina 1%.

Por diferencia de los volúmenes en las patas medidas antes de generar la inflamación y a la 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas se calcula el porcentaje de inflamación con la siguiente formula:

$$\% \text{ de inflamación} = (V_t - V_o / V_o) \times 100$$

**V<sub>t</sub>** = Volumen de la pata inflamada a un tiempo x.

**V<sub>o</sub>** = Volumen normal

Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para establecer la significancia estadística del tratamiento.

### **Análisis estadístico**

Los resultados que se obtuvieron en el bioensayo del edema plantar inducido por albumina 1% se procesaron empleando del programa IBM SPSS mediante la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) que esta ya estandarizado, pero antes de realizar dicha prueba se evaluaron los datos reflejados en la estadísticas descriptivas del porcentaje de inflamación, para comprobar la homogeneidad de las varianzas se empleó la prueba de Levene, lo cual permitió hacer la prueba ANOVA a través de la Prueba estadística de Fisher y finalmente las comparaciones múltiples (DMS) utilizando la distribución t student.

**CAPÍTULO V**  
**PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE**  
**RESULTADOS**

**5.1 Análisis de tablas y gráficos**

DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE RAÍZ DE *Waltheria ovata*. Cav.

**TABLA N°4**  
**Prueba De Solubilidad**

	Éter Etílico	Benceno	Cloroformo	Agua
<b>Extracto</b>				
<b>Etanólico De</b>	(-)	(-)	(-)	(+)
<b><i>W.ovata Cav.</i></b>				

Elaboración Propia 2017.

Se determinó que el extracto etanolico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. es soluble solo en agua siendo insoluble en éter etílico, benceno y cloroformo. Los compuestos con más de un grupo funcional presentan mayor polaridad por lo que se disuelven fácilmente en agua.



TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE RAÍZ  
DE *Waltheria ovata*. Cav.

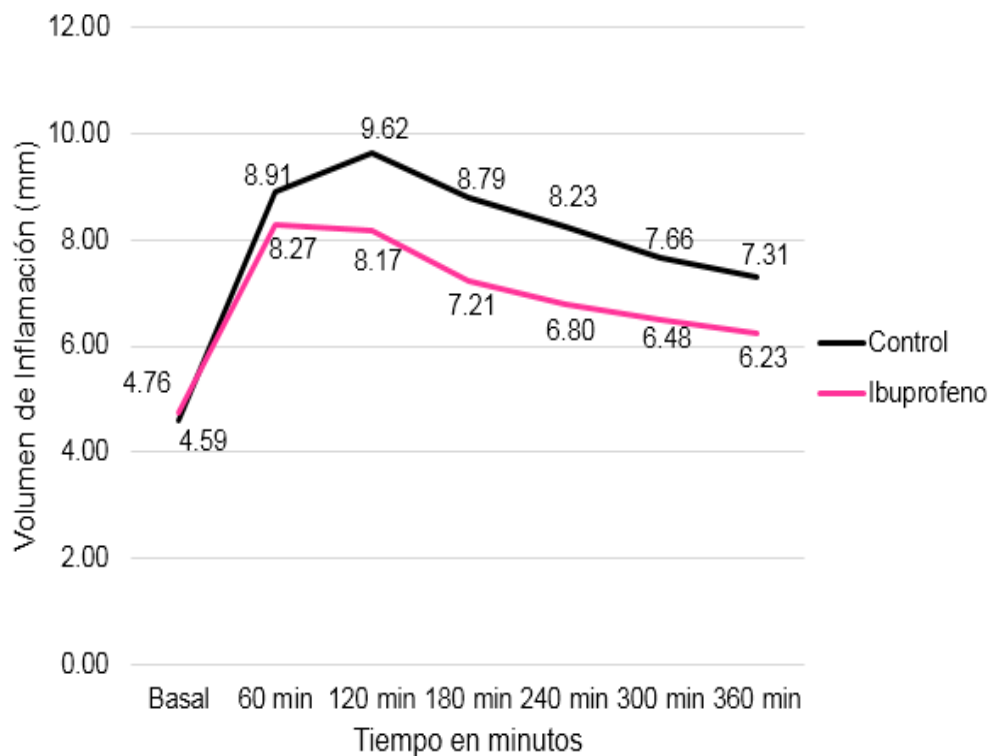
**TABLA N°5**  
**Tamizaje fitoquímico**

REACCIÓN	METABOLITO SECUNDARIO	RESULTADO
<b>Molish</b>	Carbohidratos	(+)
<b>Antrona</b>	Carbohidratos	(+)
<b>Fehling</b>	Carbohidratos reductores	(+)
<b>Dragendorff</b>	Alcaloides	(-)
<b>Mayer</b>	Alcaloides	(-)
<b>Tricloruro férico</b>	Compuestos fenólicos	(+)
<b>Shinoda</b>	flavonoides	(+)
<b>Ensayo de espuma</b>	Saponinas	(+)
<b>Borntrager</b>	Quinonas	(+)
<b>Gelatina</b>	Taninos	(+)

Presencia (+), ausencia (-)

Elaboración Propia 2017.

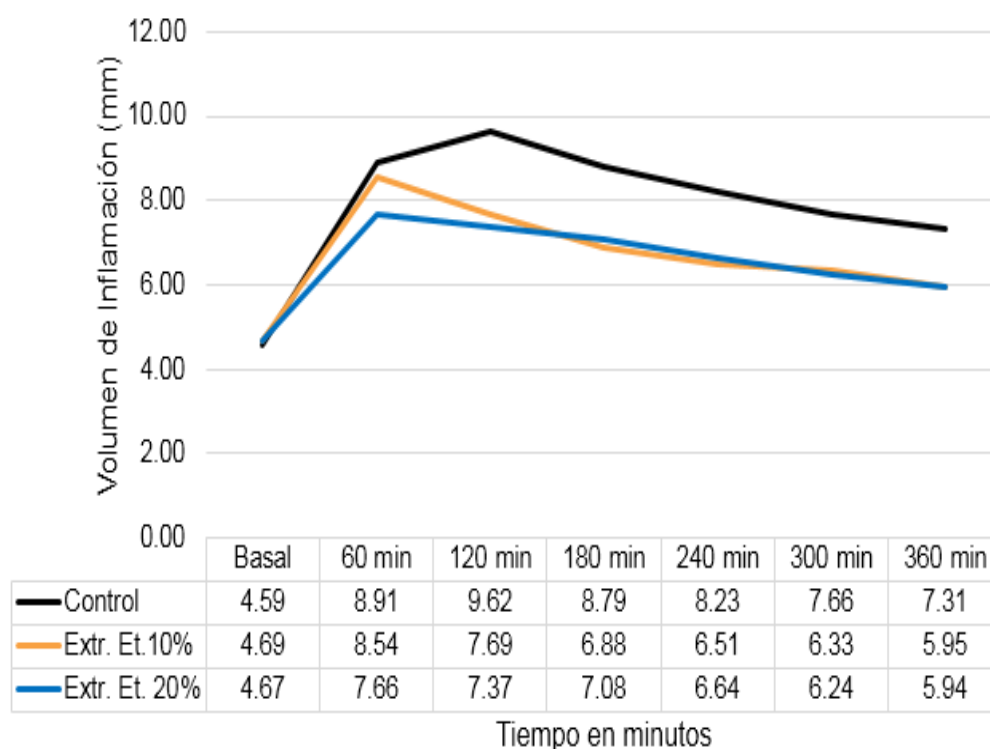
El tamizaje fitoquímico realizado al extracto etanolico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. identificó la presencia de carbohidratos, carbohidratos reductores, compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas, quinonas y taninos.



**GRÁFICO N°1:** Curva de actividad antiinflamatoria del control negativo (NaCl 0.9%) y el control positivo (Ibuprofeno).

Elaboración propia 2017.

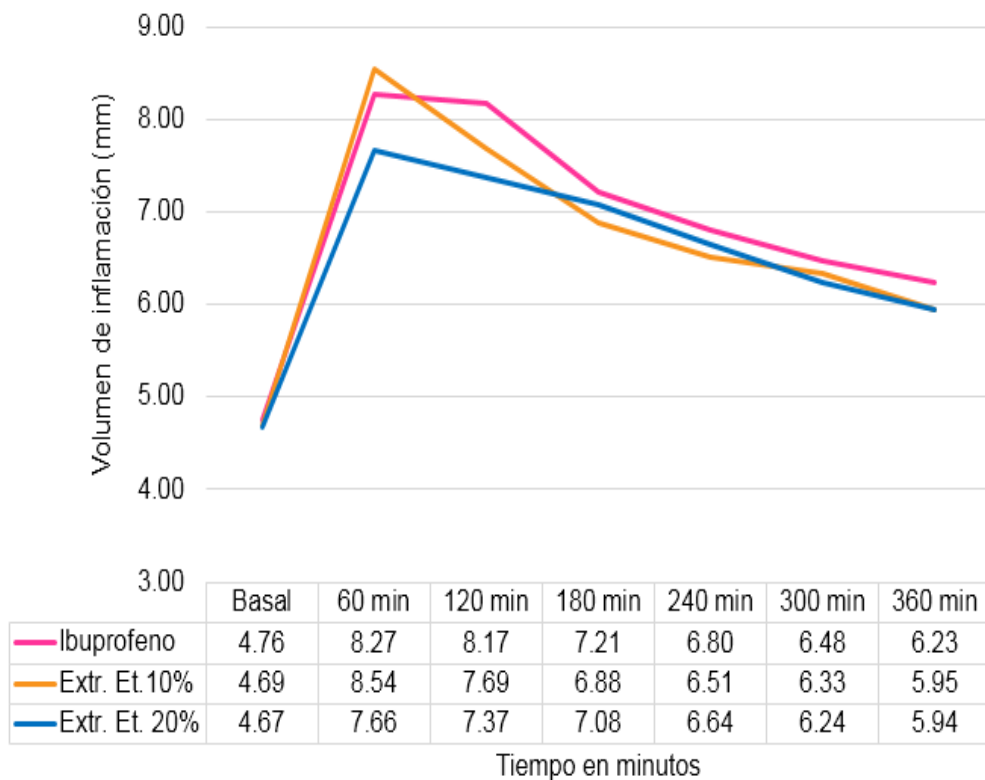
Se observa a la primera hora el volumen de inflamación del control negativo (NaCl 0.9%) más elevado con 8.91 mm que el tratado con ibuprofeno (10mg/Kg) con 8.27 mm, la inflamación va disminuyendo en el transcurso de las 6 horas hasta 7.31mm y 6.23 mm para el control negativo y el control positivo respectivamente, demostrando su actividad antiinflamatoria el control positivo (Ibuprofeno) como indica la farmacocinética las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan a la 1-2 horas después de la administración.



**GRÁFICO N°2:** Curva de actividad antiinflamatoria del control negativo (NaCl 0.9%) y los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% (100mg/kg) y 20 % (250mg/kg).

Elaboración propia 2017.

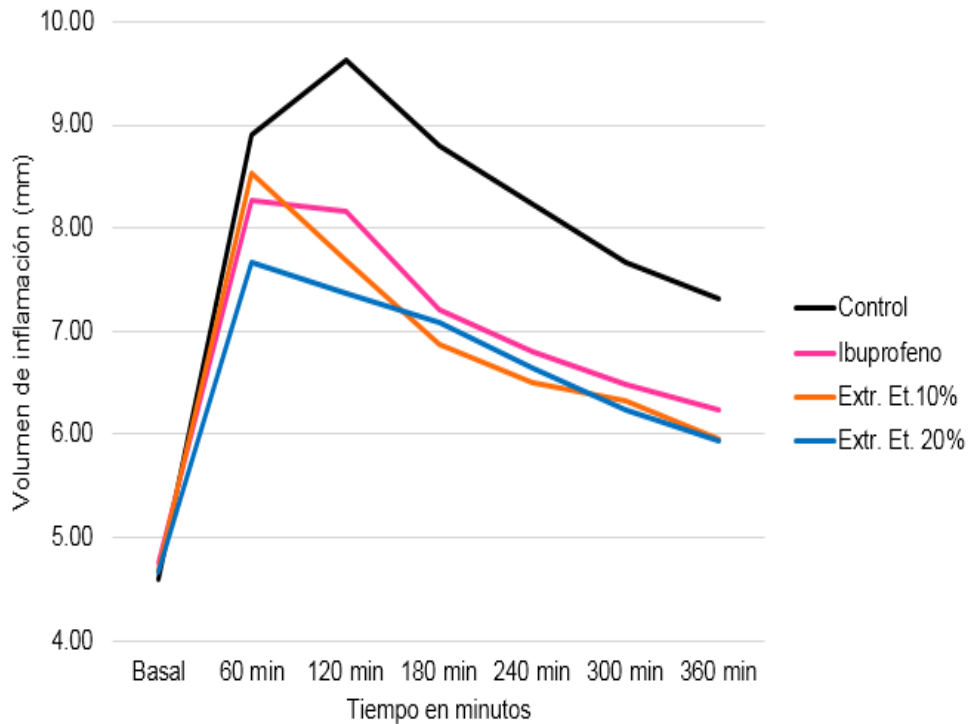
Se observa una marcada actividad antiinflamatoria de los extractos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% (100mg/kg) y 20% (250mg/kg) frente al control negativo (NaCl 0.9%) desde la primera hora con 8.54 mm y 7.66 mm de volumen de inflamación respectivamente tratando de evitar que la respuesta inflamatoria se amplifique en comparación con el control negativo que a la segunda hora transcurrida continua elevándose con 9.62 mm.



**GRÁFICO N°3:** Curva de actividad antiinflamatoria del control positivo (Ibuprofeno) y los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% (100mg/kg) y 20 % (250mg/kg).

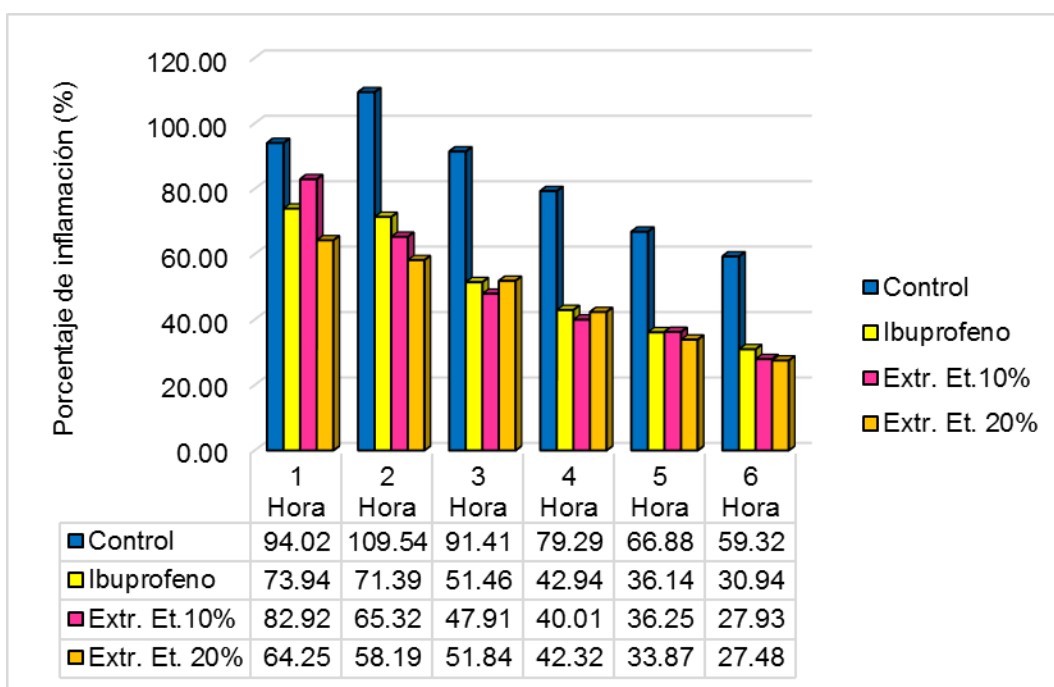
Elaboracion propia 2017.

Se observa la actividad antiinflamatoria de los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% (100mg/kg) y 20% (250mg/kg) frente al control positivo (Ibuprofeno) evidenciándose que a la primera hora el extracto etanólico al 20% presenta un volumen de inflamación de 7.66mm menor al ibuprofeno de 8.27mm, a partir de la segunda hora los extractos etanólicos al 10% y 20% presentan actividad antiinflamatoria mayor que el ibuprofeno con un volumen de inflamación final de 5.95mm y 5.94mm respectivamente a la sexta hora.



**GRÁFICO N°4:** Curva de actividad antiinflamatoria del control negativo (NaCl 0.9%), control positivo (Ibuprofeno) y los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% (100mg/kg) y 20 % (250mg/kg). Elaboracion propia 2017.

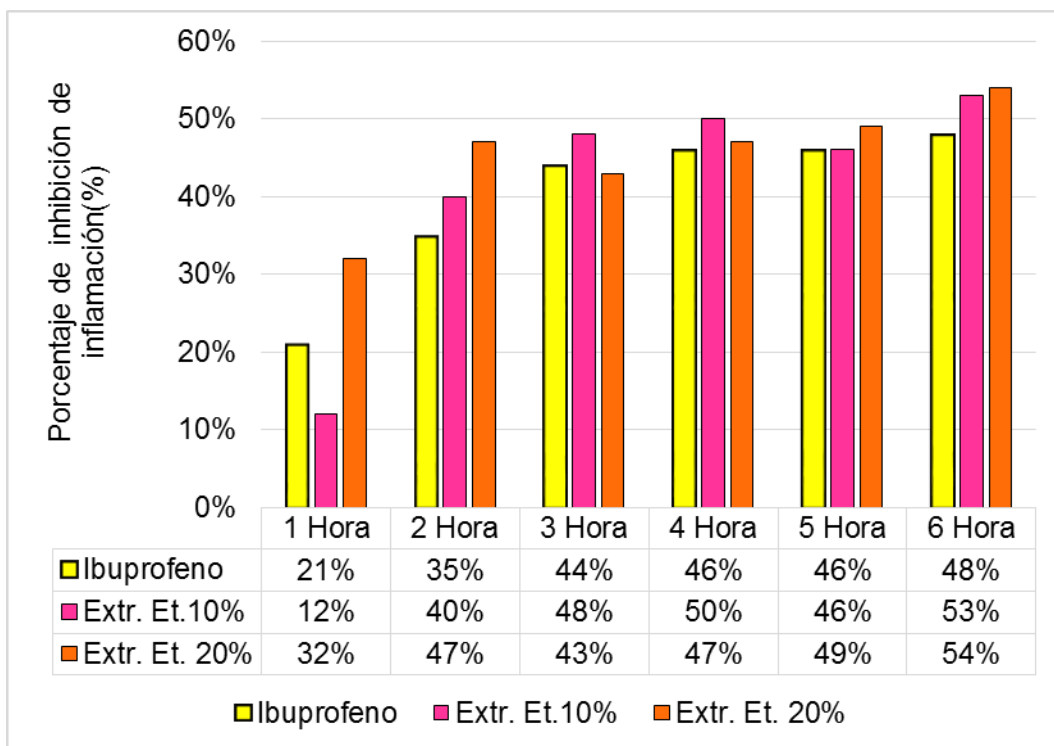
En el siguiente gráfico se comparan los volúmenes de inflamación de los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% (100mg/kg) y 20% (250mg/kg) frente al control positivo (Ibuprofeno 10mg/kg) y el control negativo (NaCl 0.9%).



**GRÁFICO N°5:** Evolución del porcentaje de inflamación promedio por Hora.

Elaboración Propia 2017.

Se observa que en la primera hora los porcentajes de inflamación se encuentran controlados tanto para el control positivo (ibuprofeno) con 73.94 % como para el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 20% (250mg/kg) con 64.25% y en menor medida el extracto etanólico al 10% con 82.92%, a partir de la segunda hora los porcentajes de inflamación tienden todos a disminuir evidenciándose de forma marcada que el porcentaje de inflamación del extracto etanólico al 10% es menor (65.32%) que el ibuprofeno empezando su actividad antiinflamatoria.



**GRÁFICO N°6:** Evolución del porcentaje de inhibición del proceso inflamatorio por Hora.

Elaboración Propia 2017.

En el siguiente gráfico se observa que el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 20% (250mg/kg) presenta mayor porcentaje de inhibición (32%) que el control positivo (ibuprofeno) con 21% y el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10 % (100mg/kg) con 12% a la primera hora, la inhibición de los extractos etanólicos se mantiene lo cual nos sugiere efectos antiinflamatorios comparables al ibuprofeno.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

**TABLA N°6**  
**Estadísticas descriptivas porcentaje de inflamación.**

Tiempo transcurrido	Tratamiento	N	Media	Desviación típica (s)	Mínimo	Máximo	% de Inhibición de la inflamación
<b>1H</b>	Control	5	94.02	5.33	75.44	105.99	0%
	Ibuprofeno	5	73.94	6.20	57.53	92.14	21%
	Extr. Et. 10%	5	82.92	8.67	65.64	114.81	12%
	Extr. Et. 20%	5	64.25	4.36	52.18	75.11	32%
<b>2H</b>	Control	5	109.54	7.36	85.53	126.16	0%
	Ibuprofeno	5	71.39	4.63	55.88	83.37	35%
	Extr. Et. 10%	5	65.32	11.55	50.41	111.17	40%
	Extr. Et. 20%	5	58.19	3.92	48.02	67.95	47%
<b>3H</b>	Control	5	91.41	4.89	79.04	107.76	0%
	Ibuprofeno	5	51.46	5.50	33.81	68.45	44%
	Extr. Et. 10%	5	47.91	11.15	31.56	90.78	48%
	Extr. Et. 20%	5	51.84	3.95	43.24	66.82	43%
<b>4H</b>	Control	5	79.29	6.87	63.10	100.44	0%
	Ibuprofeno	5	42.94	4.03	30.31	55.15	46%
	Extr. Et. 10%	5	40.01	10.50	19.88	79.85	50%
	Extr. Et. 20%	5	42.32	3.63	34.51	55.30	47%
<b>5H</b>	Control	5	66.88	6.48	51.10	90.47	0%
	Ibuprofeno	5	36.14	3.82	26.80	43.56	46%
	Extr. Et. 10%	5	36.25	10.28	18.65	75.73	46%
	Extr. Et. 20%	5	33.87	3.50	27.03	47.18	49%
<b>6H</b>	Control	5	59.32	7.40	36.84	82.93	0%
	Ibuprofeno	5	30.94	3.69	22.47	39.71	48%
	Extr. Et. 10%	5	27.93	9.97	7.17	65.78	53%
	Extr. Et. 20%	5	27.48	3.61	19.13	40.63	54%

Elaboración Propia 2017.



La Tabla N°6 nos muestra los porcentajes de inflamación promedio para cada uno de los tratamientos por cada hora de seguimiento. Se observa que para el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata Cav* al 10% (100 mg/kg) al cabo de una hora presenta un porcentaje de inhibición de la inflamación de 12%, para el extracto al 20% (250mg/kg) un porcentaje de inhibición de la inflamación 32% mientras que para el fue ibuprofeno 21%.

Al observar los promedios del porcentaje de inflamación de los extractos etanólicos al cabo de dos horas observamos que estos han disminuido hasta 65.32 y 58.19 para las concentraciones al 10% y 20% respectivamente, y luego siguen decreciendo cada hora hasta mostrar un porcentaje de inflamación de 27.93 para el Extracto etanólico al 10% y 27.48 para el extracto etanólico al 20%.

La última columna presenta el porcentaje de inhibición de la inflamación la cual puede entenderse como el efecto antiinflamatorio observado, al cabo de una hora dichos porcentajes son del 12% y del 32% para los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata Cav* al 10 y 20% respectivamente. Estos porcentajes aumentan cada hora llegando a valores máximos de 53 y 54% luego de 6 horas los cuales son incluso ligeramente superiores al ibuprofeno con 48%.

## 5.2 Discusión de los resultados

Se encontraron metabolitos secundarios en el extracto etanólico de *Waltheria ovata*. Cav. como carbohidratos, carbohidratos reductores, compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas, quinonas y taninos (Tabla N°5) este resultado concuerda con los estudios realizados por **Herrera et al (2016) y Herrera. O (2014)** quienes además realizaron la reacción de Lieberman burchard el cual confirma la presencia de triterpeno y/o esteroides, la reacción con NINHIDRINA presencia de aminas libres y la reacción de Wagner confirmando la ausencia de alcaloides, siendo esta última compatible con los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de la presente investigación. Por el contrario **Zongo et al (2013)** demostró la presencia de alcaloides en la especie de *Waltheria indica*, es probable que un mayor estudio sobre otras partes de la planta *Waltheria ovata*. Cav. contengan alcaloides ya que se trata de especies que pertenecen a un mismo género.

En las investigaciones realizadas por **Diaz h. (2016) y Ramírez E. (2014)** se obtuvo como resultado la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides a los cuales se les atribuye propiedades antialérgicas, antiinflamatorias, antitrombóticas y antimicrobianas, por consiguiente se realizaron pruebas para determinar su capacidad antioxidante por el método DPPH utilizando concentraciones de 75, 100, 200 y 300 µg/mL en comparación con los estudios realizados al recurso vegetal *Waltheria ovata* Cav. por **Herrera et al (2016) y Herrera. O (2014)** en el cual se requerían concentraciones muy bajas de 0.1, 0.5 y 1.0 µg/mL para reducir el radical DPPH, FRAP y ABTS siendo el extracto más activo que los controles de vitamina C y Trolox, además se cuantificó el contenido de polifenoles totales presentes en el extracto etanólico de *Waltheria ovata* Cav. obteniendo como resultado  $2250 \pm 23$  mgEAG/g extracto es probable el efecto antiinflamatorio observada en los extractos

etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% y 20% de la presente investigación sea por la capacidad antioxidante de los polifenoles y flavonoides presentes a través de la captación de radicales libres como anión superóxido, anión peróxido, radical perhidroxilo e hidroxilo frecuentemente involucradas en los procesos inflamatorios por medio de dos reacciones como la transferencia de un átomo de H (Hydrogen Atom Transfer, HAT) o de transferencia de un electrón (Single Electron Transfer, SET).

El estudio realizado por **Zongo et al (2013)** menciona que los flavonoides (-) - epicatequina, quercetina y tilirosida aislados de toda la planta de *Waltheria indica* son responsables de reducir la inflamación, por tratarse de un recurso vegetal de la misma familia y género probablemente estos flavonoides se encuentren presentes en los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% y 20%.

El extracto etanólico de *Waltheria ovata*. Cav. es insoluble en éter etílico, benceno y cloroformo y soluble en agua (Tabla N°4) por lo tanto se llegó a la conclusión que los metabolitos presentes sean compuestos polares en su totalidad.

La actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% (100mg/kg) y al 20 % (250mg/kg) se evaluó con el bioensayo de inducción del edema plantar de igual manera a los estudios realizados por **Diaz H. (2016)**, **Ramírez E. (2014)**, **Santamaría L. (2011)** y **Velásquez E. (2008)** debido a que esta técnica es de gran utilidad para determinar el efecto antiinflamatorio de diferentes extractos, es replicable, sencilla y la cantidad de muestra a utilizar no es demasiada logrando de esta forma desarrollar las curvas dosis efecto, pero a la vez también se quiso demostrar la influencia de las concentraciones de los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. al 10% y 20% a una dosis de 100mg/kg y 250mg/kg respectivamente demostrando que

no se necesita grandes cantidades del recurso vegetal seco para lograr el efecto deseado.

El estudio realizado por **Herrera et al (2016)** se evaluó la actividad analgésica de extracto etanólico de la raíz de *W. ovata*. Cav. con la prueba de lamida de pata inducida por formalina la cual produce una respuesta nociceptiva bifásica: una respuesta neurogénica (dolor central) o mediadores inflamatorios (dolor periférico). En la primera fase están involucradas la sustancia P y la bradiquinina y la segunda fase dolor inflamatorio por mediadores como la serotonina, la histamina y la prostaglandina dando como resultado que el extracto etanólico de *Waltheria ovata*. Cav. de 300mg/kg fue significativo en primera fase con un porcentaje de reducción de 58.6% y en la segunda fase con una inhibición del 92.5%, mientras que la morfina fue significativa en la primera y segunda fase con 73.2% y 91.8% respectivamente, esta investigación confirmaría también el efecto antiinflamatorio de *Waltheria ovata* Cav. puesto que actúa sobre varios mediadores de la inflamación principalmente serotonina, histamina y prostaglandinas siendo su efecto más potente que el de la morfina.

El efecto antiinflamatorio de los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. se comparó con ibuprofeno 10mg/kg un producto farmacéutico ampliamente conocido por sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. El extracto etanólico de *Waltheria ovata*. Cav. al 20% presento una mejor respuesta a la primera hora con 32% de inhibición de la inflamación (p valor<0.05) frente al ibuprofeno 10mg/kg con 21%, al cabo de las 6 horas transcurridas se observa que estos porcentajes aumentan llegando a valores máximos de 54% para el extracto etanólico de *Waltheria ovata*. Cav al 20% (250mg/kg) siendo incluso ligeramente superior al Ibuprofeno (10mg/kg) con un 48% de inhibición inflamatoria comprobando así que el extracto de *Waltheria ovata*. Cav. al 20 %

actuaría tanto en la primera fase en el cual hay liberación de histamina, serotonina y quininas y en la segunda fase que actúan las prostaglandinas, lisosomas y proteasas inducidas por la administración de albumina al 1%.

Por el contrario el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) al 10% (Dosis: 100mg/kg) presenta una actividad antiinflamatoria ( $p$  valor $<0.05$ ) a partir de la segunda hora de su administración con un 40% un efecto comparable al ibuprofeno ( $p$  valor $>0.05$ ) de 35% y es continuo a lo largo de 5 horas de seguimiento deduciendo que su actividad antiinflamatoria empezaría en la fase tardía de la respuesta inflamatoria aguda.

El presente estudio demuestra la propiedad antiinflamatoria del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. la cual sería una nueva alternativa para tratamiento de patologías de característica inflamatoria o creación de nuevos fitofármacos.

## CONCLUSIONES

- Se determinó que los extractos etanólicos de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) al 10% y 20% modifican la actividad antiinflamatoria.
- El extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) al 20% presento un porcentaje de inhibición de inflamación pasando del 32% en una hora al 54% en el lapso de 6 horas.
- El extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) con concentración al 10% presento un porcentaje de inhibición de inflamación a partir de la segunda hora pasando del 40% al 53% en el lapso de 5 horas.
- Se identificó metabolitos secundarios en el extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) de los cuales los compuestos fenólicos y flavonoides jugarían un rol importante en los procesos inflamatorios a través de la captación de radicales libres.
- La concentración del extracto etanólico de raíz de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco) al 20% es la más adecuada para procesos inflamatorios existiendo una relación directa que a mayor concentración mayor actividad antiinflamatoria.

## RECOMENDACIONES

- Realizar otros estudios de fraccionamiento guiado y poder determinar la estructura química de los metabolitos presentes responsables de la actividad antiinflamatoria de *Waltheria ovata*. Cav. (Lucraco).
- Realizar estudios fitoquímicos de otras partes de la planta como flor, tallo, hojas de *Waltheria ovata*. Cav. para mayor aprovechamiento de este recurso natural.
- Se debe hacer mayor seguimiento a la administración conjunta entre los preparados derivados de recursos vegetales y fármacos o alimentos los cuales provocarían también reacciones adversas desfavorables en los pacientes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Kantar Worldpanel: El 95% de peruanos afirma automedicarse. Gestión 2017. Setiembre 26. Sec. Economía: p. 4B.
- 2 Alegría OJ. Prevalencia Del Uso De Antiinflamatorios No Esteroideos En La Población Del Centro Poblado Año Nuevo. Comas-Lima, 2014. Título De Químico Farmacéutico. Lima-Perú. Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote. Escuela Profesional De Farmacia Y Bioquímica.2014.
- 3 Las 10 enfermedades que más padecen los peruanos. [Sitio en internet]. Disponible en: <https://elcomercio.pe/peru/10-enfermedades-padecen-peruanos-noticia-471998?foto=2>. Consultado: 10 de setiembre del 2017.
- 4 Organización mundial de la salud. Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales [sitio en internet]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>. Consultado: 23 de agosto del 2017.
- 5 Herrera Calderón O, Enciso Roca E, Pari Olarte B, Arroyo Acevedo J. PHYTOCHEMICAL SCREENING, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND ANALGESIC EFFECT OF *Waltheria ovata* Cav. ROOTS IN MICE. *Asian Pac J Trop Dis* 2016; 6(12): 1000-1003.
- 6 Diaz Martinez H. Actividad Antiinflamatoria Y Antioxidante Del Extracto Hidroalcohólico Del Látex De *Argemone mexicana* ("CARDOSANTO") [Tesis para título profesional de Química Farmacéutica]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
- 7 Herrera Calderón, O. Efecto Antioxidante Y Antitumoral In Vitro Del Extracto Etanólico De La Raíz De *Waltheria ovata* Cav. "LUCRACO" En Línea Celular De Cáncer De Próstata DU-145 [Tesis para Grado Académico de Magister en Farmacología con Mención en



- Farmacología Experimental]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
- 8 Ramírez E. Actividad Antiinflamatoria E Inmunomoduladora Del Extracto Clorofórmico De Las Hojas De *Chuquiraga lessing* "HUAMANPINTA" [Tesis para Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica]. Lima: Universidad Mayor de San Marcos; 2014.
  - 9 La investigación realizada por Zongo F, Ribuo C, Boumendjel A, Guissou I. BOTANY, TRADITIONAL USES, PHYTOCHEMISTRY AND PHARMACOLOGY OF WALTHERIA INDICA L. (SYN. WALTHERIA AMERICANA): A REVIEW. *Journal of Ethnopharmacology* 148. 2013: 14-26 pág.
  - 10 Santamaría L. Evaluación De La Actividad Antiinflamatoria De Extractos De Verdolaga (*Portulaca oleracea*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con Edema Inducido Por Carragenina en el Bioterio EPOCH [Tesis para título de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2011.
  - 11 Velásquez E. Validación Farmacológica De La Actividad Antiinflamatoria De Las Infusiones Acuosas de las Hojas de *Buddleja americana* L. (SALVIA SANTA), Hojas de *Eupatorium semialatum* (BACCHÉ) y Hojas de *Psidium guajava* L. (GUAYABA) en ratas hembras albinas [Tesis para título de Química Farmacéutica]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2008.
  - 12 Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Taxonomía De Las Fanerógamas Útiles Del Perú. Trujillo- Perú. Normas Legales S.A.C. 2002. pp: 502-503.
  - 13 Loja B, Contribución al estudio florístico de la provincia de concepción, (JUNÍN): dicotiledóneas. Grado académico de magister en botánica tropical. Lima- Perú. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Facultad De Farmacia Y Bioquímica.2002.

- 14 Loaiza Gutiérrez V. Análisis Del Efecto Antiviral De *Waltheria Americana* L (Standley Y Steyermark, 1949) En El Proceso Infeccioso De Rotavirus Humano Sobre Células Ma 104. [Tesis Para Título Maestría En Ciencias Con Acentuación En Microbiología]. México: Universidad Autónoma De Nuevo León. 2014.
- 15 Saunders J. Sterculiaceae of Paraguay. II. *Waltheria*. BONPLANDIA 16(1-2): 143-180.2007
- 16 Rojas N, Avellaneda S, Cuéllar A, Romeu B, Lugo D. Actividad antimicrobiana de *Waltheria indica* y *Acacia farnesiana*. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 40, No. 2, 2009.
- 17 Shai J, Masoko P, Makgotho P, Magano R, *et al.* Yeast alpha glucosidase inhibitory and antioxidant activities of six medicinal plants collected in Phalaborwa, South Africa. South African. 2010. Journal of Botany. 76:465-470.
- 18 Mongalo I, Opoku R, Zobolo M. Antibacterial and antioxidant activity of extracts from *Waltheria indica* L. South Africa. University of Zululand. 2013.
- 19 Zárate R, Morí T, Macedo N, Gallardo G, Flores M, Martínez P, Ramírez F, Torres L. Contribución Al Conocimiento De La Composición Florística Del Departamento De Huánuco, Perú. Rev. folia Amazónica vol. 24 (1) 2015: 91-100.
- 20 Arakaki M, Cano A. Composición Florística De La Cuenca Del Rio Ilo-Moquegua Y Lomas De Ilo, Moquegua, Perú. Rev. Perú biol. 10(1): 5-19 (2003).
- 21 Santos E. Padilla- Sagástegui. Evaluación De La Biodiversidad Y Caracterización Ecológica De La Comunidad Vegetal De La Campiña De Simbal, La Libertad Entre Junio Y Julio Del 2012. SCIÉNDIO 16(1):37-51,2013.
- 22 Zegarra R. Vegetación Desértica Del Valle De Cinto. Rev. cien y des. 7(1):13-19, 2012.

- 23 Vargas HA, Vargas-Ortiz M, Huanca-Mamani W, Bobadilla D. First record of *Acrocercops serrigera serrigera* Meyrick (Lepidoptera: Gracillariidae) from Chile. *Neotrop Entomol* 2013; 42(1): 112-4.
- 24 García P. Inflamación. IX programa de promoción de la cultura científica y tecnológica. Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat. (Esp). Vol. 102, Nº. 1, pp 91-159, 2008
- 25 Vega G. Inmunología Para El Médico General: Inflamación. Rev Fac Med UNAM Vol. 51 No. 5 septiembre-octubre, 2008.
- 26 García A, López J, Sánchez M. Respuesta Inflamatoria Sistémica: Fisiopatología Y Mediadores. *Med Intensiva NÚM.* 8. 2000; 24: 353-360.
- 27 Goodman y Gilman. las bases farmacológicas de la terapéutica. 11<sup>va</sup> Ed. California. McGraw Hill Interamericana. 2010. pp: 629-671.
- 28 Floréz J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacología Humana. 5<sup>TA</sup> Ed. Barcelona-España. Elsevier Masson. 2008. pp: 391-455.
- 29 Lin E, Calvano E, Lowry F – Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*, 2000; 127:117-126.
- 30 Sommer C, White F, Beaulieu P, Lussier D, Porreca F et al. Cytokines, Chemokines, and Pain :Pharmacology of Pain. 1st Ed, Seattle, IASP Press, 2010; 279-302
- 31 Zhang M, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin* 2007; 45:27-37.
- 32 Barros O, Kimiko R, Machado I, Gerola L. Citocinas y Dolor. *Rev Bras Anesthesiol.* 2011; 61: 2: 137-142.
- 33 CYTED. Manual de técnicas de investigación. Subprograma X-1. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. 1995.

- 34 Jaimes Barreto J. Evaluación Preliminar De La Actividad Antiinflamatoria De Las Fracciones Obtenidas De Los Extractos En Petrol Y En Etanol De Hojas Y Corteza De La Planta *Bursera Tomentosa* (Jacq) Tr. & Pl. [Tesis Para Título Profesional De Biólogo]. Bogotá, D.C: Pontificia Universidad Javeriana; 2009.
- 35 Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. *J Pharmacobiodyn.* 1981; 4: 565-756.
- 36 Winter C, Risley E, Nuss G. Carrageenin- induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111: 544-547, 1962. [Merck Institute for Therapeutic Research, West point, PA].
- 37 Delporte V. Farmacognosia. Departamento de química farmacológica y toxicológica. Universidad de Chile. 2010.
- 38 Rubio Taipe P. DISEÑO Y ELABORACIÓN DE UN LIPO GEL ANTIINFLAMATORIO DE *Baccharis teindalensis* Kunt. (CHILCA). [Tesis para título profesional de Química Farmacéutica]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. 2013.
- 39 Churampi López L., Montes Manrique E. EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL FRUTO DE *passiflora mollissima* (kunth) I.h.bailey “tumbo serrano” Y SU USO COMO ACTIVO BIOLOGICO EN INDUSTRIA COSMETICA. [Tesis para título profesional de Química Farmacéutica]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
- 40 Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica. 12<sup>va</sup> Edición. Barcelona-España. Elsevier Saunders.2011. pp 4.

41 Medina A. Manual de Terminología Médica. Lima- Perú. Ventura editores impresores S.A.C. 2013.

# **ANEXOS**

## ANEXO N°1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título: EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE RAÍZ DE *Waltheria ovata*. Cav. (LUCRACO) SOBRE SU ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA. Bachiller: HUGO LEÓN, Carla Sofía

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	NIVEL Y MÉTODO DE INVESTIGACIÓN	VARIABLES	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p>¿Cuál es el efecto de la concentración del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria?</p> <p><b>Problemas Específicos</b>  <b>P.E.1:</b>                      ¿Cuál es el efecto de la concentración al 10% del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria?</p> <p><b>P.E.2:</b>                      ¿Cuál es el efecto de la concentración al 20% del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria?</p> <p><b>P.E.3:</b>                      ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios que contiene el extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco)?</p> <p><b>P.E.4:</b>                      ¿Cuál de las dos concentraciones de extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. tendrá mayor actividad antiinflamatoria?</p>	<p>Determinar el efecto de la concentración del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria</p> <p><b>Objetivos Específicos</b>  <b>O.E.1:</b>                      Determinar el efecto de la concentración al 10% del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria.</p> <p><b>O.E.2:</b>                      Determinar el efecto de la concentración al 20% del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) sobre su actividad antiinflamatoria.</p> <p><b>O.E.3:</b>                      Identificar los metabolitos secundarios contenidos en el extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco).</p> <p><b>O.E.4:</b>                      Determinar cuál de las dos concentraciones de extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. tiene mayor actividad antiinflamatoria.</p>	<p>La concentración del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) modifica su actividad antiinflamatoria.</p> <p><b>Hipótesis Especificas</b>  <b>H.E.1:</b>                      La concentración al 10% del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) modifica su actividad antiinflamatoria.</p> <p><b>H.E.2:</b>                      La concentración al 20% del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) modifica su actividad antiinflamatoria.</p> <p><b>H.E.3:</b>                      Los metabolitos secundarios contenidos en el extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) presentan actividad antiinflamatoria.</p> <p><b>H.E.4:</b>                      El extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. al 20% presenta mayor actividad antiinflamatoria.</p>	<p><b>Tipo de Investigación:</b>  <b>Cuantitativa:</b>                      Se basa en el análisis de datos para determinar si la concentración del extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco) modifica su actividad antiinflamatoria.</p> <p><b>Analítica:</b>                      Consiste en la comparación de los resultados obtenidos al aplicar la Técnica de Winter modificada.</p> <p><b>Transversal:</b>                      Porque las variables serán medidas en una sola ocasión y luego analizadas.</p> <p><b>Prospectiva:</b>                      Porque la investigación se realizara desde junio a octubre del 2017.</p> <p><b>Nivel de Investigación:</b>  <b>Explicativa:</b>                      Porque se evaluara la relación entre las variables dependientes e independientes analizadas previamente.</p>	<p><b>Método de Investigación:</b>  <b>Deductivo:</b>                      Porque va de lo general a lo particular para comprobar las hipótesis que se plantean.</p> <p><b>Diseño de investigación:</b>  <b>Experimental:</b>                      La variable dependiente será manipulada, observada y analizada para demostrar el efecto de la concentración del extracto etanólico sobre la actividad antiinflamatoria de <i>Waltheria ovata</i> Cav. (Lucraco).</p>	<p><b>Variable Independiente (X)</b>                      Efecto de la concentración del Extracto etanólico de raíz de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco)</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentración al 10%.</li> <li>• Concentración al 20%.</li> </ul> <p><b>Variable Dependiente (Y)</b>                      Actividad antiinflamatoria</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Porcentaje de la inhibición de la inflamación.</li> </ul>	<p><b>Población :</b>                      Planta:  <i>Waltheria ovata</i>. Cav. ( Lucraco)                      de Ica</p> <p><b>Muestra:</b>                      200 ml de Extracto etanólico de raíces de <i>Waltheria ovata</i>. Cav. (Lucraco)</p>

**ANEXO N° 2**  
**CERTIFICACIÓN BOTÁNICA**

 	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS</b> Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b>	
<hr/> <p><i>"Año del Buen Servicio al Ciudadano"</i></p> <hr/>		
<p><b>CONSTANCIA N° 233-USM-2017</b></p>		
<p>EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>		
<p>La muestra vegetal (planta estéril) recibida de <b>Carla Sofía HUGO LEON</b>, estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad ALAS PERUANAS; ha sido estudiada y clasificada como: <b><i>Waltheria ovata</i></b>. Cav. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).</p>		
<p><b>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</b></p>		
<p><b>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</b></p>		
<p><b>SUBCLASE: DILLENIIDAE</b></p>		
<p><b>ORDEN: MALVALES</b></p>		
<p><b>FAMILIA: STERCULIACEAE</b></p>		
<p><b>GENERO: <i>Waltheria</i></b></p>		
<p><b>ESPECIE: <i>Waltheria ovata</i></b>. Cav.</p>		
<p>Nombre vulgar: "lucraco" Determinado por Mg. Hamilton Beltrán Santiago</p>		
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines que estime conveniente</p>		
<p>Lima, 26 de Octubre de 2017</p>		
<p> <b>Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA</b> JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)</p>		
		
<p>ACE/ddb</p>		



### ANEXO N° 3

#### FICHA DE DATOS EXPERIMENTALES

TRATAMIENTO "A": Grupo control negativo (NaCl 0.9% + albumina 1%)							
N° RATA	BASAL	1 HORA	2 HORA	3 HORA	4 HORA	5 HORA	6 HORA
RATA 1	4.56	8.00	8.46	8.40	7.54	6.89	6.24
RATA 2	4.58	9.25	10.20	8.20	7.47	7.40	7.07
RATA 3	4.65	8.86	9.40	9.01	8.54	7.75	7.47
RATA 4	4.51	9.29	10.20	9.37	9.04	8.59	8.25
RATA 5	4.66	9.14	9.84	8.96	8.57	7.67	7.54
<b>PROMEDIO +/- ES</b>	<b>4.59</b>	<b>8.91</b>	<b>9.62</b>	<b>8.79</b>	<b>8.23</b>	<b>7.66</b>	<b>7.31</b>

Elaboración Propia 2017.

TRATAMIENTO "A": % de inflamación del Grupo control negativo (NaCl 0.9% + albumina 1%)						
N° RATA	1 HORA	2 HORA	3 HORA	4 HORA	5 HORA	6 HORA
RATA 1	75.44	85.53	84.21	65.35	51.10	36.84
RATA 2	101.97	122.71	79.04	63.10	61.57	54.37
RATA 3	90.54	102.15	93.76	83.66	66.67	60.65
RATA 4	105.99	126.16	107.76	100.44	90.47	82.93
RATA 5	96.14	111.16	92.27	83.91	64.59	61.80
<b>PROMEDIO +/- ES</b>	<b>94.01</b>	<b>109.54</b>	<b>91.41</b>	<b>79.29</b>	<b>66.88</b>	<b>59.32</b>

Elaboración Propia 2017.

<b>TRATAMIENTO "B": Grupo control positivo (Ibuprofeno 10mg/kg + albumina 1%)</b>							
<b>N° RATA</b>	<b>BASAL</b>	<b>1 HORA</b>	<b>2 HORA</b>	<b>3 HORA</b>	<b>4 HORA</b>	<b>5 HORA</b>	<b>6 HORA</b>
<b>RATA 1</b>	4.66	8.20	8.06	7.85	7.23	6.69	6.14
<b>RATA 2</b>	4.85	7.64	7.56	6.49	6.32	6.15	5.94
<b>RATA 3</b>	4.58	8.80	7.69	7.02	6.57	6.50	6.33
<b>RATA 4</b>	4.81	8.70	8.82	7.24	7.01	6.81	6.72
<b>RATA 5</b>	4.92	8.03	8.70	7.44	6.89	6.24	6.03
<b>PROMEDIO +/- ES</b>	<b>4.76</b>	<b>8.27</b>	<b>8.17</b>	<b>7.21</b>	<b>6.80</b>	<b>6.48</b>	<b>6.23</b>

Elaboración Propia 2017.

<b>TRATAMIENTO "B": % de inflamación del Grupo control positivo (Ibuprofeno 10mg/kg + albumina 1%)</b>						
<b>N° RATA</b>	<b>1 HORA</b>	<b>2 HORA</b>	<b>3 HORA</b>	<b>4 HORA</b>	<b>5 HORA</b>	<b>6 HORA</b>
<b>RATA 1</b>	75.97	72.96	68.45	55.15	43.56	31.76
<b>RATA 2</b>	57.53	55.88	33.81	30.31	26.80	22.47
<b>RATA 3</b>	92.14	67.90	53.28	43.45	41.92	38.21
<b>RATA 4</b>	80.87	83.37	50.52	45.74	41.58	39.71
<b>RATA 5</b>	63.21	76.83	51.22	40.04	26.83	22.56
<b>PROMEDIO +/- ES</b>	<b>73.94</b>	<b>71.39</b>	<b>51.46</b>	<b>42.94</b>	<b>36.14</b>	<b>30.94</b>

Elaboración Propia 2017.

<b>TRATAMIENTO "C": Extracto etanolico de <i>W.ovata Cav</i> 10% (100mg/Kg) + albumina 1%</b>							
<b>N° RATA</b>	<b>BASAL</b>	<b>1 HORA</b>	<b>2 HORA</b>	<b>3 HORA</b>	<b>4 HORA</b>	<b>5 HORA</b>	<b>6 HORA</b>
<b>RATA 1</b>	4.76	8.70	7.54	7.09	6.68	6.50	6.02
<b>RATA 2</b>	4.12	8.85	8.70	7.86	7.41	7.24	6.83
<b>RATA 3</b>	4.88	8.89	7.34	6.42	5.85	5.79	5.23
<b>RATA 4</b>	4.81	8.14	7.48	6.43	6.14	6.03	5.80
<b>RATA 5</b>	4.89	8.10	7.39	6.58	6.47	6.11	5.85
<b>PROMEDIO +/- ES</b>	<b>4.69</b>	<b>8.54</b>	<b>7.69</b>	<b>6.88</b>	<b>6.51</b>	<b>6.33</b>	<b>5.95</b>

Elaboración Propia 2017.

<b>TRATAMIENTO "C": % de inflamación del Extracto etanolico de <i>W.ovata Cav</i> 10% (100mg/Kg) + albumina 1%</b>						
<b>N° RATA</b>	<b>1 HORA</b>	<b>2 HORA</b>	<b>3 HORA</b>	<b>4 HORA</b>	<b>5 HORA</b>	<b>6 HORA</b>
<b>RATA 1</b>	82.77	58.40	48.95	40.34	36.55	26.47
<b>RATA 2</b>	114.81	111.17	90.78	79.85	75.73	65.78
<b>RATA 3</b>	82.17	50.41	31.56	19.88	18.65	7.17
<b>RATA 4</b>	69.23	55.51	33.68	27.65	25.36	20.58
<b>RATA 5</b>	65.64	51.12	34.56	32.31	24.95	19.63
<b>PROMEDIO +/- ES</b>	<b>82.93</b>	<b>65.32</b>	<b>47.90</b>	<b>40.01</b>	<b>36.25</b>	<b>27.93</b>

Elaboración Propia 2017.

<b>TRATAMIENTO "D": Extracto etanolico de W.ovata Cav 20% (250mg/Kg) + albumina 1%</b>							
<b>N° RATA</b>	<b>BASAL</b>	<b>1 HORA</b>	<b>2 HORA</b>	<b>3 HORA</b>	<b>4 HORA</b>	<b>5 HORA</b>	<b>6 HORA</b>
<b>RATA 1</b>	4.74	7.41	7.23	7.09	6.66	6.14	6.09
<b>RATA 2</b>	4.58	8.02	7.63	6.87	6.28	6.09	5.73
<b>RATA 3</b>	4.43	7.59	7.44	7.39	6.88	6.52	6.23
<b>RATA 4</b>	4.78	7.95	7.45	7.15	6.89	6.34	5.93
<b>RATA 5</b>	4.81	7.32	7.12	6.89	6.47	6.11	5.73
<b>PROMEDIO +/- ES</b>	<b>4.67</b>	<b>7.66</b>	<b>7.37</b>	<b>7.08</b>	<b>6.64</b>	<b>6.24</b>	<b>5.94</b>

Elaboración Propia 2017.

<b>TRATAMIENTO "D": % de inflamación de Extracto etanolico de W.ovata Cav 20% (250mg/Kg) + albumina 1%</b>						
<b>N° RATA</b>	<b>1 HORA</b>	<b>2 HORA</b>	<b>3 HORA</b>	<b>4 HORA</b>	<b>5 HORA</b>	<b>6 HORA</b>
<b>RATA 1</b>	56.33	52.53	49.58	40.51	29.54	28.48
<b>RATA 2</b>	75.11	66.59	50.00	37.12	32.97	25.11
<b>RATA 3</b>	71.33	67.95	66.82	55.30	47.18	40.63
<b>RATA 4</b>	66.32	55.86	49.58	44.14	32.64	24.06
<b>RATA 5</b>	52.18	48.02	43.24	34.51	27.03	19.13
<b>PROMEDIO +/- ES</b>	<b>64.25</b>	<b>58.19</b>	<b>51.84</b>	<b>42.32</b>	<b>33.87</b>	<b>27.48</b>

Elaboración Propia 2017.

**ANEXO N°4**  
**LISTA DE COTEJO**

<b>REACCIÓN</b>	<b>METABOLITO SECUNDARIO</b>	<b>RESULTADO</b>
<b>Molish</b>	Carbohidratos	(+)
<b>Antrona</b>	Carbohidratos	(+)
<b>Feling</b>	Carbohidratos reductores	(+)
<b>Dragendorff</b>	Alcaloides	(-)
<b>Mayer</b>	Alcaloides	(-)
<b>Tricloruro férrico</b>	Compuestos fenólicos	(+)
<b>Shinoda</b>	flavonoides	(+)
<b>Ensayo de espuma</b>	Saponinas	(+)
<b>Borntranger</b>	Quinonas	(+)
<b>Gelatina</b>	Taninos	(+)

(+) Presencia, (-) ausencia

Elaboración propia 2017.

ANEXO N°5

Fotos de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco)



Semillas de  
*Waltheria ovata* Cav.  
(Lucraco)

Elaboración Propia 2017.

Crecimiento de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco) a los 17 días de sembrado.



Elaboración Propia 2017.



Hojas y Tallo de  
*Waltheria ovata* Cav.  
(Lucraco)

Elaboración Propia 2017.

Flor de *Waltheria ovata*  
Cav. (Lucraco)



Elaboración Propia 2017.



*Waltheria ovata*  
Cav. (Lucraco)  
silvestre.

Elaboración Propia 2017.

Sr. Félix Quinteros  
encargado del  
herbario de la  
universidad San Luis  
Gonzaga de Ica  
de la facultad de  
Agronomía.



Elaboración Propia 2017.

## Anexo N°6

### Recolección de la raíz de *Waltheria ovata* Cav.



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.



## Anexo N°7

### Secado y preparación de los extractos de raíz de *Waltheria ovata* Cav. al 10% y 20%



Raíz de *Waltheria ovata* Cav. cortada en láminas.

Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.

Raíz de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco) secada a 40° C en la estufa.

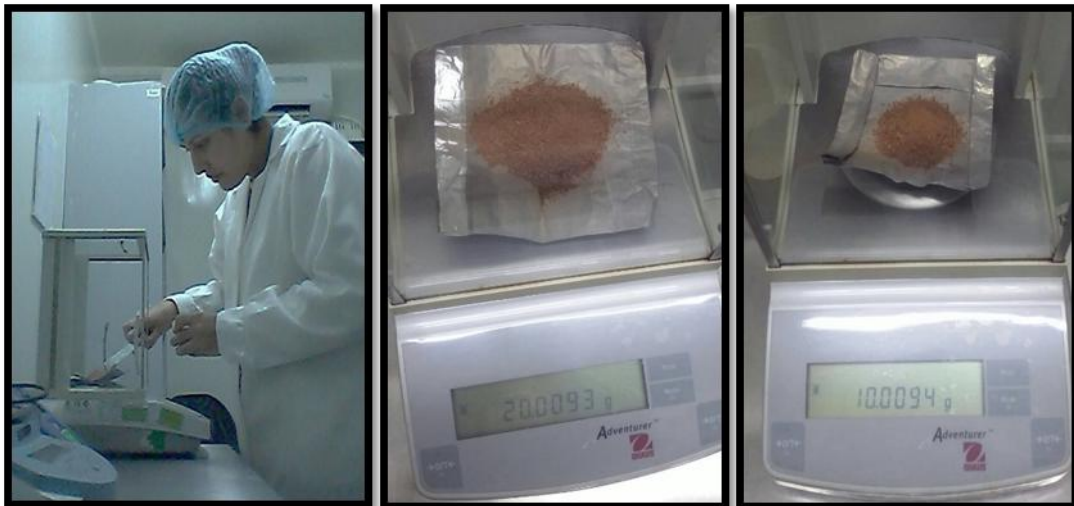


Elaboración Propia 2017.

Raíz de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco) triturada.



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.

Pesado de raíz de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco) para la elaboración de los extractos etanolicos.

Maceración y filtrado del extracto etanolic de la raíz de *Waltheria ovata* Cav. (Lucraco)



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.

Filtración del extracto etanolic al 10%

Filtración del extracto etanolic al 20%



Elaboración Propia 2017.

## Anexo N°8

### Tamizaje fitoquímico y prueba de solubilidad del extracto etanolico de raíz de *Waltheria ovata* Cav.



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.

REACTIVOS

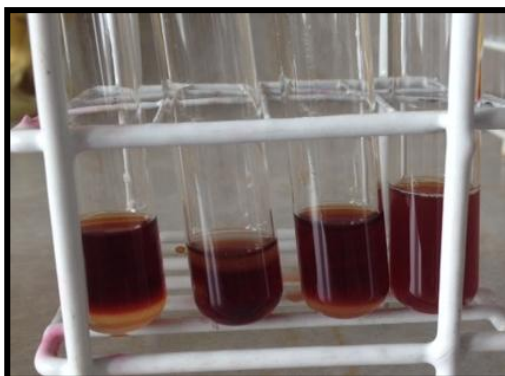


Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.

Prueba de solubilidad del extracto etanolico



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.

## Anexo N°9

### Bioensayo para determinar actividad antiinflamatoria Técnica de Winter



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.



Elaboración Propia 2017.

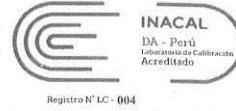
## Anexo N°10

### Certificado de calibración de balanza

NORMA TÉCNICA PERUANA NTP-ISO/IEC 17025

Quality Certificate del Perú S.A.C.  
**QCP**  
Laboratorio de calibración

LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO POR EL  
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA  
CON REGISTRO N° LC - 004



#### CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN N° MM 3080-2017

FECHA DE EMISIÓN : 2017-09-30  
PAGINA : 1 de 3  
EXP : 1309/2017

1. SOLICITANTE : LABORATORIO FARMACEÚTICO SAN JOAQUIN - ROXFARMA S.A.  
DIRECCIÓN : Av. Alfredo Mendiola Nro 5648 Urb. Industrial Infantas - Los Olivos

2. INSTRUMENTO DE MEDICIÓN : BALANZA  
CLASIFICACIÓN : NO AUTOMÁTICO  
MARCA : OHAUS  
MODELO : AR2140 ADVENTURER  
N° SERIE : H 0231202391090 P  
TIPO : ELECTRÓNICA  
CLASE DE EXACTITUD : 1  
CAPACIDAD MÁXIMA : 210 g  
DIVISIÓN DE ESCALA (d) : 0,0001 g  
DIVISIÓN DE VERIFICACIÓN (e) : 0,001 g  
CAPACIDAD MÍNIMA : 0,01 g  
CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN : CCBA-002  
COEF. DERIVA TEMPERATURA : 0,00001 / °C  
ΔT LOCAL : 21,0 °C hasta 24,0 °C



#### 3. MÉTODO Y PATRÓN DE MEDICIÓN

La calibración se efectuó según el "Procedimiento de Calibración de Balanzas de Funcionamiento No Automático Clase I y Clase II" : PC-011 4ta. Edición: 2010 del SNM/INDECOPI.  
Se utilizó pesas patrones con Informe de calibración N°: LM-C-196-2017 (INACAL/DM) trazable a patrones nacionales del INACAL/DM.

#### 4. RESULTADO

Temperatura Ambiental : Min. 22,9 °C ; Máx. 23,5 °C  
La incertidumbre de la medición se ha determinado con un factor de cobertura  $k = 2$ , para un nivel de confianza de 95%.  
Los ensayos realizados se encuentran en las páginas 2 y 3 del presente documento .

#### 5. OBSERVACIONES

Con fines de identificación se ha colocado una etiqueta autoadhesiva de color verde con la indicación "CALIBRADO".  
De acuerdo a la NMP - 003 - 2009 (2da. Edición), el límite inferior de medida para esta balanza no debe ser menor de 0,01 g.  
Se ha redondeado la desviación de pesas a la división de escala de la balanza.  
La periodicidad de la calibración está en función del uso, conservación y mantenimiento del instrumento de medición o reglamentos vigentes.  
Los resultados se refieren únicamente al equipo ensayado en el momento de la calibración y en las condiciones especificadas en este documento.

  
Ronal Macollunco Cueva  
Director Técnico Alterno



PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ÉSTE DOCUMENTO SIN LA AUTORIZACIÓN DE QUALITY CERTIFICATE DEL PERÚ S.A.C.  
FTE05-02 / Ver. 10

Calle Los Cipreces Mza O Lote 5 San Miguel, Lima 32 Tlf 562-3398 / 464-0557 / 451-2736  
E-mail: quality@qcpsac.com Web Site: www.qcpsac.com.pe

# Anexo N°11

## Informe técnico de estufa



### INFORME TÉCNICO N° ITK16-0572

**CLIENTE** : LABORATORIO FARMACEUTICO SAN JOAQUIN - ROXFARMA S.A.  
**DIRECCIÓN** : Av. Alfredo Mendiola N° 5648 Urb. Industrial Infantas  
(Lima/Lima/Los Olivos)  
**REFERENCIA** : ESTUFA  
**FECHA** : 04 de Octubre del 2016  
**ORDEN DE TRABAJO** : OT-01601067  
**UBICACIÓN** : Área de Lavado de Físico Químico

#### ANTECEDENTES:

Según comunicación y proforma vía correo electrónico el cliente solicitó el mantenimiento de la siguiente Estufa:

Marca	: PRECISION	Identificación	CCES-002
Modelo	: No Indica	Frecuencia (Hz)	60
Nº de serie	: 12-W-3	Tensión (V)	220
Alcance de escala	: No Indica	Intensidad (A)	No Indica
División de escala	: 1 °C	Potencia (W)	No Indica

#### Condiciones Iniciales:

Al iniciar el servicio la Estufa se encontraba:

- Funcionando correctamente.

#### Trabajo Realizado:

- Desmontaje del equipo para su mantenimiento integral.
- Verificación y limpieza de sistema eléctrico de alimentación.
- Revisión del elemento calentador (resistencias).
- Verificación del sistema del control de temperatura.
- Verificación y limpieza del sensor de temperatura.
- Montaje y limpieza externa del equipo
- Prueba de buen funcionamiento.

#### Prueba de funcionamiento:

- Se realizó la prueba de funcionamiento a 60 °C, con 10 sensores distribuidos internamente. Con lo cual se pudo apreciar que las mediciones se encuentran dentro de la tolerancia de  $\pm 10^{\circ}\text{C}$ .

#### Conclusiones:

- El equipo queda operativo.

Sin otro particular, me despido.



Fray Urbano Toledo  
Responsable Técnico  
KOSSODO S.A.C. - División Metrología

Jr. Chota 1161, Lima1-Perú  
Telf.: +(51-1) 619 8400  
www.kossodo.com