

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS, BIOQUÍMICAS
Y BIOTECNOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE *Muehlenbeckia*
volcánica Benth. Endlicher (MULLACA) EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN”**

**Tesis presentada por las Bachilleres en
Farmacia y Bioquímica:**

Ancalla Huanca, Graciela

Flores Begazo, Carmen Elena

**Para optar el Título Profesional de
Químico Farmacéutico**

Asesora: Dra. Yenny López Valencia

AREQUIPA – PERÚ

2017

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a Dios por ser mi fuerza que me impulsó a lo largo de mi camino. A mis padres por darme los valores que han hecho la persona que soy hoy.

A mi padre Rolando por enseñarme que solo con esfuerzo y constancia se consiguen nuestros objetivos.

A mi madre Juana mi ángel guardián quién me enseñó la disciplina y perseverancia.

A mis hermanas Flor de María y María Luisa por ser mis amigas y apoyo incondicional, a mis hermanos José y Martín, a todas las personas que la vida me brindo como obsequio de conocer y aprender de ellas.

Carmen Elena Flores Begazo

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas q han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi madre por ser mi ángel y a mi padre Anacleto, por su amor, su ejemplo, consejos y valores, por motivarme a seguir adelante y por todo el esfuerzo y sacrificio que permitieron que hoy culmine una gran etapa.

A mi esposo Sebastián, the love of my life, por su apoyo incondicional, gracias por compartir mi vida y mis logros, por creer en mí y ser la persona que me motiva en la búsqueda constante de superación

A mi hijo Sebastián anfernee, por ser la razón que me impulsa a esforzarme más, a seguir mejorando en mi profesión y mi calidad de persona, para que vea en mi un ejemplo a seguir.

A mis familiares y a todas aquellas personas que me brindaron su apoyo durante esta etapa.

A, Carmen por ser una gran persona, excelente compañera de tesis y gran amiga, por haberme tenido paciencia y confianza durante la realización de esta tesis.

Graciela Ancalla Huanca

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Católica De Santa María en particular a la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica a donde quiera que estemos llevaremos en alto el honor de haber sido estudiantes de tan ilustre institución.

Nuestro profundo y sincero agradecimiento a nuestros docentes y jurados de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, PhD José Villanueva Salas, QF. Fernando Torres Vela, QF Juan Ramírez Orellana y a nuestra asesora Yenny López Valencia y a quienes nos brindaron su apoyo desinteresado e incondicional durante la realización de nuestro trabajo de investigación para ustedes nuestra eterna gratitud.

Graciela Ancalla Huanca

Carmen Elena Flores Begazo

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	X
ABSTRACT.....	XII
INTRODUCCIÓN	XIV
OBJETIVOS	XV
HIPÓTESIS.....	XVI

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benth. Endlicher (MULLACA).....	1
1.1 Descripción Botánica	1
1.2 Clasificación Taxonómica (Anexo 1)	3
1.3 Nombre Científico	3
1.4 Nombre Común.....	3
1.5 Composición Química	3
1.6 Parte utilizada <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benth. Endlicher (MULLACA).....	4
1.7 Usos Medicinales de la <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benth. Endlicher (MULLACA)	4
2. EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS EN PLANTAS MEDICINALES	4
2.1 Métodos de extracción	4
2.2 Concentración de líquidos extractivos	8
2.3 Elección del disolvente de extracción	8
2.4 Identificación por cromatografía en capa fina (TLC)	9
3. FORMAS FARMACEÚTICAS LÍQUIDAS ORALES	10
3.1 Formulación	10
3.2 Soluciones	11
3.3 Suspensiones	11
3.4 Emulsiones.....	12
4. INFLAMACIÓN.....	12
4.1 Definición	12
4.2 Causas	13
4.3 Alteraciones principales de la inflamación	13
4.4 Clases de inflamación	14

4.5	Mediadores químicos de la inflamación	18
4.6	Fármacos Antiinflamatorios.....	24
4.7	Compuestos con actividad antiinflamatoria de la mullaca.....	27
5	MÉTODOS DE VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA	27
5.1	Edema sub-plantar inducido por carragenina.....	28
5.2	Edema con aceite de crotón en la oreja del ratón.....	28

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

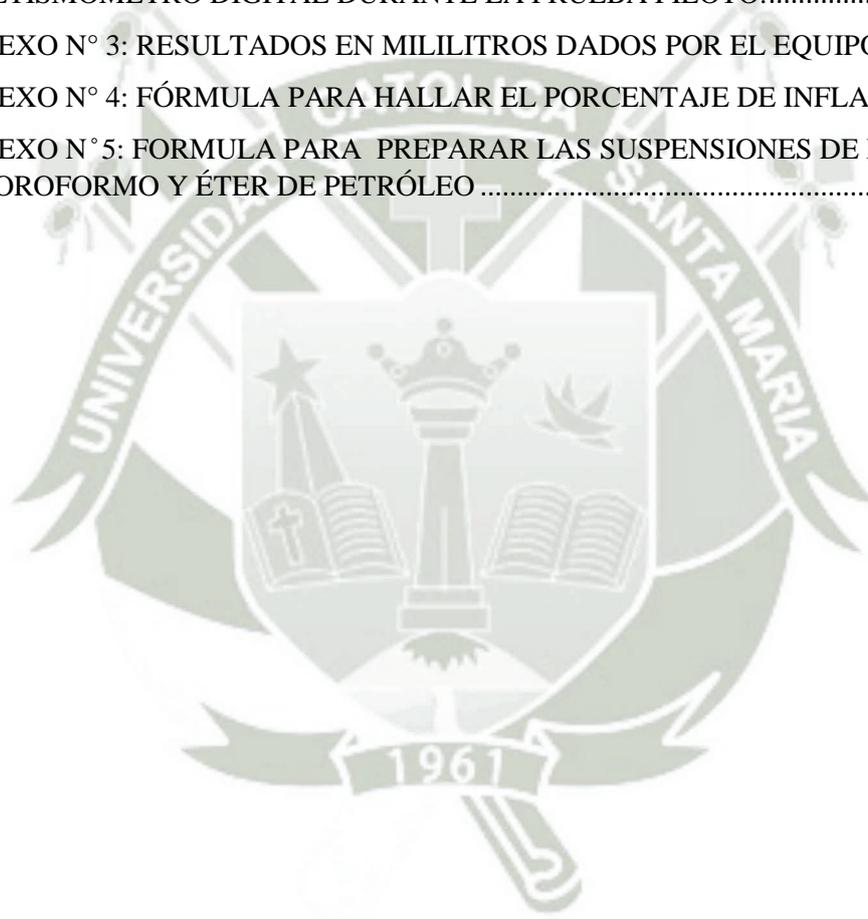
1.	DURACIÓN DEL ESTUDIO.....	29
2.	LUGAR DE INVESTIGACIÓN	29
3.	MATERIALES	29
3.1.	Unidades de estudio	29
3.2.	Material de laboratorio, equipos y reactivos	30
4.	MÉTODOS	32
4.1.	Recolección y acondicionamiento del material vegetal	32
4.2.	Obtención de los extractos	35
4.3.	Determinación del rendimiento de extracción	37
4.4.	Prueba piloto	39
4.5.	Análisis Cromatográfico	43
4.6.	Etapa experimental – Evaluación del efecto antiinflamatorio	47
5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	54
5.1.	Estadística Descriptiva.....	55
5.2.	Estadística Inferencial.....	56

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

1.	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benth Endlicher (MULLACA).....	57
2.	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO: EXTRACTOS BLANDOS	58
3.	PRUEBA PILOTO.....	60
3.1.	Determinación del porcentaje de inflamación.....	60
3.2.	Análisis estadístico inferencial de Anova y Tukey	62
4.	CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA	65
4.1.	Corrida General.....	66
4.2.	Determinación de flavonoides	67
4.3.	Determinación de taninos.....	68
4.4.	Determinación de terpenos.....	69

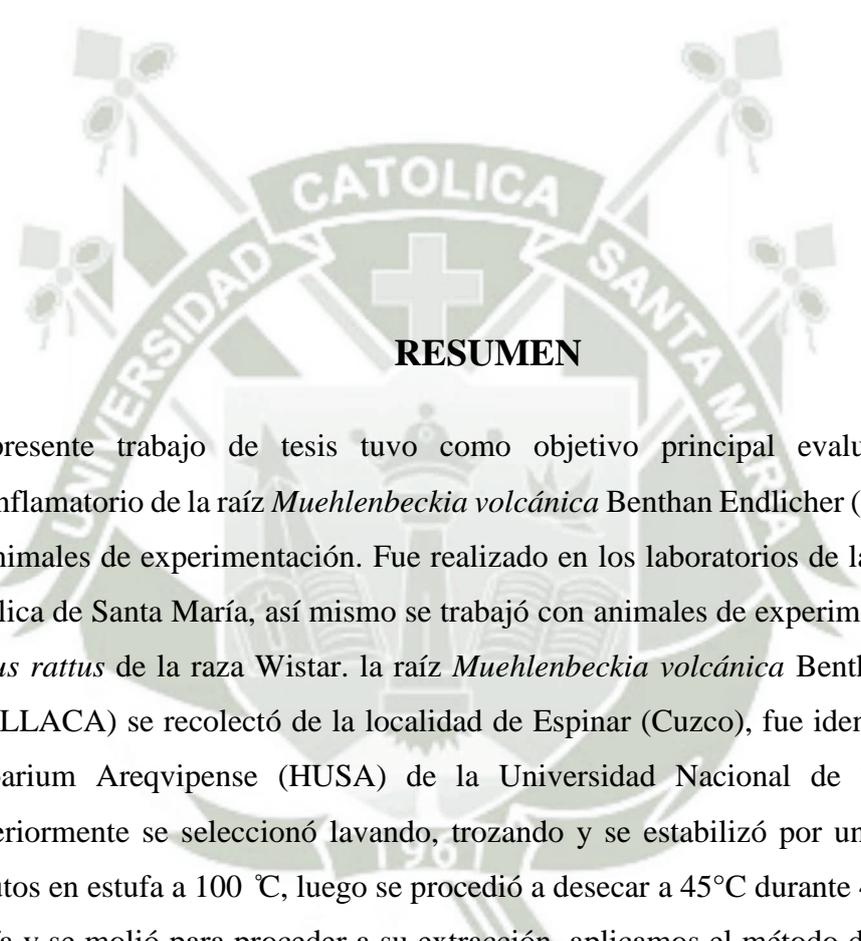
5. ETAPA EXPERIMENTAL - EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO	70
5.1. Determinación del porcentaje de inflamación.....	70
5.2. Análisis estadístico inferencial de Anova y Tukey	73
CONCLUSIONES	88
RECOMENDACIONES.....	89
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90
ANEXOS	98
ANEXO N° 1: CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN TAXÓNOMICA	98
ANEXO N° 2: RESULTADOS EN MILILITROS DADOS POR EL EQUIPO PLETISMÓMETRO DIGITAL DURANTE LA PRUEBA PILOTO.....	104
ANEXO N° 3: RESULTADOS EN MILILITROS DADOS POR EL EQUIPO	105
ANEXO N° 4: FÓRMULA PARA HALLAR EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN..	106
ANEXO N° 5: FORMULA PARA PREPARAR LAS SUSPENSIONES DE ETANOL, CLOROFORMO Y ÉTER DE PETRÓLEO	106



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1.1 Métodos extractivos:.....	5
Cuadro N° 1.2 Tabla de disolventes más usados en orden de polaridad	9
Cuadro N° 1.3 Inflamación aguda y crónica.....	14
Cuadro N° 2.1 - Cálculo para dosis de los diferentes extractos blandos de la raíz <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benthian Endlicher (MULLACA)	40
Cuadro N° 2.2 - Suspensiones de extractos blandos de <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benthian Endlicher (MULLACA) y grupo control.....	40
Cuadro N° 2.3 - Cálculo de dosis del extracto etanólico de <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benthian Endlicher (MULLACA)	47
Cuadro N° 2.4 - Suspensiones del extracto blando de etanol de la raíz <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benthian Endlicher (MULLACA), grupo control y ácido acetilsalicílico.	48
Cuadro N° 3.1 Descripción organoléptica de los extractos	58
Cuadro N° 3.2 Promedio y porcentaje de rendimiento de los diferentes extractos blandos de <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benthian Endlicher (MULLACA).....	59
Cuadro N° 3.3 - Porcentaje de inflamación producidos en la prueba piloto –Grupo control y Extractos blandos de <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benthian Endlicher (MULLACA)	61
Cuadro N° 3.4 - Análisis de varianza (ANOVA) al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación a 1 hora de administrar el extracto de Mullaca.....	63
Cuadro N° 3.5 - Test de Tukey al 95.0% de confianza - el porcentaje de inflamación a 1 hora de administrar el extracto de mullaca	63
Cuadro N°3.6 -Cromatografía en capa fina – extracto etanólico de la raíz <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benthian Endlicher (MULLACA)	65
Cuadro N° 3.7 - porcentaje de inflamación - grupos control, ácido acetilsalicílico y extractos blandos de etanol de la raíz <i>Muehlenbeckia volcánica</i> Benthian Endlicher (MULLACA) en la etapa experimental	71

Cuadro N° 3. 8 Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación una hora después del agente flogógeno	74
Cuadro N° 3.9 - Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento una hora después del agente flogógeno	74
Cuadro N° 3. 10 - Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación dos horas después del agente flogógeno	75
Cuadro N° 3.11 - Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento dos horas después del agente flogógeno.....	75
Cuadro N° 3.12 - Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación tres horas después del agente flogógeno	77
Cuadro N° 3.13 -Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento tres horas después del agente flogógeno	77
Cuadro N° 3.14 -Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación cuatro horas después del agente flogógeno	78
Cuadro N° 3.15 -Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento cuatro horas después del agente flogógeno	78
Cuadro N° 3.16 -Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación cinco horas después del agente flogógeno	80
Cuadro N° 3.17 - Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento cinco horas después del agente flogógeno.....	81
Cuadro N° 3.18 - Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación seis horas después del agente flogógeno.....	83
Cuadro N° 3.19 - Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento seis horas después del agente flogógeno	83
Cuadro N° 3.20 -Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación siete horas después del agente flogógeno.....	85
Cuadro N° 3.21 - Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento siete horas después del agente flogógeno.....	85



RESUMEN

El presente trabajo de tesis tuvo como objetivo principal evaluar el efecto antiinflamatorio de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (MULLACA), en animales de experimentación. Fue realizado en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María, así mismo se trabajó con animales de experimentación ratas *Rattus rattus* de la raza Wistar. la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (MULLACA) se recolectó de la localidad de Espinar (Cuzco), fue identificada en el Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín, posteriormente se seleccionó lavando, trozando y se estabilizó por un tiempo de 3 minutos en estufa a 100 °C, luego se procedió a desecar a 45°C durante 48 horas en la estufa y se molió para proceder a su extracción, aplicamos el método de Soxhlet por el cual obtuvimos extractos con solventes de diferente polaridad (polar - etanol, medianamente polar – cloroformo y apolar - éter de petróleo) de esta manera obtuvimos el porcentaje de rendimiento de los extractos blandos de los diferentes solventes, siendo el extracto etanólico el de mayor rendimiento con 24.80%, seguido del cloroformo con 1.41% y el éter de petróleo con 0.40%.

Se preparó tres suspensiones para realizar la prueba piloto, cada una de las cuales correspondía al extracto blando de etanol, cloroformo y éter de petróleo, los cuales fueron administrados por vía oral a dosis equivalentes a 42.85 mg/kg de peso de la raíz, 3 horas después de haber sido administrado una solución de carragenina al 1%. Aplicamos método del edema sub-plantar inducido por carragenina en animales de experimentación, el volumen de la inflamación se midió con el equipo Pletismómetro Digital. Transcurridas cuatro horas después de administrar la solución de carragenina al 1%, se determinó mediante pruebas estadísticas de ANOVA y Test de Tukey al 95.0% de confianza que la suspensión del extracto etanólico presentaba mejor efecto antiinflamatorio comparándolos con los grupos control, extracto clorofórmico y extracto de éter de petróleo. Posteriormente usando el extracto etanólico se llevó a cabo el análisis por cromatografía en capa fina de los grupos de metabolitos secundarios flavonoides, terpenos y taninos en la muestra.

En el proceso de la etapa experimental se evaluó el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA), empleando suspensiones vía oral a dosis 3.54 mg/kg, 10.63 mg/kg y 17.71 mg/kg de peso, relacionándolas con el grupo control (vehículo y excipientes de los extractos) y un grupo con ácido acetilsalicílico (7.15 mg/kg). Para valorar la actividad antiinflamatoria se aplicó el mismo método de la prueba piloto, así como las mismas pruebas estadísticas desde una hora después de administrar la solución de carragenina al 1% hasta siete horas después. Evidenciándose que transcurridas cuatro horas no existe diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza en el porcentaje de inflamación de los grupos ácido acetilsalicílico y suspensión de extracto etanólico 17.71 mg/kg.

Se concluye que el extracto blando obtenido con etanol de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) a dosis de 17.71 mg/kg posee actividad antiinflamatoria equivalente a 7.15 mg/kg de ácido acetilsalicílico.

Palabras clave: Antiinflamatorio, raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA), edema sub – plantar, extracto blando, animales de experimentación.

ABSTRACT

The present thesis work had as main objective to evaluate the antiinflammatory effect of the volcanic *Muehlenbeckia* root Benth Endlicher (MULLACA), in experimental animals. It was carried out in the laboratories of the Catholic University of Santa Maria, as well as working with experimental animals *Rattus rattus* Wistar rats. the *Muehlenbeckia volcanic* root Benth Endlicher (MULLACA) was collected from the locality of Espinar (Cuzco), it was identified in the Herbarium Arequipense (HUSA) of the National University of San Agustín, later it was selected washing, slicing and stabilizing by a time of 3 minutes in an oven at 100 ° C, then dried at 45 ° C for 48 hours in the oven and ground to proceed with its extraction, we applied the Soxhlet method whereby we obtained extracts with solvents of different polarity (polar - ethanol, medium polar - chloroform and apolar - petroleum ether). In this way we obtained the percentage yield of the soft extracts of the different solvents, the ethanolic extract being the highest yield with 24.80%, followed by chloroform with 1.41% and petroleum ether with 0.40%.

Three suspensions were prepared for the pilot test, each corresponding to the soft extract of ethanol, chloroform and petroleum ether, which were administered orally at

doses equivalent to 42.85 mg/kg of weight of the root, 3 hours after a 1% carrageenan solution was given. We applied sub-plantar edema induced by carrageenan in experimental animals, the volume of inflammation was measured with the Digital Plethysmometer equipment. Four hours after the administration of the 1% carrageenan solution, statistical tests of ANOVA and Tukey's test were determined at 95.0% confidence that the suspension of the ethanolic extract had a better anti-inflammatory effect compared to the control, chloroform extract and extract of petroleum ether. Subsequently using the ethanolic extract the analysis by thin layer chromatography of the groups of secondary metabolites flavonoids, terpenes and tannins was carried out in the sample.

In the process of the experimental stage the anti-inflammatory effect of the ethanolic extract of the root *Muehlenbeckia volcánica* Benth Endlicher (MULLACA), using suspensions orally at doses of 3.54 mg / kg, 10.63 mg / kg and 17.71 mg / kg of body weight, relative to the control group (vehicle and excipients of the extracts) and a group with acetylsalicylic acid (7.15 mg / kg).

In order to assess anti-inflammatory activity, the same pilot test method was used as well as the same statistical tests from one hour after administration of the 1% carrageenan solution until seven hours later. Evidence that after four hours there is no statistically significant difference at 95.0% confidence in the percentage of inflammation of the acetylsalicylic acid groups and suspension of ethanolic extract 17.71 mg / kg.

It is concluded that the soft extract obtained with ethanol from the *Muehlenbeckia volcánica* Benth Endlicher (MULLACA) at doses of 17.71 mg / kg has anti-inflammatory activity equivalent to 7.15 mg / kg of acetylsalicylic acid.

Keywords: Anti-inflammatory, root *Muehlenbeckia volcánica* Benth Endlicher (MULLACA) sub - plantar edema, soft extract, experimental animals.

INTRODUCCIÓN

El Perú es considerado uno de los 15 países de megadiversidad a nivel global, además es uno de los centros más importantes de recursos genéticos, por el alto número de especies domesticadas originarias de esta parte del mundo. Posee 128 especies de plantas nativas domésticas con centenares y hasta miles de variedades, presenta una muy alta diversidad ecológica de climas, pisos ecológicos, en superficie de bosques es el segundo país en América latina y el cuarto a nivel mundial y posee el 13% de los bosques tropicales amazónicos. ⁽¹⁾

En cuanto a la flora se calculan unas 25 000 especies (10% de total mundial), el Perú es considerado el primero en número de especies de plantas con propiedades conocidas y utilizadas por la población (4400 especies) y ocupa el décimo lugar en domesticar 128 especies nativas. ⁽¹⁾

La raíz *Muehlenbeckia volcánica* Bentham Endlincher conocida como “MULLACA”, “bejuquillo”, “laura”, o “coca-coca”, crece en varios departamentos del Perú, tradicionalmente es utilizada con fines terapéuticos, uno de ellos por su efecto antiinflamatorio. La inflamación es una reacción generada por el cuerpo como respuesta a una agresión externa o interna, la prolongación de dicho proceso podría causar daño a nivel celular o de tejidos. ⁽²⁾

Es por esta razón que se investigó la actividad antiinflamatoria de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Bentham Endlicher (MULLACA) en animales de experimentación, administrando los extractos blandos por vía oral, en forma de suspensiones. Al considerarse una vía de administración económica y segura. ⁽²⁾

OBJETIVOS

1. Obtener extractos de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA), empleando solventes de diferente polaridad (etanol, cloroformo y éter de petróleo).
2. Establecer qué extracto de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) según la naturaleza del disolvente presenta mayor efecto antiinflamatorio en animales de experimentación tras una prueba piloto.
3. Identificar los principales grupos de metabolitos secundarios mediante cromatografías en capa fina de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA).
4. Evaluar el efecto antiinflamatorio de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) en relación a dosis tradicionalmente utilizadas, en animales de experimentación.
5. Comparar el efecto antiinflamatorio de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) con el ácido acético.

HIPÓTESIS

Dado que la medicina tradicional le atribuyen propiedades antiinflamatorias, es probable que la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth & Endlicher (MULLACA) presente dicha propiedad en animales de experimentación.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (*MULLACA*)

1.1 Descripción Botánica

Muehlenbeckia volcánica Benth and Endlicher (*MULLACA*) popularmente conocida, es un sub-árbusto rastrero, extendido. ⁽³⁾

- Su denominación "volcánica", obedece al hecho de crecer entre rocas eruptivas. (Fig. 1)
- Pequeño arbusto que crece preferentemente en las alturas andinas es lampiño, muy ramoso y semi-trepador.
- Hojas pequeñas casi orbiculares de color verde intenso, carnosas.
- Sus flores son en racimos terminales de color morado con cinco pétalos.
- Florece en el mes de noviembre.
- Raíz ramificada, fibrosa. ⁽³⁾ (Fig. 2)

1.1.1 Distribución y hábitat

Es un arbusto silvestre que crece en áreas distribuidas en terrenos secos, rocosos, arcillosos, laderas abiertas, ambientes microtéricos. Crece en la Sierra entre 2400-4200 m.s.n.m. ⁽⁴⁾



**Figura 1: *Muehlenbeckia volcanica* Benth and Endlicher
(MULLACA)**



**Figura 2: Raíz *Muehlenbeckia volcanica* Benth and Endlicher
(MULLACA)**

Se tiene como 9 especies del género *Muehlenbeckia* en el Perú, la variedad *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (MULLACA) está presente en los departamentos de Ancash, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, Lima, La Libertad y Puno. ⁽⁴⁾

Además, esta especie vegetal está diseminada en países como Colombia, Costa Rica, Guatemala, México, Bolivia y Ecuador. ⁽⁴⁾

1.1.2 Antecedentes Históricos

La mullaca es una planta, cuyo nombre es de origen aymara, ya que se desarrolló en zonas donde se asentaron grandes culturas como Wari, Tiahuanaco. La flor de esta especie posee un tinte de color azul oscuro que se utilizó desde épocas milenarias para teñir las fibras que se emplearon en la confección de textiles, también fue utilizada con fines medicinales para curar el afta, combatir el asma y controlar la fiebre. ⁽⁵⁾

1.2 Clasificación Taxonómica (Anexo 1)

Reino:	Vegetal
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Caryophyllidae</i>
Orden:	<i>Polygonales</i>
Familia:	<i>Polygonaceae</i>
Género:	<i>Muehlenbeckia</i>
Especie:	<i>Muehlenbeckia volcánica</i> Bentham Endlicher.

1.3 Nombre Científico

Muehlenbeckia volcánica Bentham Endlicher. ⁽⁴⁾

1.4 Nombre Común

"Bejuquillo", "Mullak'a", "Mullaca", "Laura", "Coca-Coca". ⁽⁴⁾

1.5 Composición Química

Contiene: glucosidos cianogénicos entre ellos están la amigdalina y la prulauracina, también en su composición tiene nitrilos, capulin, prumasina y flavonoles, taninos, saponinas, flavonoides (rutina, emodina, ácido crisofánico

glicósidos antraquinónicos), ceras, resinas, lectinas, gomas, almidones, celulosa, terpenos. ⁽⁴⁾

1.6 Parte utilizada *Muehlenbeckia volcánica* Benth an Endlicher (MULLACA)

Son utilizadas flores, hojas y raíz. ⁽⁴⁾

1.7 Usos Medicinales de la *Muehlenbeckia volcánica* Benth an Endlicher (MULLACA)

- Descongestionante: 5 g. de hojas en cocimiento por 3 minutos para $\frac{3}{4}$ Lt/día.
- Antiinflamatoria, antialérgica: 1 a 5 g de raíz en cocimiento por 3 minutos para $\frac{3}{4}$ Lt/día.
- Laxante
- Analgésico
- Expectorante ^(5,6)

2. EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS EN PLANTAS MEDICINALES

Se parte de la droga y se realiza un proceso extractivo para aislar los principios activos directamente a partir de las drogas. ⁽⁷⁾

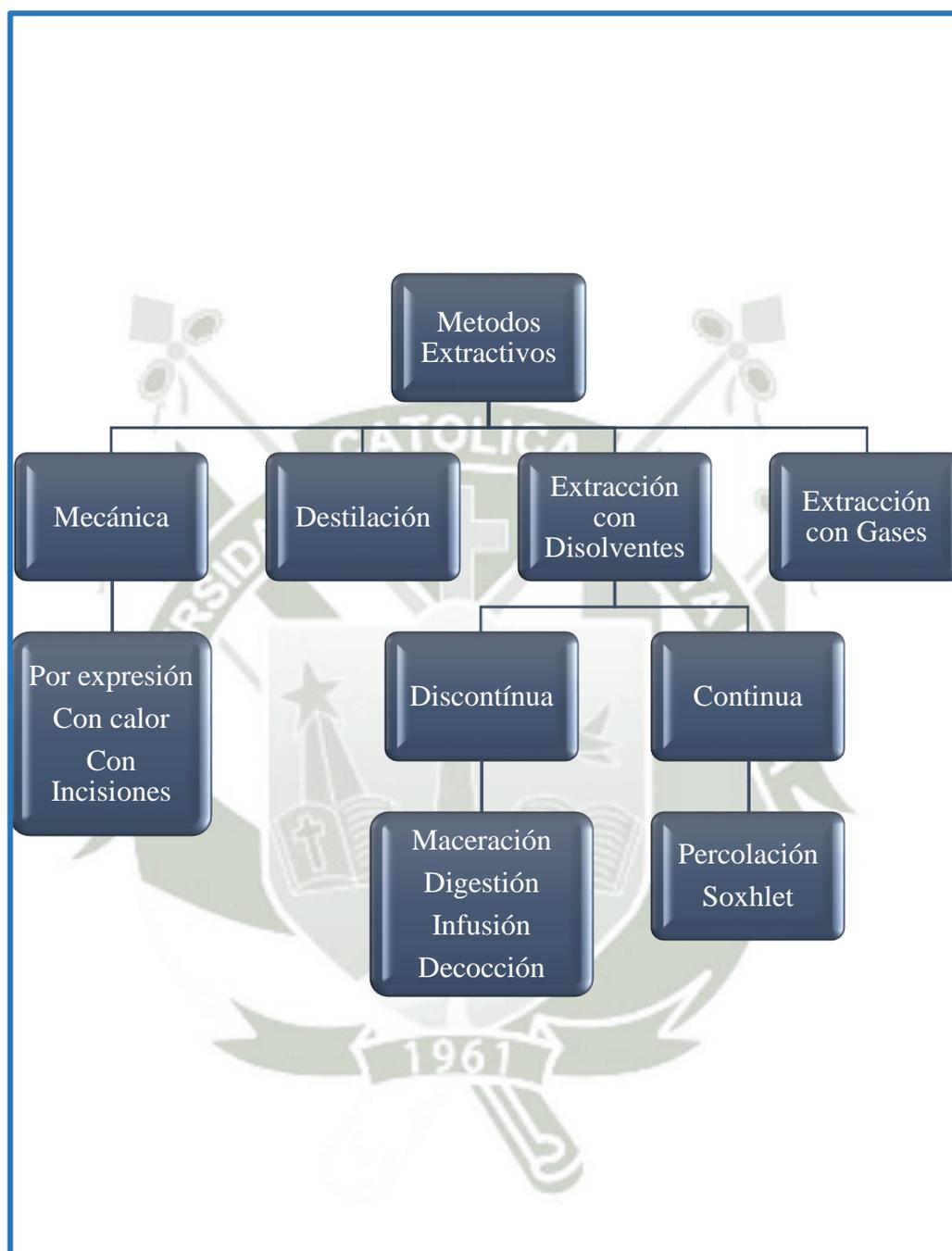
La extracción implica la separación de fracciones medicinalmente activas, de componentes inactivos o inertes presentes en tejidos vegetales. ⁽⁸⁾

2.1 Métodos de extracción

2.1.1 Extracción Mecánica

Permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. La extracción mecánica se puede realizar por expresión, la cual consiste en ejercer una presión sobre la droga, por calor, o mediante incisiones por las que fluyen los fluidos de la planta. ⁽⁷⁾

Cuadro N° 1.1 - Métodos extractivos



2.1.2 Destilación

Es una técnica que se basa en la diferente volatilidad de los componentes de la droga, lo cual permite la separación de componentes volátiles de otros que son menos o nada volátiles. Se

suelen hacer destilaciones por arrastre de vapor facilitan la extracción de los principios activos volátiles. La destilación permite obtener las esencias de las drogas. Es un método en el que se utiliza una fuente de calor, por lo que solo es aplicable a principios activos termoestables. ⁽⁷⁾

2.1.3 Extracción con gases

Se opera con dispositivos especiales donde es posible controlar la presión y la temperatura y se trabaja a presión (P) y temperaturas (T) superiores a la presión y temperaturas críticas. Los gases más utilizados son el dióxido de carbono y el butano. ⁽⁷⁾

2.1.4 Extracción con disolventes

Consiste colocar en contacto la droga con un solvente capaz de solubilizar los principios activos. Los principios activos deben de pasar de la droga al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido. La extracción con solventes es uno de los métodos que se emplea con más frecuencia para la obtención de principios activos.

Se debe tener en cuenta los siguientes factores: drogas desecadas y con un grado de división adecuado, la naturaleza del solvente (polaridad), temperatura favorece la extracción de principios activos de las drogas porque aumenta su solubilidad, pero también puede favorecer la degradación de dicho compuesto, tiempo de contacto entre la droga y el disolvente y control de la difusión celular. ⁽⁷⁾

2.1.4.1 Extracción discontinua o simultánea

Se sumerge la droga en el solvente, por lo que la totalidad de la droga contacta con el solvente utilizado para la extracción y la difusión de los principios activos se

producirá en todas las direcciones hasta alcanzar el equilibrio.⁽⁷⁾

2.1.4.1.1 Infusión

Consiste en trabajar con agua (disolvente) a temperaturas próximas a ebullición uno a dos minutos hasta un tiempo de 30 minutos.⁽⁷⁾

2.1.4.1.2 Maceración

La droga seca y triturada se coloca en contacto con el disolvente (agua, mezclas hidroalcohólicas, glicerina) esto a temperatura ambiente por horas o días.⁽⁷⁾

2.1.4.1.3 Digestión

Similar a la maceración, pero a temperaturas mayor a temperatura ambiente.⁽⁷⁾

2.1.4.1.4 Decocción o cocimiento

La droga se pone en contacto con agua (disolvente) a temperatura de ebullición por un tiempo de 15 -30 minutos.⁽⁷⁾

2.1.4.2 Extracción continua o progresiva

El solvente utilizado para la extracción se va renovando y actúa en una sola dirección.

2.1.4.2.1 Soxhlet

Sistema de reflujo que garantiza la provisión del disolvente de manera pura a la muestra, se requiere de una fuente de calor que permita la

ebullición del disolvente. El disolvente orgánico es reciclado durante el proceso, mientras en el balón se va reciclando el principio activo. ^(7,9)

2.1.4.2.2 Percolación

Es un proceso de paso, si bien hay una maceración previa, el disolvente se renueva de manera continua, se realiza a temperatura ambiente, en un recipiente con forma de columna o cono invertido o casi cilíndrica, terminada en su base por una llave de paso para regular la salida del líquido que gotea ayudado por la gravedad, la droga permanece en contacto con el disolvente. ⁽⁷⁾

2.2 Concentración de líquidos extractivos

- **Liofilización:** Consiste en eliminar el solvente mediante una congelación a temperatura bajas, seguido de una sublimación del solvente, que pasa directamente del estado sólido a vapor. Se puede distinguir distintos tipos de extractos según la concentración de principio activo respecto a la droga original y según su consistencia. ⁽⁷⁾
- **Al vacío:** Utilizando un rotavapor, se trabaja a temperaturas inferiores a 40 °C y en ausencia de oxígeno. Se aplica para concentrar líquidos extractivos obtenidos con solventes orgánicos y mezclas hidroalcohólicas. ⁽⁷⁾

2.3 Elección del disolvente de extracción

La solubilidad del compuesto a extraer es un factor principal al momento de elegir el disolvente adecuado, además de la volatilidad, inflamabilidad y toxicidad que presentan los diversos disolventes. Para extraer componentes de tejido animal o vegetal, generalmente se emplea material

cromatográfica la que contendrá el eluyente (fase móvil). Dicho eluyente hará contacto por el extremo donde fue depositada la muestra y por capilaridad se moverá hasta el otro extremo, arrastrando y separando los componentes de la muestra. ⁽¹¹⁾

A simple vista podrán ser observados en forma de manchas distribuidas a lo largo de la placa o mediante algún método de revelado para hacerlas visibles. ^(12,13)

El valor del R_f puede variar por varios factores no permitiendo que sea un valor absoluto entre ellos tenemos: temperatura del medio ambiente, pureza de los disolventes, variaciones de la homogeneidad de las placas de capa fina. ^(12,13)

3 FORMAS FARMACEÚTICAS LÍQUIDAS ORALES

Son normalmente, soluciones, suspensiones o emulsiones que contienen uno o más fármacos en un vehículo apropiado. Algunos pueden ser ingeridas sin diluir o previa dilución. También pueden prepararse de forma extemporánea antes de su ingestión a partir de polvos o granulados y de un vehículo apropiado. ⁽⁸⁾

3.1 Formulación

Los componentes de una forma líquida pueden ser muy variados:

- **Vehículo:** mezclas de sorbitol o agua, glicerina, etanol y propilenglicol, con menos frecuencia se utilizan disolventes como aceites vegetales o parafina. Se debe tener en cuenta concentraciones máximas para no superar la dosis diaria máxima recomendada. El vehículo es elegido en función de la solubilidad y estabilidad del principio activo. ⁽¹⁴⁾
- **Viscosantes:** en las preparaciones mejora su estabilidad física.
- **Tensioactivos:** en suspensiones y emulsiones facilita la formulación reduciendo la tensión superficial del vehículo, incrementando la solubilidad de algunos principios activos. ⁽¹⁴⁾

- **Antioxidantes:** para evitar posibles oxidaciones del fármaco y algunos excipientes se usan sustancias como: butilhidroxitolueno, butilhidroxianisol, galato de propilo y tocoferoles para derivados de azufre, fases oleosas y vitamina C para medios acuosos. ⁽¹⁴⁾
- **Conservantes antimicrobianos:** evitan el desarrollo de microorganismos, se usan concentraciones bajas (<0.5%).
- **Correctores de aroma y sabor:** se emplean saborizantes y aromatizantes permitidos por las autoridades sanitarias, así mismo edulcorantes naturales o sintéticos (glucosa, fructuosa, sorbitol, sacarosa, glicerina, sacarina, etc). ⁽¹⁴⁾

3.2 Soluciones

Contienen uno o más fármacos disueltos en un líquido son administrados por vía oral y se dosifican por volumen. Pueden presentarse como soluciones límpidas y transparentes de sabor y olor agradable, o como un producto sólido (polvo o granulado) para disolver extemporáneamente en el vehículo que le acompaña (agua purificada u otro). Además del fármaco y el vehículo pueden contener sustancias como edulcorantes, colorantes, humectantes, estabilizantes, aromatizantes. ⁽⁸⁾

3.3 Suspensiones

Contienen partículas de fármaco finamente divididas y distribuidas de manera uniforme en un vehículo en el cual el fármaco es insoluble o presenta un grado de solubilidad mínimo. La mayoría de las suspensiones son preparaciones acuosas con cierta viscosidad y agentes aromatizantes y edulcorantes.

Las suspensiones orales permiten la administración de fármacos que son inestables en disolución, pero químicamente estables cuando se formulan en suspensión. También se emplean para fármacos poco solubles en agua que no puedan formularse, por cuestiones de inestabilidad química, en los disolventes habitualmente utilizados en las formas líquidas orales.

También presenta sustancias auxiliares como conservantes, aromatizantes, colorantes, tensoactivos, electrolitos. ^(8,14)

3.4 Emulsiones

Son sistemas dispersos constituidos por dos líquidos no miscibles, uno de ellos uniformemente disperso (fase interna o discontinua) en el otro (fase externa o continua), gracias a la acción de un agente emulsificante.

Son sistemas termodinámicamente inestables cuyas fases tienden a separarse con el tiempo. Las emulsiones permiten la administración de fármacos líquidos oleosos y de fármacos lipofílicos disueltos en aceites.

Los componentes básicos de una emulsión son fase oleosa, emulgentes y la fase acuosa debe estar constituida por agua purificada, disolvente hidromisibles y sustancias auxiliares que sean hidrosolubles (correctores de sabor, conservantes, etc). ^(8, 11,14)

4 INFLAMACIÓN

4.1 Definición

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas.

Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son en primer lugar, la focalización de la respuesta, que tiende a localizar la zona de lucha contra el agente agresor. En segundo lugar, la respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia e inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. En tercer lugar, el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos. Las alteraciones vasculares van a permitir, además, la llegada desde la sangre de moléculas inmunes, para poder reparar el daño tisular producido. ^(15,16)

4.2 Causas

- Reacciones de hipersensibilidad de mecanismo inmunitario (vasculitis inmunomediada, rinitis alérgica).
- Operación quirúrgica,
- Agentes físicos (traumatismo, radiación, calor, frío, etc).
- Irritación por tóxicos (sustancias químicas).
- Invasión por parte de un agente infeccioso (infecciones microbianas).
- Necrosis tisular. ^(15,16)

Causas de la inflamación crónica:

- Algunas enfermedades autoinmunes (tiroiditis de Hashimoto, artritis reumatoidea.)
- Cuerpos extraños: endógenos (tejido adiposo, cristales de ácido úrico) o exógenos (prótesis, material quirúrgico).
- Microorganismos resistentes a la fagocitosis o mecanismos de destrucción intracelular (tuberculosis, lepra.). ⁽¹⁶⁾

La destrucción simultánea del tejido es producida cuando la inflamación crónica se extiende por un periodo prolongado, por persistencia del agente causante. ⁽¹⁶⁾

4.3 Alteraciones principales de la inflamación

- Aumento del aporte sanguíneo provocando vasodilatación, responsable de los signos inflamatorios rubor y calor.
- El segundo sobre receptores capilar, provocando un incremento de la permeabilidad capilar y extravasación responsable del edema o tumor inflamatorio.
- Los polimorfonucleares neutrófilos y células mononucleadas (monocitos y macrófagos) juegan un papel clave en la defensa del huésped contra las bacterias invasoras, cuando se emiten las señales atractoras y quimioattractores. ⁽¹⁶⁾

4.4 Clases de inflamación

Tipos de inflamación: Aguda y Crónica, cuadro 1.3 ^(15,16)

Cuadro N° 1.3 - Características de la inflamación aguda y crónica

	Inflamación aguda	Inflamación crónica
Inicio	Rápido	Progresivo
Respuesta	inmediata	Persistente
Inmunidad	Innata	Mediada por células
Células predominantes	Neutrófilos	Macrófagos y Linfocitos
Duración	Corta (horas – días)	Larga (semanas-meses- años)
Produce	Edema	Fibrosis, necrosis tisular

4.4.1 Inflamación Aguda

4.4.1.1 Signos Comunes

Llamada también tétrada de Celso

- Tumefacción (edema)
- Rubor (vasodilatación)
- Calor (vasodilatación)

- Dolor (prostaglandinas) ⁽¹⁶⁾

4.4.1.2 Respuesta Vascular

- **Vasodilatación generalizada (hiperemia)**

Este cambio vascular, inducido principalmente por las sustancias inflamatorias: histamina, bradicinina, eicosanoides, triptasas, que son secretadas desde los primeros segundos por los mastocitos locales, los basófilos y las células endoteliales activadas, aumentan el flujo de sangre hacia el área inflamada, lo que genera elevación de la temperatura y enrojecimiento local (calor y rubor). ⁽¹⁷⁾

- **Aumento de la permeabilidad vascular**

La dilatación capilar permite el paso de líquido y proteínas sanguíneas (entre las que se encuentran complemento e inmunoglobulinas), éstos al acumularse producen edema (tumor). La distensión de los tejidos, la acción de la bradicinina y el estímulo que todo lo anterior ejerce sobre las terminaciones nerviosas, originan el dolor, última de las cuatro manifestaciones clínicas cardinales de la inflamación: calor, rubor, tumor y dolor, descritas por Celsus. ⁽¹⁷⁾

- **Edema inflamatorio**

La presión hidrostática y la reducción de la presión oncótica (fuga de proteínas a espacios intersticiales), influyen en el desplazamiento de líquidos desde el plasma a los tejidos, lo cual se conoce como edema inflamatorio.

Disminuye la velocidad de flujo de sangre y su viscosidad aumenta. ⁽¹⁷⁾

4.4.1.3 Acontecimientos Celulares

Los polimorfonucleares neutrófilos migran hacia la zona de la lesión, donde fagocitan los agentes patógenos, destruyen las bacterias y otros microorganismos y degradan el tejido necrótico y los antígenos extraños. Así mismo también pueden prolongar la inflamación e inducir lesión tisular al liberar enzimas, mediadores químicos y radicales tóxicos del oxígeno. ⁽¹⁸⁾

La secuencia de acontecimientos que se produce desde que los leucocitos salen de la luz vascular hasta que alcanzan el tejido intersticial (extravasación) se puede dividir en los siguientes pasos:

- **Marginación:** A medida que disminuye la velocidad del flujo sanguíneo en las fases iniciales de la inflamación (debido al incremento de la permeabilidad vascular), se modifican las condiciones hemodinámicas (disminuye la fuerza de cizallamiento sobre la pared) y un número cada vez mayor de leucocitos se sitúa en la periferia, a lo largo de la superficie endotelial. ⁽¹⁸⁾
- **Rodamiento:** Los leucocitos de forma individual y en filas, se colocan sobre el endotelio y se adhieren al mismo de forma transitoria. ⁽¹⁸⁾
- **Adhesión (pavimentación):** Descansan en algún punto en el que se adhieren firmemente al endotelio. Con el tiempo, el endotelio puede quedar literalmente revestido por leucocitos.
- **Transmigración:** Una vez adheridos los leucocitos dirigen sus pseudópodos hacia las uniones que existen entre las células endoteliales, se introducen apretadamente a través de las mismas y quedan situados entre la célula endotelial y la membrana basal.

Finalmente, atraviesan la propia membrana basal y salen al espacio extravascular. Este mecanismo es utilizado por neutrófilos, monocitos, linfocitos, eosinófilos y basófilos. ⁽¹⁸⁾

- **Quimiotaxis:** Los leucocitos migran en los tejidos hasta alcanzar la zona de lesión, se puede definir como la locomoción orientada según un gradiente químico.

Todos los granulocitos, monocitos y en menor grado linfocitos responden a los estímulos quimiotácticos con grados diferentes de velocidad. ⁽¹⁸⁾

Fagocitosis y destrucción intracelular

La fagocitosis y la liberación de enzimas por los neutrófilos y macrófagos constituyen dos de los principales efectos beneficiosos de la acumulación de leucocitos en el foco de inflamación, estos fagocitan bacterias y cuerpos extraños los cuales no son reconocidos hasta que están recubiertos de factores naturales denominados opsoninas, que se unen a receptores específicos situados en los leucocitos. Las opsoninas más importantes como Inmunoglobulina G (IgG), complemento (C3b) proteínas plasmáticas de fijación de carbohidratos.

La destrucción de las bacterias o degradación se consigue principalmente por mecanismos dependientes del oxígeno (peróxido de hidrogeno), mecanismos independientes del oxígeno (lactoferrina, lisozima e hidrolasas, peróxido). ⁽¹⁸⁾

4.4.2 Inflamación Crónica

Se caracteriza por la presencia de:

- Linfocitos
- Células plasmáticas (producción de anticuerpos)

- Macrófagos (fagocitosis), células multinucleadas (macrófagos fusionados).⁽¹⁸⁾

Los macrófagos del tejido inflamado aumentan gradualmente durante la inflamación aguda hasta que llegan a ser el tipo celular dominante en la inflamación crónica se activan por el interferón gamma ($INF\gamma$) el cual es producido por linfocitos activados.

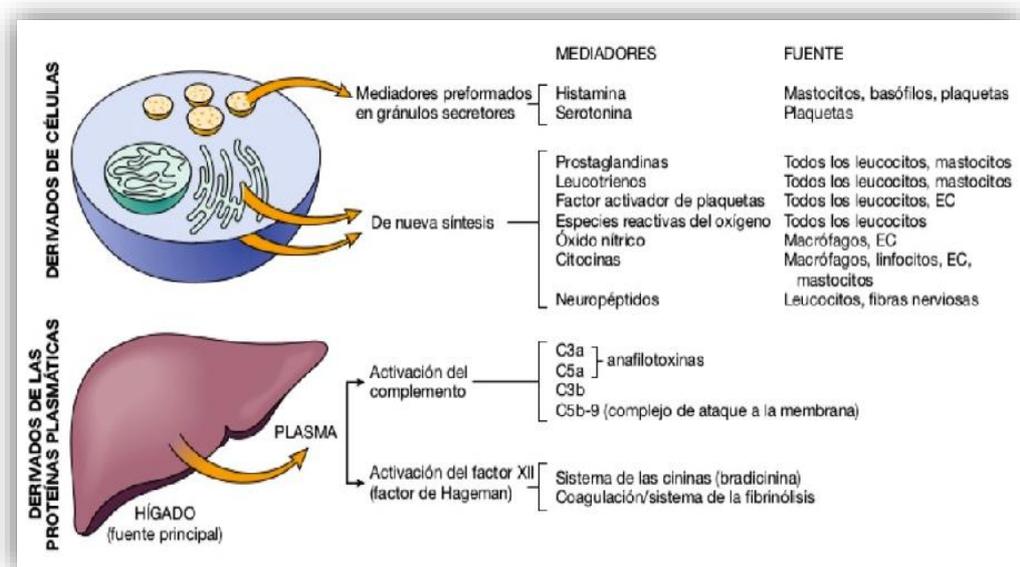
La fagocitosis, los leucocitos liberan sus productos no sólo al interior del fagolisosoma si no también hacia el espacio extracelular. Entre los productos liberados se incluyen, enzimas lisosomales, por regurgitación durante la alimentación, endocitosis inversa o liberación citotóxica. Metabolitos activos derivados del oxígeno, productos del metabolismo del ácido araquidónico, como prostaglandinas y leucotrienos. Estos productos son potentes mediadores de lesión tisular y amplifican los efectos del estímulo inflamatorio inicial.⁽¹⁸⁾

4.5 Mediadores químicos de la inflamación

Una de las fases clave del proceso inflamatorio constituye el conjunto de eventos bioquímicos que conducen a la secreción liberación de sustancias biológicamente activas, denominadas “mediadores químicos de la inflamación”, que son responsables de los cambios metabólicos, vasculares y celulares que caracterizan propiamente la inflamación. (Fig. 1.3)

La producción de mediadores activos esta desencadenada por productos microbianos o por proteínas del huésped, tales como las proteínas del complemento, cininas y sistema de coagulación que, a su vez, son activadas por microbios y tejidos dañados.⁽¹⁸⁾

Figura 1.3 - MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN



Fuente: Robins, Patología

4.5.1 Aminas Vasoactivas

La **histamina** y la **serotonina** existen como sustancias preformadas en las reservas celulares y están entre los primeros mediadores que son liberados durante la inflamación. Se detectan en los mastocitos, los basófilos y las plaquetas y producen vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Su liberación a partir de los mastocitos, está producida por:

- Agentes físicos (traumatismo, calor)
- Reacciones inmunológicas en las que se produce la unión de anticuerpos IgE a los mastocitos.
- Fragmentos de C3a y C5a del complemento
- Neuropéptidos (sustancia P).
- Citocinas (IL-1 e IL-8) Factores de liberación de histamina derivados de los leucocitos. ⁽¹⁸⁾

4.5.2 Proteasas Plasmáticas

Existen tres mediadores de origen plasmático que están relacionados entre sí y que desempeñan un papel clave en las respuestas inflamatorias:

- **Sistema del complemento:** La activación del complemento es un mecanismo de defensa del huésped frente a los agentes microbianos, que finaliza con el ensamblaje del complejo de ataque de membrana y la lisis del agente causante. Durante el proceso, se genera componentes del complemento que dan lugar a un aumento de la permeabilidad vascular, quimiotaxis y opsonización. La activación del complemento se produce a través de dos mecanismos generales: ^(17,18)

1.- La vía clásica iniciada por complejos antígeno-anticuerpo.

2.- La vía alternativa, activada por endotoxino, polisacáridos complejos y globulinas agregadas. Entre los componentes que presentan actividad inflamatoria son: C3a, que incrementa la permeabilidad vascular, C5a, que incrementa la permeabilidad vascular y presenta un elevado poder quimiotáctico para la mayor parte de los leucocitos y C3b y C3bi, u opsoninas, importantes en la fagocitosis. ^(17, 18,19)

- **Sistema de las cininas:** genera péptido vaso activos a partir de proteínas plasmáticas denominadas cininógenos, mediante proteasas específicas denominadas calicreinas, dando lugar finalmente, a la producción de bradicinina. La activación en superficie del factor de Hageman (factor XII) produce el factor XII de la coagulación, que convierte la precalicreina plasmática en calicreina y esta última da lugar a una fragmentación del cininógeno de alto peso molecular produciendo bradicidina, que constituye un potente estimulador del aumento de la permeabilidad vascular. La

calicreína presenta un circuito auto catalítico y es un potente activador del factor de Hageman, muestra actividad quimiotáctica y da lugar a la agresión de neutrófilos. ^(17,18,19)

- **Sistema de los factores de la coagulación:** El factor Hageman activado o factor XIIa, inician cuatro sistemas implicados en la respuesta inflamatoria. ^(17,18)
 - a) Sistema de cininas.
 - b) Sistema de coagulación, estimula la activación de trombina, fibrinógeno y factor X, con propiedades proinflamatorias.
 - c) Sistema fibrinolítico, produce fibrina y degrada trombina. Tiene un rol de reparación.
 - d) Sistema del complemento, producen anafilatoxinas C3A y C5A. ^(17,18)

4.5.3 Neuropeptidos

Los neuropeptidos desempeñan un papel en el inicio de la respuesta inflamatoria. Los péptidos más pequeños como las sustancia P, representan muchas funciones biológicas, entre ellas la transmisión de señales dolorosas, la regulación de la presión arterial y la estimulación de la secreción en células inmunitarias y endocrinas, aunque se caracteriza sobre todo por ser un potente mediador de la permeabilidad vascular. La liberación de la sustancia P altera la permeabilidad vascular dando lugar a la entrada de componentes plasmáticos en la zona de la lesión con amplificación del estímulo inflamatorio inicial. ⁽¹⁸⁾

4.5.4 Acido araquidónico, prostaglandinas, leucotrienos y lipoxinas

La liberación de ácido araquidónico esta mediada por fosfolipasas, durante la inflamación aguda, los fosfolípidos de la membrana de los

mastocitos, monocitos y neutrófilos se metabolizan para formar prostaglandinas y leucotrienos.

La acción antiinflamatoria de los fármacos (AINEs, Glucocorticoides), se debe a su capacidad de inhibir la producción de prostaglandinas. ⁽¹⁹⁾

4.5.5 Factores activadores de plaquetas

El factor activador de plaquetas (PAF) mediador activo derivado de fosfolípidos, el PAF tiene efectos de vasoconstricción y broncoconstricción, pero cuando su concentración es muy baja induce vasodilatación y aumento de la permeabilidad venular; aumenta la adhesión de leucocitos al endotelio, la quimiotaxis, desgranulación y el estallido oxidativo. También potencia la síntesis de otros mediadores eicosanoideos, leucocitarios. ⁽¹⁹⁾

4.5.6 Citocinas

Las citocinas son proteínas producidas por linfocitos y macrófagos, además de células endoteliales, epiteliales y del tejido conectivo, que modulan acciones de otros tipos celulares. ⁽¹⁹⁾

4.5.7 Interleucina I (IL – 1) y Factor de Necrosis Tumoral (TNF)

El TNF e IL-1 son las dos citocinas principales que median la inflamación. La secreción de ambas puede estimularse por endotoxinas y otros productos microbianos, inmunocomplejos, agresión física y varios estímulos inflamatorios. ⁽¹⁹⁾

4.5.8 Quimiocinas

Las quimiocinas son proteínas que actúan como quimioatrayentes para tipos específicos de leucocitos; se clasifican en cuatro grupos de acuerdo a la disposición de cisteína en proteínas maduras: Las quimiocinas estimulan el reclutamiento de leucocitos en la inflamación y controlan la migración normal de células a través de varios tejidos.

Pueden mostrarse en concentraciones elevadas unidas a proteoglucanos de la superficie de células endoteliales y en la matriz extracelular. ⁽¹⁹⁾

4.5.9 Óxido Nítrico

Es un vasodilatador potente en virtud de sus acciones sobre el músculo liso vascular, resude la agregación y adhesión de plaquetas, inhibe características de inflamación inducidas por mastocitos. El bloqueo de su producción induce la rodadura y adhesión de leucocitos. La producción de NO es un mecanismo compensatorio endógeno que reduce las respuestas inflamatorias. El NO y sus derivados son microbicidas, y también es un mediador de la defensa del huésped contra la infección. ⁽¹⁹⁾

4.5.10 Radicales libres derivados del oxígeno

Los radicales libres derivados de oxígeno se liberan extracelularmente de los leucocitos tras su exposición a microbios o inmunocomplejos. Su producción depende de activación del sistema oxidativo NADPH, O₂, H₂O₂ y OH son los principales componentes producidos intracelularmente. La influencia de radicales libres derivados de oxígeno en cualquier reacción inflamatoria determinada depende del equilibrio entre la producción y la inactivación de estos metabolitos por células y tejidos. ^(18,19)

4.5.11 Componentes Lisosómicos

Los monocitos y neutrófilos contienen gránulos lisosomales que al liberarse contribuyen a la respuesta inflamatoria. Los gránulos pequeños o específicos contienen lisozima, colagenasa, gelatinasa, lactoferrina, activador de plasminógeno, histaminasa y fosfatasa alcalina. Los gránulos grandes azurófilos contienen mieloperoxidasa, factores bactericidas, hidrolasas ácidas y proteasas neutras. Estos gránulos pueden vaciarse dentro de las vesículas fagocíticas. Los gránulos específicos se secretan extracelularmente con facilidad y los

gránulos azurófilos liberan su contenido en el fagosoma y son potencialmente destructivos.

Las proteasas ácidas degradan la bacteria y residuos dentro de los fagolisosomas, donde hay un pH ácido. Las proteasas neutras degradan varios componentes extracelulares, dando lugar a la destrucción de tejidos que acompaña a los procesos inflamatorios. La elastasa de los neutrófilos degrada los factores de virulencia de las bacterias. ^(18,19)

4.6 Fármacos Antiinflamatorios

Entre los fármacos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios tenemos a los AINEs tienen como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas, a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa y los antiinflamatorios esteroides o glucocorticoides. ⁽²⁰⁾

4.6.1 Antiinflamatorios No Esteroides (AINEs)

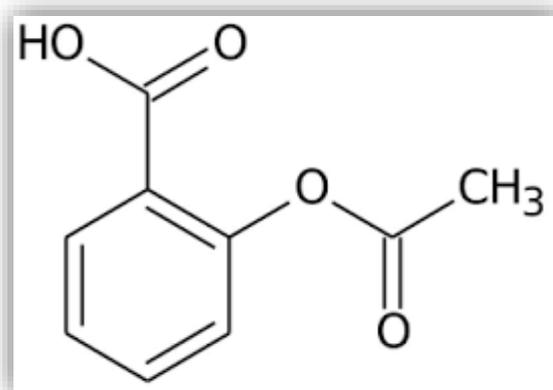
Son un grupo de medicamentos que pertenecen a diversas clases químicas como los derivados del ácido salicílico, p-aminofenol, indol, arilpropiónico, del ácido antranílico, ácido enólico e inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa – 2 (COX –2).

Grupo de agentes de estructura química diferente que tienen como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas, a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa. Estas drogas comparten acciones farmacológicas y efectos indeseables semejantes. ⁽²⁰⁾

4.6.1.1 Ácido Acetilsalicílico

La aspirina es el único de todos los AINEs que acetila en forma irreversible la ciclooxigenasa, tiene propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias.

En la figura 1.4 muestra la estructura química del ácido acetilsalicílico. ⁽²⁰⁾

Figura 1.4 - Estructura química**Ácido acetilsalicílico**

Fuente: anafyq.2016/02/la-aspirina.html

- Mecanismos de acción:

La aspirina inhibe muy efectivamente la COX1, a bajas dosis es utilizada en medicina cardiovascular como un inhibidor selectivo e irreversible de COX1 plaquetaria. A dosis más altas la inhibición de COX1 es generalizada y puede producir daño gastrointestinal. A estas dosis el metabolito de la aspirina, el salicilato es capaz de inhibir la COX2, agregando efectos antiinflamatorios. ⁽²¹⁾

- Farmacocinética:

Los salicilatos se absorben rápidamente en el tracto gastrointestinal (20-60 minutos), en parte en el estómago, pero principalmente en la primera porción del intestino delgado por difusión pasiva de las moléculas no ionizadas. La absorción depende de la forma farmacéutica, el pH gástrico, el tiempo de vaciamiento gástrico, la tasa de disolución. Cuando la droga es administrada con antiácidos o con leche se dificulta la absorción. ⁽²¹⁾

- **Dosis:**

Adultos:

Acción analgésica – antipirética 500 mg/ 4 – 6 horas vía oral hasta un máximo de 4 g/ día.

Acción antiinflamatoria 3 – 8 g/día 4 – 6 horas vía oral.
(21)

Niños:

10 – 25 mg/Kg/día vía oral en dosis fraccionadas cada 4 – 6 horas.

Si existe proceso reumático podemos incrementar hasta 60 – 80 mg/kg/día. (21)

- **Reacciones adversas:**

Dan lugar a irritación en mucosa gástrica.

Alteración de la coagulación, adhesividad plaquetaria, anemia hemolítica. Si las concentraciones plasmáticas son superiores a 200 mg/ml se da hiperventilación, vértigo, anemia, fiebre, alucinaciones. (21)

4.6.2 Glucocorticoides

Su propiedad más útil como antiinflamatorio puede actuar en casos graves de inflamación, así mismo tiene múltiples aplicaciones terapéuticas, teniendo conocimiento de potenciales efectos secundarios, los glucocorticoides sistémicos se reservan para el tratamiento a corto plazo de enfermedades graves.

Los glucocorticoides son agonistas altamente liposolubles, que difunden a través de la membrana plasmática y se unen al receptor

ubicado en el citoplasma. Un nuevo ARNm formado, da origen a proteínas como lipocortina, adrenoceptores β_2 , macrocortina o lipocortina, una proteína inhibidora de la fosfolipasa A_2 , interfiriendo en la producción de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, disminuyendo la síntesis y liberación de sustancias. ^(20,21)

4.7 Compuestos con actividad antiinflamatoria de la mullaca

(Erazo et al, 2002 pág. 9-10), evaluó la composición química y actividad farmacológica de la raíz y las partes aéreas de la planta, encontrándose flavonoides, epicatequina, rutina, emodina 8-glucósido. ⁽²⁴⁾

Sinche J (1956), al evaluar el contenido farmacognóstico y su efecto farmacológico saponinas, taninos, mucílagos, gomas, glucósidos y sustancias pépticas, presencia de carotenoides, rutina. Concluyendo que por su acción sobre el sistema circulatorio disminuye la fragilidad capilar y por las saponinas su acción expectorante ⁽²⁵⁾

(Shigematsu et al 2003; pág. 10-17), explica que los flavonoides, productos secundarios de las plantas podrían ser esenciales para la fisiología normal en los seres humanos y los animales. ⁽²²⁾

(Somova et al. 2003 pág. 299-305), manifiestan que los flavonoides pertenecen a los polifenoles y poseen propiedades antioxidantes, inhiben la expresión de los inhibidores de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) y óxido nítrico sintasa inducida (NOS), inhiben la tirosina y serina treonina quinasa, inhiben el mecanismo del ácido araquidónico, anti-inflamatorias, anti-mutagénicas y anticancerígenas, pueden inhibir las vías inflamatorias y podrían ser útiles para el tratamiento de enfermedades inflamatorias. ⁽²³⁾

5 METODOS DE VALORACION DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Los modelos experimentales más utilizados para valorar la actividad antiinflamatoria describimos a continuación:

5.1 Edema sub-plantar inducido por carragenina

Este método consiste en provocar un edema en la región sub-plantar de la pata de la rata mediante la inyección de carragenina (agente flogístico) al 1 % esta mezcla de polisacáridos sulfatado que se obtiene frecuentemente a partir de *Chondrus crispus*, alga marina de la familia Rhodophyta.

En la primera fase se registra un incremento gradual del edema en el transcurso de la primera hora (histamina y serotonina), seguido de una segunda fase que dura hasta tres horas después de la administración de la carragenina (cininas) y en fase avanzada se caracteriza por un incremento abrupto que presenta el edema a partir de los 90 minutos a las 6 horas las prostaglandinas son principales mediadores. ⁽²⁶⁾

5.2 Edema con aceite de crotón en la oreja del ratón

El aceite de crotón se obtiene de la especie *Croton tiglium* L y posee propiedades irritantes, proinflamatorias y promotora de tumores. Estas propiedades se deben a que contiene una mezcla de ésteres del forbol, siendo el TPA el más potente.

El TPA desencadena todos los eventos propios del proceso inflamatorio: vasodilatación y eritema entre 1 - 2 h, extravasación y edema entre 3 - 4 h, llegando al máximo a las 6 - 8 h. A las 12-14 h el edema desaparece, pero la vasodilatación y el eritema pueden persistir entre 24-48 h. ⁽²⁷⁾

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1. DURACIÓN DEL ESTUDIO

La prueba piloto y la evaluación del efecto antiinflamatorio (etapa experimental) tuvieron una duración de doce semanas, iniciando dicha investigación en el mes de abril del 2017.

2. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La investigación relacionada a la planta (acondicionamiento de la planta, estabilización elaboración de extractos, formulación de suspensiones) fueron realizados en el Laboratorio de Investigación H-102 y el estudio pre – clínico en animales de experimentación se realizó en el Bioterio; ambos ambientes ubicados en el Campus de la Universidad Católica de Santa María.

3. MATERIALES

3.1. Unidades de estudio

3.1.1. Unidad Botánica La muestra fue la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA), procedente de la localidad de Espinar (Cusco) Altitud: 3924 msnm

Latitud: 14°47'35" SUR.

Longitud: 71°24'48" ESTE.

Superficie: 747.78 Km²

Dicho material vegetal fue autenticado en el Herbarium Arequipense (HUSA), ubicado en la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. (Anexo 1)

3.1.2. Unidad Biológica

Fueron utilizados 28 ratas machos, de la especie *Rattus rattus* de la raza Wistar, variedad albina; aproximadamente 7 meses de edad, con un peso de 250 gramos, provenientes del Bioterio situado en la Universidad Católica de Santa María. Dichas unidades biológicas fueron sometidas a una adaptación estandarizada en cuanto a las condiciones ambientales (factores externos ambientales adecuados para realizar una óptima investigación); su alimentación en base a maíz blanco y agua en proporciones iguales y suficientes para que puedan alimentarse a voluntad propia. La etapa piloto se trabajó con 8 animales de experimentación (ratas) sub-divididas en 4 subgrupos de dos ratas cada uno y la etapa experimental se trabajó con 20 animales de experimentación (ratas), sub-divididas en 5 grupos de cuatro ratas respectivamente.

Los animales de experimentación fueron sometidos a ayuno de 24 horas antes de la etapa pre-liminar (piloto) y experimental.

3.2. Material de laboratorio, equipos y reactivos

3.2.1. Material de vidrio

- Vasos de precipitado de 100 ml, 150 ml y 250 ml.
- Termómetro de laboratorio.
- Baguetas.
- Cubas cromatográficas.

- Fiolas de 10 ml.
- Capilares sin heparina.
- Probetas graduadas de 100 ml.
- Pipetas graduadas de 1ml, 5 ml y 10ml.
- Lunas de vidrio.

3.2.2. Aparatos y equipos de laboratorio

- Balanza analítica Ohaus Pioneer.
- Equipo de Soxhlet de 150 ml.
- Equipo Rotavapor BUCHZ Switzerland R – 114.
- Estufa Memmert 854 Shwabach – Germany.
- Lámpara de luz UV CAMAG.
- Pletismómetro Digital LE 7500.

3.2.3. Material Anexo

- Cocina eléctrica.
- Algodón.
- Pabilo.
- Cúter.
- Espátulas.
- Frascos de vidrio color ámbar.
- Guantes quirúrgicos.
- Jaulas metálicas.
- Picetas.
- Tijera.
- Soporte Universal.
- Regla.
- Papel kraft.
- Papel aluminio.
- Olla metálica.
- Mortero.
- Plumón indeleble

- Láminas de silica gel 60 F₂₅₄ .
- Jeringas 1 ml y 5 ml.

3.2.4. Reactivos

- Etanol 96% (DELTA QUIMICA)
- Cloroformo (triclorometano) ACS (J.T.BAKER)
- Éter de petróleo ACS (J.T.BAKER)
- Agua destilada
- Acetona (propanona) ACS (MERCK)
- Ácido acético glacial Q.P. (MERCK)
- Cloruro férrico ACS (MERCK)
- Hexano ACS (J.T.BAKER)
- Anisaldehido
- Carragenina
- Tritón
- Cloruro de Sodio
- Tween 20 (MERCK)
- Tolueno ACS (J.T.BAKER)
- Metanol ACS (J.T.BAKER)
- Ácido sulfúrico ACS (MERCK)
- Acetato de etilo ACS (J.T.BAKER)
- Carboximetilcelulosa sódica (LABOCHINI)
- Tricloruro de aluminio ACS (RIEDEL DE HAEN)

4. MÉTODOS

4.1. Recolección y acondicionamiento del material vegetal

4.1.1. Recolección

Se procedió a la recolección en la localidad de Espinar (Cusco) de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth Endlicher (MULLACA)

crece de manera silvestre en zonas rocosas. Se realizó el adecuado transporte a la ciudad de Arequipa. ⁽²⁸⁾



4.1.2. Selección

Se procedió a separar la raíz de hojas y tallos en buen estado, se colocaron en un recipiente para realizar su respectivo lavado con escobilla y abundante agua para eliminar residuos de tierra, se trozó cuidadosamente en trozos que puedan manipularse.

Cabe mencionar que dichas raíces no presentaban ninguna evidencia de algunas formas de insectos. ⁽²⁸⁾



4.1.3. Estabilización

Las raíces fueron colocadas sobre papel kraft, extendidas y separadas sobre las bandejas de acero de la estufa a una temperatura de 100 °C por tres minutos. ⁽²⁸⁾

4.1.4. Deseccación

Las raíces se colocaron en trozos encima de papel kraft, extendidas y separadas sobre bandejas de acero de la estufa para que exista una mayor superficie de contacto con el calor seco. Se sometió a una temperatura de 60 °C por un periodo de 48 horas. ⁽²⁸⁾



4.1.5. Pulverización

Se procedió a colocar las raíces desecadas en un mortero y posteriormente en un procesador, hasta lograr una trituration moderada y uniforme del material vegetal, de esta manera incrementar la superficie de contacto con el solvente durante la extracción.



4.2. Obtención de los extractos

4.2.1. Método: Extracción con equipo de Soxhlet.

4.2.2. Fundamento

La extracción es una de las operaciones básicas del laboratorio. Se define como la acción de separar con un líquido una fracción específica de una muestra, dejando el resto lo más íntegro posible.

La extracción Soxhlet se fundamenta en las siguientes etapas:

- Colocación del solvente en un balón
 - Ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo.
 - El condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior.
 - Ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho, se produce un reflujo volviendo el solvente al balón.
 - Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesarias hasta agotar la muestra.
 - La muestra extraída se va concentrando en el balón del solvente.
- (figura 2.1) ⁽⁹⁾

Figura 2.1 - Equipo Soxhlet



4.2.3. Procedimiento

- El equipo y materiales para utilizar se lavaron con detergente y abundante agua, posteriormente hacerlos secar al medio ambiente.
- Se pesó 10 gramos de la muestra pulverizada, se colocó en papel filtro previamente pesado y se colocó en la cámara de extracción del equipo Soxhlet.
- Se pesó el balón de destilación, su masa fue registrada y se le añadió 150 ml del solvente dependiendo del extracto a realizarse, etanol, cloroformo o éter de petróleo.
- Seguidamente se armó el equipo Soxhlet, en baño maría, la temperatura siempre controlada para que esta no exceda la temperatura de ebullición del solvente.
- Temperaturas de ebullición: etanol (78.3 °C), cloroformo (61.2 °C) y éter de petróleo (35 – 60 °C), (datos obtenidos de los frascos originales de cada uno de los solventes).
- Las extracciones se realizaron: con etanol por 7 horas; cloroformo por 7 horas y éter de petróleo por 7 horas, hasta obtener un color muy claro, en relación al color ámbar que al principio se obtuvo en la cámara de extracción.

4.3. Determinación del rendimiento de extracción

4.3.1. Método

Evaporación a sequedad.

4.3.2. Fundamento

El porcentaje de rendimiento de extracción (%RE) se fundamenta a partir de la separación del solvente del principio activo obteniendo un extracto concentrado. Aplicándose a baño maría con una temperatura

adecuada hasta evaporación total del solvente, obteniendo en el fondo del recipiente el principio activo que se desea obtener.

4.3.3. Procedimiento

- Extracto etanólico: una vez terminada la extracción por Soxhlet, se colocó el extracto etanólico en un balón para su evaporación mediante el equipo rotavapor, seguidamente se procedió a su evaporación en baño María en un vaso precipitado previamente pesado.
- Extracto clorofórmico: una vez terminada la extracción por Soxhlet se traspasó el extracto clorofórmico a un vaso precipitado previamente lavado, secado y pesado, se sometió a baño maría, bajo la campana eliminando el solvente en su totalidad, hasta no detectar el olor a solvente.
- Extracto éter de petróleo: una vez terminada la extracción por Soxhlet se traspasó el extracto éter de petróleo a un vaso precipitado previamente lavado, secado y pesado, se sometió a baño maría, bajo la campana eliminando el solvente en su totalidad, hasta no detectar el olor a solvente.
- Se procedió a enfriar y secar los vasos precipitados con los distintos extractos blandos, para posteriormente pesarlos hasta que presenten peso constante y proceder a registrar sus masas.
- Se calculó el porcentaje de rendimiento (% RE), para calcular posteriormente la dosis de los tratamientos.
- Posteriormente los extractos blandos se utilizaron para realizar la etapa pre-liminar o piloto (extracto etanólico, extracto clorofórmico y extracto éter de petróleo) y etapa experimental (realizado con el extracto que presentó mejor efecto en la etapa pre-liminar).

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Peso extracto}}{\text{Peso planta seca}} \times 100$$

4.4. Prueba piloto

Esta etapa se realizó con la finalidad de obtener extractos de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) con solventes de diferente polaridad y determinar cuál de ellos presenta mejor efecto antiinflamatorio.

Se usó etanol de 96° como solvente polar, cloroformo medianamente polar y como solvente apolar el éter de petróleo.

4.4.1. Cálculo de la dosis de los tratamientos

Se determinó la dosis considerando los siguientes datos:

- Dosis antiinflamatoria utilizada tradicionalmente de 1 a 5 g de la raíz seca para personas de 70 kg.
- Rendimiento de cada uno de los extractos.
- Peso de los animales de experimentación (ratas).

Fue considerada una dosis de 3 g de raíz seca para una persona de 70 kg, por ser la dosis intermedia con efecto antiinflamatorio que habitualmente se utiliza. Por lo tanto, se utilizó 42.86 mg de raíz seca por kg de peso. Considerando el porcentaje de rendimiento de los extractos (apartado 2, Capítulo III), se determinaron dosis de extracto blando de 0.60 mg/kg para el extracto clorofórmico, 0.17 mg/kg para el extracto éter de petróleo y 10.63 para el extracto etanólico. (Cuadro 2.1)

Cuadro N° 2.1 - Cálculo para dosis de los diferentes extractos blandos de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benthán Endlicher (MULLACA)

$$\text{D.ext.clorof.} = \frac{3 \text{ g R seco}}{70 \text{ Kg}} \times \frac{1.407 \text{ g}}{100 \text{ g.R seci}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \mathbf{0.60 \text{ mg/Kg}}$$

$$\text{D.ext.éter pet.} = \frac{3 \text{ g R seco}}{70 \text{ Kg}} \times \frac{0.395 \text{ g}}{100 \text{ g.R seci}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \mathbf{0.17 \text{ mg/Kg}}$$

$$\text{D.ext.etanol} = \frac{3 \text{ g R seco}}{70 \text{ Kg}} \times \frac{24.8 \text{ g}}{100 \text{ g.R seci}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = \mathbf{10.63 \text{ mg/Kg}}$$

Para administrar los extractos por vía oral, se prepararon suspensiones con un extracto diferente cada una, se administraron las dosis calculadas anteriormente, teniendo en cuenta el peso de cada animal de experimentación. Las suspensiones con sus respectivas formulaciones: (Cuadro 2.2)

Cuadro N° 2.2 - Suspensiones de extractos blandos de *Muehlenbeckia volcánica* Benthán Endlicher (MULLACA) y grupo control

Rp 1: Suspensión extracto clorofórmico (0.006% p/v)

Extracto de Mullaca	1.8 mg
Carboximetilcelulosa sódica	0.15 g
Tween 20	0.5 ml
Agua destilada c.s.p	30 ml

Rp 2: Suspensión extracto éter de petróleo (0.002% p/v)

Extracto de Mullaca	0.6 mg
Carboximetilcelulosa sódica	0.15 g
Tween 20	0.5 ml
Agua destilada c.s.p	30 ml

Rp 3: Suspensión extracto etanólico (0.106 % p/v)

Extracto de Mullaca	31.8 mg
Carboximetilcelulosa sódica	0.15 g
Tween 20	0.5 ml
Agua destilada c.s.p	30 ml

Rp 4: Grupo control

Carboximetilcelulosa sódica	0.15 g
Tween 20	0.5 ml
Agua destilada c.s.p	30 ml

4.4.2. Distribución de la muestra

Fueron utilizados ocho (8) animales de experimentación, distribuidos aleatoriamente en 4 grupos de trabajo a continuación, detallada:

- **Grupo control:** fueron asignados 2 animales de experimentación, a los cuales se les administró el vehículo y los excipientes de las suspensiones por vía oral.
- **Grupo experimental 1:** compuesto por 2 animales de experimentación, se administró por vía oral la suspensión del extracto clorofórmico 0.60 mg/Kg.
- **Grupo experimental 2:** compuesto por 2 animales de experimentación, se administró por vía oral la suspensión del extracto éter de petróleo 0.17 mg/Kg.
- **Grupo experimental 3:** compuesto por 2 animales de experimentación, se administró por vía oral la suspensión del extracto etanólico 10.63 mg/Kg.

4.4.3. Procedimiento

- Se evaluó el efecto antiinflamatorio de la misma forma descrita en la etapa experimental, induciendo inflamación por el método de edema sub-plantar con carragenina. y evaluado por el equipo Pletismómetro Digital. (apartados 4.6.3; 4.6.4 y 4.6.5 Capítulo II).
- Se administraron las suspensiones de los diferentes extractos por vía oral, tres horas después de administrar la solución de carragenina 1% (agente flogógeno) por vía subcutánea. Así mismo el grupo control solo recibió el vehículo y excipientes de las suspensiones.
- Se escogió el extracto que presentó el mejor efecto antiinflamatorio, considerando pruebas de ANOVA y Test de Tukey.

4.5. Análisis Cromatográfico

4.5.1. Método

Cromatografía en capa fina (CCF o TLC)

4.5.2. Fundamento

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. Los requisitos esenciales son, pues, un adsorbente, placas de vidrio, un dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otro para aplicar la capa de adsorbente, y una cámara en la que se desarrollen las placas cubiertas.

Es preciso también poder guardar con facilidad las placas preparadas y una estufa para activarlas. La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares. ^(29,31)

Revelado de las placas: La mayor parte de las placas de cromatografía llevan un indicador fluorescente que permite la visualización de los compuestos activos a la luz ultravioleta (254-366 nm).

El indicador absorbe la luz UV y emite luz visible. La presencia de un compuesto activo en el UV evita que el indicador absorba la luz en la zona en la que se encuentra el producto, y el resultado es la visualización de una mancha en la placa que indica la presencia de un compuesto. En el caso de compuestos que no absorben luz UV, la visualización (o revelado) del cromatograma requiere utilizar un agente revelador. Este tiene que reaccionar con los productos adsorbidos proporcionando compuestos coloreados. ⁽³⁰⁾

Determinación del Rf: La relación entre las distancias recorridas por el soluto y por el eluyente desde el origen de la placa se conoce como Rf, y tiene un valor constante para cada compuesto en unas condiciones cromatográficas determinadas (adsorbente, disolvente, tamaño de la cubeta, temperatura, etc.).^(30,33)

4.5.3. Procedimiento

4.5.3.1. Preparación de la fase móvil

- Se mezcló los solventes elegidos en la cuba cromatográfica, en las proporciones indicadas y el volumen adecuado el cual no sobrepasó la línea de sembrado de la fase estacionaria, aproximadamente 7 ml.
- Se tapó la cuba cromatográfica, para que se sature el medio, dejando en reposo por aproximadamente 10 a 15 minutos.

4.5.3.2. Preparación de la placa cromatográfica

- Se usó como fase estacionaria placas de sílica gel con soporte de aluminio, dichas placas tuvieron dimensiones de 10 x 2 cm.
- Se trazó cuidadosamente con un lápiz, una línea aproximadamente a 1 cm del borde inferior (línea de sembrado) y otra a 1cm del borde superior.
- Sobre la línea de sembrado (borde inferior) se procedió a sembrar con un capilar muy fino el extracto etanólico, realizando 10 siembras en el punto. Dicha prueba se realizó por duplicado.
- Posteriormente se dejó secar a temperatura ambiente, para luego ser colocada en la cuba cromatográfica.

4.5.3.3. Desarrollo Cromatográfico

- Se introdujo con una pinza la placa de forma vertical, con un ligero ángulo dentro de la cuba cromatográfica que contenía la fase móvil preparada y adecuada para cada muestra.
- Se desarrolló la técnica hasta que la fase móvil llegó a la línea superior sin sobrepasarla, en la placa de sílica gel.
- Se retiró la placa de la cuba para dejarla secar a medio ambiente por un tiempo de 10 a 15 minutos, posteriormente se observó a luz UV delimitando las zonas donde se pudieron visualizar los componentes del extracto.

4.5.3.4. Revelado

Pulverizar la placa de sílica gel con sus reveladores específicos y secar en la estufa.

4.5.3.5. Factor de retención o retraso (R_f)

Este movimiento es constante y característico para cada sustancia en un sistema cromatográfico determinado y a una temperatura determinada.

$$R_f = \left(\frac{Z_s}{Z_{f^m}} \right)$$

Donde Z_s es la distancia recorrida por la zona de soluto y Z_{f^m} la distancia recorrida por la fase móvil. (55)

Los valores de R_f están situados entre 0 y 1. Si $R_f=0$; el soluto no migra (no es soluble en la fase móvil), si $R_f = 1$; el soluto no es retenido por la fase estacionaria y se mueve con el frente del disolvente. Cuando los valores de R_f son diferentes de una

mezcla de solutos, más factible es la identificación de los mismos. ⁽³³⁾

4.5.4. Identificación de componentes

4.5.4.1. Corrida general:

Fase móvil: n- hexano – acetona (8:2).

Revelador: Vainillina 1 gr - Ácido sulfúrico al 10% en etanol.

Calentar a 100° C por un tiempo de 3 – 5 minutos.

Luz visible. ^(7,42)

4.5.4.2. Flavonoides:

Fase móvil: n-hexano – acetona (8:2).

Revelador: Cloruro de aluminio al 1% en etanol.

Aspersar, observar fluorescencia amarilla a luz UV-366nm.

^(7,42)

4.5.4.3. Taninos:

Fase móvil: Acetato de etilo – metanol (80:20)

Revelador: Cloruro de hierro (III) al 5% en etanol.

Observar manchas azules, verdes de fenoles o rojas de ácidos hidroxámicos. Luz visible. ^(7,42)

4.5.4.4. Terpenos:

Fase móvil: Tolueno – Acetato de etilo (90:10)

Revelador: ácido sulfúrico concentrado 4 gotas, anhídrido acético 4ml, cloroformo 4 ml en baño de hielo; recién preparado.

Aspersar, calentar la placa a 100 – 105° C, observar colores azul, rojo, violeta, verde o gris. Luz visible ^(7,42)

4.6. Etapa experimental – Evaluación del efecto antiinflamatorio

4.6.1. Cálculo de las dosis de los tratamientos

Determinación de las dosis teniendo en cuenta los mismos datos de la prueba piloto (Capítulo II, apartado 4.4.1).

Se consideró dosis de 1.0; 3.0 y 5.0 gramos de raíz seca para una persona de 70 kg, dosis mínima, intermedia y máxima tradicionalmente administradas para el tratamiento de la inflamación.

Teniendo en cuenta el porcentaje de rendimiento del extracto blando etanólico (24.80%), se determinaron dosis de 3.54, 10.63 y 17.71 mg/kg. (Cuadro 2.3)

La dosis de ácido acetilsalicílico fue calculada tomando como referencia la dosis administrada como antiinflamatorio, utilizándose 7.15 mg/kg de peso.

Cuadro N° 2.3 - Cálculo de dosis del extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA)

$$D.\text{ext.etanólico} = \frac{1 \text{ g R seco}}{70 \text{ Kg}} \times \frac{24.8 \text{ g}}{100 \text{ g.R seco}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 3.54 \text{ mg/kg}$$

$$D.\text{ext.etanólico} = \frac{3 \text{ g R seco}}{70 \text{ Kg}} \times \frac{24.8 \text{ g}}{100 \text{ g.R seco}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 10.63 \text{ mg/kg}$$

$$D.\text{ext.etanólico} = \frac{5 \text{ g R seco}}{70 \text{ Kg}} \times \frac{24.8 \text{ g}}{100 \text{ g.R seco}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 17.71 \text{ mg/kg}$$

4.6.2. Formulación de las suspensiones

Se formularon suspensiones con el objetivo de distribuir el extracto etanólico en un vehículo en el cual sea insoluble o presente un grado de solubilidad mínimo. Las suspensiones fueron formuladas de la siguiente manera: (Cuadro 2.4)

Cuadro N° 2.4 - Suspensiones del extracto blando de etanol de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth an Endlicher (MULLACA), grupo control y ácido acetilsalicílico.

Rp 1: Suspensión extracto etanólico (0.04% p/v)

Extracto etanólico	10.63 mg
Carboximetilcelulosa sódica	0.15 g
Tensoactivo: tween 20	0.5 ml
Vehículo: agua destilada c.s.p	30 ml

Rp 2: Suspensión extracto etanólico (0.11% p/v)

Extracto etanólico	31.88 mg
Carboximetilcelulosa sódica	0.15 g
Tween 20	0.5 ml
Agua destilada c.s.p	30 ml

Rp 3: Suspensión extracto etanólico (0.18% p/v)

Extracto etanólico	53.14 mg
Carboximetilcelulosa sódica	0.15 g
Tween 20	0.5 ml
Agua destilada c.s.p	30 ml

Rp 4: Suspensión ácido acetilsalicílico (0.072% p/v)

Ácido acetilsalicílico	21.45 mg
Carboximetilcelulosa sódica	0.15 g
Tween 20	0.5 ml
Agua destilada c.s.p	30 ml

FORMULACIÓN 4: Grupo control (vehículo)

Carboximetilcelulosa sódica	0.15 g
Tween 20	0.5 ml
Agua destilada c.s.p	30 ml

4.6.2.1.Procedimiento

Se pesó en un vaso precipitado el extracto etanólico, se mezcló enérgicamente con tween 20, seguidamente se agregó 10 ml de agua destilada manteniendo el sistema en constante agitación.

En otro vaso precipitado, se pesó carboximetilcelulosa y se agregó 10 ml de agua destilada, se dejó en reposo hasta hidratación completa. Se mezclaron cuidadosamente los contenidos de ambos vasos precipitados y enrazó hasta 30 ml con agua destilada. Se mantuvo en constante agitación, hasta que se observó una suspensión homogénea.

4.6.3. Distribución de la muestra

En la etapa experimental se emplearon 20 ratas, las cuales de manera aleatoria se dividieron en 5 grupos, cada uno de 4 ratas a continuación, se describe:

- **Grupo control:** administración vía oral del vehículo y excipiente de la suspensión, tres horas después de administrar el agente flogógeno.
- **Grupo ácido acetilsalicílico:** administración vía oral de la suspensión con ácido acetilsalicílico a dosis de 7.15 mg/kg, tres horas después de administrar el agente flogógeno.
- **Grupo experimental 1:** administración vía oral de la suspensión de extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (MULLACA) a una dosis de 3.54 mg/kg, tres horas después de administrar el agente flogógeno.
- **Grupo experimental 2:** administración vía oral de la suspensión de extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (MULLACA) a una dosis de 10.63 mg/kg, tres horas después de administrar el agente flogógeno.
- **Grupo experimental 3:** administración vía oral de la suspensión de extracto etanólico de la *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (MULLACA) a una dosis de 17.71 mg/kg, tres horas después de administrar el agente flogógeno.

4.6.3.1. Procedimiento

- Se distribuyó aleatoriamente a las ratas y se aclimató en las jaulas asignadas.
- Se instaló y calibró el equipo Pletismómetro Digital.
- Se marcó una línea horizontal a la altura de la aponeurosis de la pata, con plumón de tinta indeleble, para realizar una medición con mayor exactitud.
- Se midió a tiempo cero (T_0), el volumen inicial de la pata.
- Se midió el volumen de la pata una hora después de administrado el agente flogógeno (solución carragenina 1%) (T_1), (T_2) dos horas después y (T_3) tres horas después.
- Inmediatamente después de administrado el agente flogógeno a la tercera hora, se administró por vía oral las suspensiones correspondientes al grupo control, grupo ácido acetilsalicílico y grupos experimentales. La dosis fue calculada de acuerdo al peso de los animales de experimentación.
- Se procedió a medir el volumen de la pata, cuatro horas después de administrado el agente flogógeno (T_4), y así sucesivamente hasta las siete horas después (T_7).

4.6.4. Medición del grado de inflamación en ratas

4.6.4.1. Método

Medición con Pletismómetro Digital

4.6.4.2. Fundamento

El Pletismómetro Digital LE 7500 es un instrumento utilizado para determinar la variación de volumen de las extremidades de roedores, midiendo la variación de nivel de líquido al introducir la extremidad en un depósito. La prueba del Pletismómetro permite el seguimiento de la evolución del proceso inflamatorio inducido experimentalmente en la pata de roedores y así detectar las propiedades antiinflamatorias o antiedema de sustancias farmacológicas. ⁽³⁴⁾

La introducción de la pata del animal en la vasija volumétrica cambia el nivel de líquido y la conductividad entre dos electrodos de platino previamente introducidos en la vasija sensora. Este cambio de conductividad entre los dos electrodos genera una señal de salida indicando el valor del volumen desplazado y por consecuencia el volumen de la pata, este cambio se expresa en mililitros con una resolución de 0.01 ml.

4.6.4.3. Procedimiento

- Preparación de la solución:

Tuvo una concentración de 0.1% p/v de NaCl, 0.5 g de cloruro de sodio en 500 ml de agua destilada no desionizada. Posteriormente se añadió 8 gotas de tritón (esto evita la formación del menisco es decir disminuye la tensión superficial), se guardó en un envase de vidrio. ⁽³⁴⁾

- Manejo del equipo y lectura de medidas

Se inició encendiendo la unidad de control (LE 7500), se observó cómo encendió el led HOLD, después de unos segundos el DISPLAY marcó 0.00. ⁽³⁴⁾

Se giró la válvula de la primera vasija que contiene la solución salina la cual llegó a una segunda vasija hasta un nivel que está indicado por una marca en la vasija, se pulsó el botón ZERO el cuál indicó el punto de partida (mililitros de volumen = 0).⁽³⁴⁾

Posteriormente se procedió a calibrar el instrumento (se pulsó el botón ZERO, introduciéndose una pesa de vidrio cuyo calibre de 3 ml, se pulsa el botón de CALIBRATION, en el DISPLAY se observó 3.00; luego retirar el calibre de la vasija volumétrica y el DISPLAY deberá indicar nuevamente 0.00).

Una vez que el DISPLAY marcó 0.00 se procedió a introducir la extremidad marcada de la rata, procediéndose a medir el volumen que marcaba.⁽³⁴⁾

4.6.5. Inducción de inflamación en ratas

4.6.5.1. Método

Método del edema sub-plantar inducido por carragenina (creado por Winter et al., modificado por Sugishita).⁽²⁷⁾

4.6.5.2. Fundamento

Este procedimiento consiste en la administración de una solución de carragenina al 1% en agua destilada, subcutáneamente dentro de la superficie de la aponeurosis de la pata de la rata (cobayo o ratón animales de experimentación), provocando una inflamación mediada por liberación de histamina, serotonina, prostaglandinas, bradicinina, etc., diversos factores del complemento están implicados en amplificar la respuesta.

Después de una hora de la administración de la carragenina, la serotonina y la histamina juegan un papel importante como mediadores. En un lapso aproximado de 1.5 – 2.5 horas después de la administración de carragenina, intervienen las cininas. La última fase esta mediada por las prostaglandinas. La respuesta máxima ocurre aproximadamente a la 4ta hora de la administración y coincide con la fase mediada por prostaglandinas. ^(26,27)

4.6.5.3.Procedimiento

- Se preparó una solución de cloruro de sodio al 0.9% (en 100 ml de agua se disolvió 0.9 g de cloruro de sodio).
- Se preparó una solución de carragenina al 1 % (pesar 0.25 g de carragenina en 25 ml de solución fisiológica) en baño maría, con agitación constante hasta solubilidad completa (25 a 30 minutos aproximadamente). ^(26,27)

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de experimentos incluye un conjunto de técnicas de análisis y un método de construcción de modelos estadísticos que, conjuntamente, permiten llevar a cabo el proceso completo de planificar un experimento para obtener datos apropiados, que puedan ser analizados con métodos estadísticos, con objeto de obtener conclusiones válidas y objetivas. El análisis de la varianza o abreviadamente ANOVA (del inglés analysis of variance) es un procedimiento estadístico que permite dividir la variabilidad observada en componentes independientes que pueden atribuirse a diferentes causas de interés.

5.1. Estadística Descriptiva

5.1.1. Medidas de tendencia central

5.1.1.1. Media Aritmética

La media aritmética que también se conoce como media o promedio, se calcula por medio de la siguiente fórmula.

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

5.1.2. Medidas de dispersión

5.1.2.1 Varianza

Es la media aritmética de los cuadrados de las desviaciones respecto a la media. Se representa por S^2 y se calcula mediante la fórmula.

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_j - \bar{X})^2}{n-1}$$

5.1.2.2 Desviación Estándar

Es un conjunto de datos, es una medida de dispersión, que nos indica cuánto pueden alejarse los valores respecto a la media, por lo tanto es útil para buscar probabilidades de que un evento ocurra.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i (X_i - \bar{X})^2}{n}}$$

5.2. Estadística Inferencial

5.2.1. Análisis de varianza (ANOVA)

Es un procedimiento estadístico que permite comprobar si las muestras provienen o no de poblaciones con la misma media, cuando se dan ciertas condiciones establecidas.

5.2.2. Test de Tukey

El test HSD (Honestly – significant – difference) de Tukey es un test de comparaciones múltiples, permite comparar las medias de un factor después de haber rechazado la Hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA. Es por lo tanto, un test que trata de especificar, una Hipótesis alternativa genérica como la de cualquiera de los test ANOVA.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Para la ejecución del presente trabajo en primer lugar se procedió a la recolección de una muestra de las raíces de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA), esta se realizó en la localidad de Espinar (Cusco), obteniéndose aproximadamente 400 gramos de material fresco. Se seleccionó la droga correspondiente y se procedió a estabilización en estufa a 100 °C por tres minutos.

Posteriormente se procedió a su desecación, procedimiento que también se realizó en estufa a una temperatura de 60 °C.

1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS DE *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA)

En la figura 3.1 obtuvimos los extractos con etanol, cloroformo y éter de petróleo utilizando el equipo Soxhlet, se continuó a evaporar los solventes, hasta obtener como resultado final los extractos blandos de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA). En el cuadro 3.1 detallamos las propiedades organolépticas de cada uno de los extractos obtenidos.

Figura 3.1 - Extractos blando de *Muehlenbeckia volcánica* Benth Endlicher (MULLACA)



Cuadro 3.1 - Descripción organoléptica de los extractos:

Descripción	Etanol	Cloroformo	Éter de petróleo
Olor	Sugeneris	Sugeneris	Sugeneris
Color	Café	Amarillo verdoso	Amarillo verdoso
Aspecto	Pastoso	Pastoso	Pastoso

2. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO: EXTRACTOS BLANDOS

Para determinar el porcentaje de rendimiento de los diferentes extractos, se pesó 10.0 g de raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth Endlicher (MULLACA), estabilizado, desecado y molido, haciendo uso del método continuo de Soxhlet para extraer los complejos activos, con solventes de diferentes polaridades. (Etanol –polar; cloroformo – medianamente polar y éter de petróleo – apolar).

Se evaporó a baño maría el solvente hasta obtener un peso constante para determinar el porcentaje de rendimiento de cada extracto.

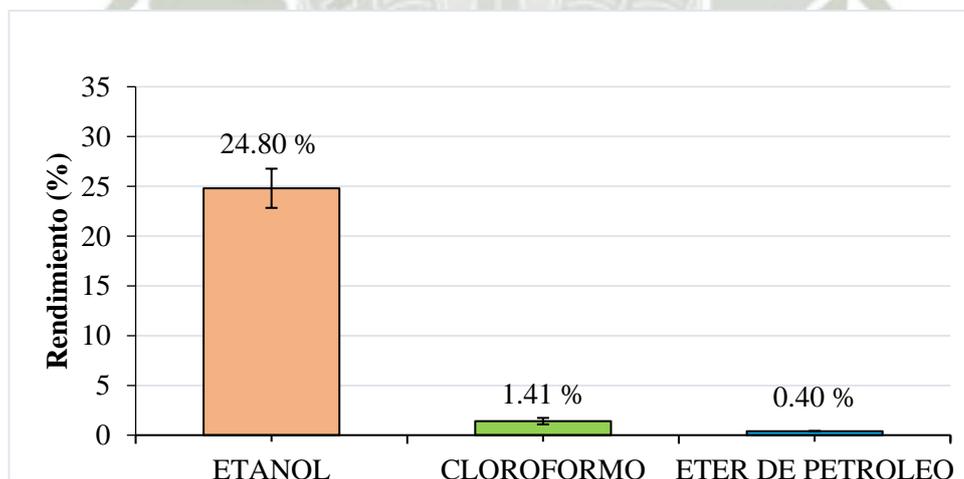
En el cuadro 3.2 se observa: etanol 24.80% representó el mayor porcentaje de rendimiento (figura 3.2), extracto clorofórmico 1.41% y por último con éter de petróleo un 0.40% de rendimiento.

Cuadro N° 3.2 - Promedio y porcentaje de rendimiento de los diferentes extractos blandos de *Muehlenbeckia volcánica Benth* Endlicher (MULLACA)

SOLVENTE	Peso rizoma seco (g)	Peso extracto blando (g)		% RE 1	%RE 2	PROMEDIO (*) %RE
		1	2			
ETANOL	10.00	2.677	2.283	26.77	22.83	24.80
CLOROFORMO	10.00	0.173	0.108	1.73	1.08	1.41
ETER DE PETROLEO	10.00	0.038	0.041	0.38	0.41	0.40

(*) %RE.- porcentaje de rendimiento

Figura 3.2 – Porcentaje de rendimiento de extractos blandos de MULLACA con diferentes solventes



El extracto blando obtenido con etanol (solvente polar), tuvo un mayor porcentaje de rendimiento, por su capacidad de solubilizar mayor cantidad de compuestos.

3. PRUEBA PILOTO

Se realizó una prueba piloto con la finalidad de evaluar el extracto que presente mejor efecto antiinflamatorio, empleando extractos con solventes de diferente polaridad; etanol – polar, cloroformo – medianamente polar y éter de petróleo – apolar.

Se emplearon 8 ratas distribuidas en cuatro grupos a su vez subdivididos en subgrupos de 2 ratas, de manera aleatoria, cada grupo correspondientes a los diferentes extractos, etanólico, clorofórmico, éter de petróleo y control.

3.1. Determinación del porcentaje de inflamación

En el cuadro 3.3 observamos que los grupos tratados con extracto etanólico y clorofórmico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth Endlicher (MULLACA) presentan mayor efecto antiinflamatorio a comparación del grupo control y extracto de éter de petróleo.

En la figura 3.4 observamos la evolución del porcentaje de inflamación en relación al tiempo transcurrido, los grupos a los que se les administró extracto etanólico y extracto clorofórmico presentaron una reducción considerable del porcentaje de inflamación, una hora después de administrar vía oral los tratamientos farmacológicos (se administraron a la tercera hora) observándose una mayor reducción en el grupo que se le administró extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth Endlicher (MULLACA).

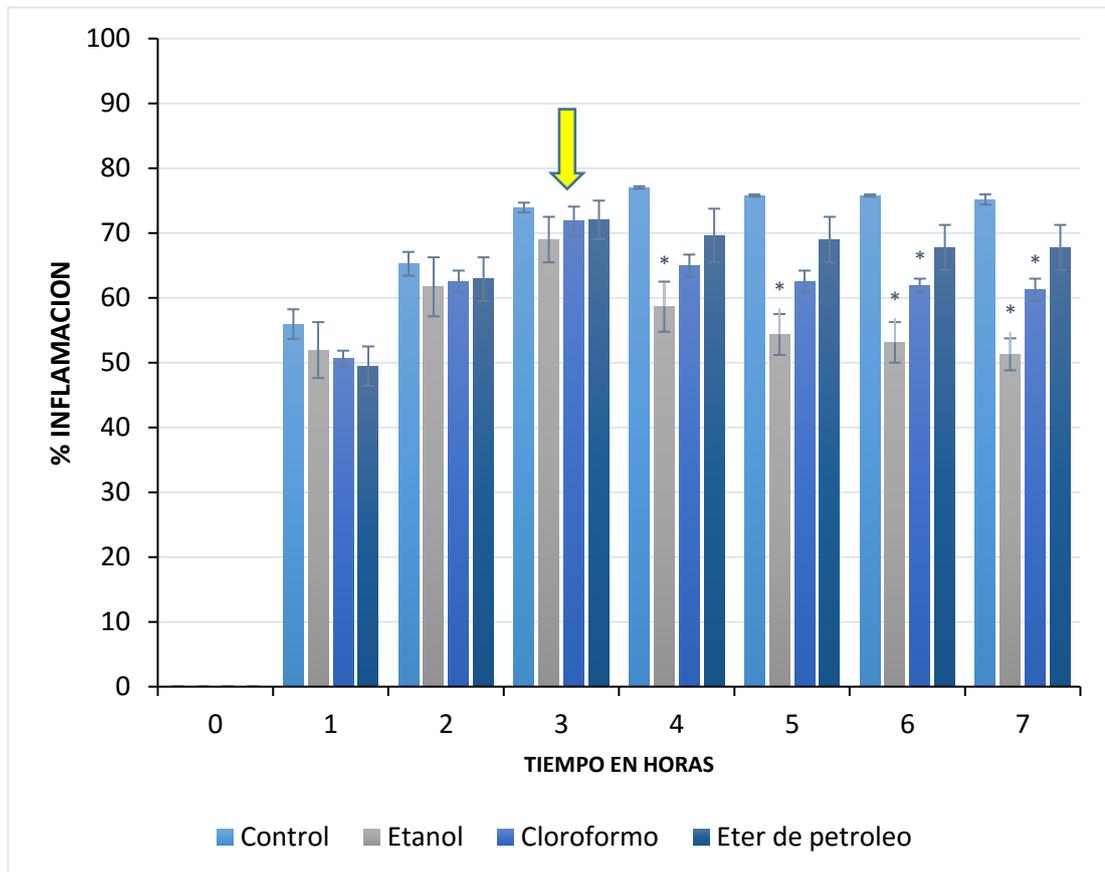
Con los datos obtenidos en la prueba piloto, se realizó el análisis estadístico ANOVA y Test de Tukey para corroborar que esta prueba sea estadísticamente significativa.

**Cuadro N° 3.3 - Porcentaje de inflamación producidos en la prueba piloto –
Grupo control y Extractos blandos de *Muehlenbeckia volcánica* Benth
Endlicher (MULLACA)**

Extracto blandos	N°de Rata	0-hr %	1-hr %	2- hr %	3 -hr % (*)	4-hr %	5-hr %	6-hr %	7-hr %
Control	1	0.00	58.23	67.09	74.68	77.22	75.95	75.95	75.95
	2	0.00	53.66	63.41	73.17	76.83	75.61	75.61	74.39
Etanol	3	0.00	47.62	57.14	65.48	54.76	51.19	50.00	48.81
	4	0.00	56.25	66.25	72.50	62.50	57.50	56.25	53.75
Cloroformo	5	0.00	49.37	60.76	69.62	63.29	60.76	60.76	59.49
	6	0.00	51.85	64.20	74.07	66.67	64.20	62.96	62.96
Éter de Petróleo	7	0.00	52.50	66.25	75.00	73.75	72.50	71.25	71.25
	8	0.00	46.43	59.52	69.05	65.48	65.48	64.29	64.29

(*) Nos indica la hora en que se les administró la suspensión del extracto blando de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endl. (mullaca) a los animales de experimentación.

Figura 3.4 - Evolución del porcentaje de inflamación vs tiempo (hrs) del grupo control y grupos etanol, cloroformo y éter de petróleo de extractos blandos de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth Endlicher (MULLACA)



↓ Tercera hora que se administraron los tratamientos.

3.2. Análisis estadístico inferencial de Anova y Tukey

En el cuadro 3.4 se observa que al aplicar el análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de inflamación a la cuarta hora de haber administrado la solución de carragenina al 1%, que es el tiempo aproximado donde se produce la máxima inflamación de acuerdo al grupo control, observamos que el coeficiente F es igual a 6.87 y también que el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo cual nos indica una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los cuatro grupos de tratamiento en relación al porcentaje de inflamación, a un nivel de confianza del 95.0%.

El Test de Tukey nos permite determinar si las medias son significativamente diferentes unas de otras (cuadro 3.5). Este test permite realizar una

comparación múltiple entre los diferentes grupos de tratamiento. Se identificaron dos grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

De acuerdo a estas pruebas estadísticas, nos indica que el tratamiento con extracto etanólico de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benthian Endlicher (MULLACA) es el grupo que más se aleja del grupo control, indicando que posee el mejor efecto antiinflamatorio.

Cuadro N° 3.4 - Análisis de varianza (ANOVA) al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación a 1 hora de administrar el extracto de Mullaca

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
Entre Grupos	360.421	3	120.14	6.87	0.0467
Dentro de los Grupos	69.9385	4	17.4846	-	
Total	430.36	7			

Cuadro N° 3.5 - Test de Tukey al 95.0% de confianza - el porcentaje de inflamación a 1 hora de administrar el extracto de mullaca

Extractos	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
Etanol	2	58.63	X
Cloroformo	2	64.98	X
Eter de Petroleo	2	69.615	X
Control	2	77.025	X

En la figura 3.5 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, una hora después de administrar los tratamientos farmacológicos por vía oral o cuatro horas después de administrar carragenina 1%. Muestra también un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente, corresponde

a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

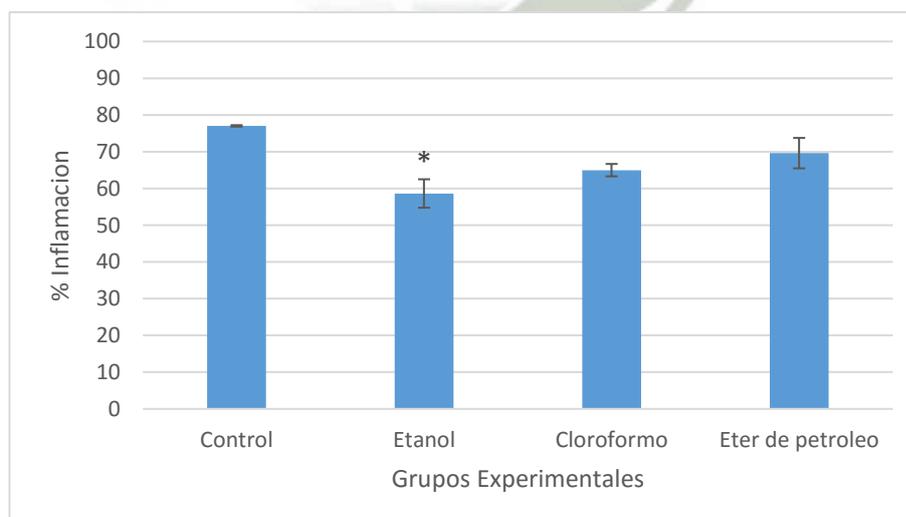
El grupo que más se aleja del grupo control, es el grupo tratado con el extracto blando de etanol de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benthán Endlicher (MULLACA), indicando que posee el mejor efecto antiinflamatorio, en comparación del grupo extracto de éter de petróleo y el extracto clorofórmico.

Según Sinche J (1956), al evaluar el contenido farmacognóstico y su efecto farmacológico aplicando la técnica de extracción etanólica se encontró flavonoides a los cuales se les atribuiría el efecto antiinflamatorio, cuya extracción es más eficiente con solventes polares. ^(25,37)

Los datos obtenidos por Sinche J. en su investigación coinciden con los resultados de nuestra investigación, dado que el extracto etanólico (polar) presentó mejor efecto antiinflamatorio en la prueba preliminar (piloto).

Una vez obtenidos los resultados de la prueba piloto se procedió a ejecutar la prueba experimental con el extracto etanólico de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benthán Endlicher (MULLACA) ya que este presentó mejor efecto antiinflamatorio, haciendo uso de dosis diferentes (mínima, intermedia y máxima).

Figura 3.5 - Porcentaje de inflamación 1 hora después de administrar el extracto de MULLACA



4. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

La cromatografía en capa fina del extracto etanólico de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA); se realizó con el objetivo de identificar algunos de los principales grupos de metabolitos secundarios, se hizo uso de reactivos para fases estacionarias, fases móviles y reveladores determinados. En el cuadro 3.6, se pudo identificar la presencia de flavonoides con un R_f de 0.55, bandas amarillas a la luz UV-366 nm lo que indicaría su presencia, los terpenos con bandas de color rojo y amarillo con revelado anisaldehído sulfúrico que indicarían su presencia, en cuanto a taninos con bandas de color verde.

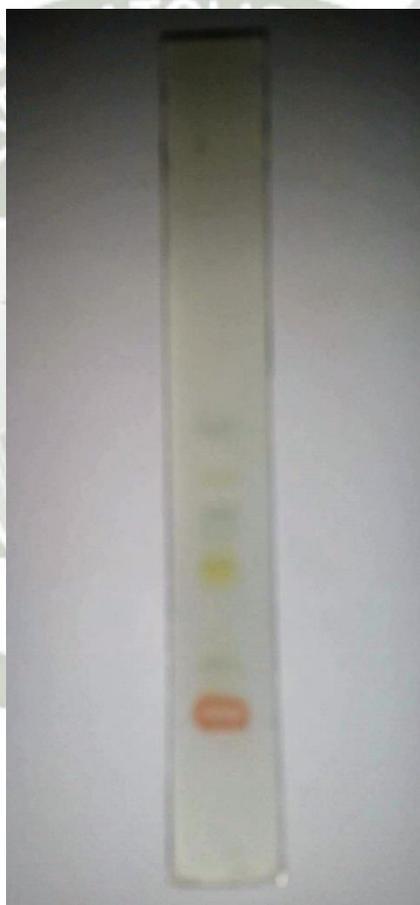
Cuadro N° 3.6 Cromatografía en capa fina – extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA)

	Fase móvil	Revelador	Resultado
General	n-hexano:acetona (8:2)	Vainillina al 1% H ₂ SO ₄ 10% en etanol.	Positivo
Flavonoides	n-hexano:acetona (8:2)	Reactivo de cloruro de aluminio.	Positivo
Taninos	Acetato de etilo:metanol (80:20)	Reactivo cloruro férico.	Positivo
Terpenos	Tolueno:Acetato de etilo (80:20)	R. Liebermann Burchard	Positivo

4.1. Corrida General

Dicho análisis se realizó con la finalidad de determinar la presencia de grupos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA). La placa cromatográfica realizada (fig. 3.6) se observaron bandas de colores lo cual nos indicarían la presencia de dichos grupos.

Figura 3.6 - Análisis cromatográfico - corrida general del extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA)



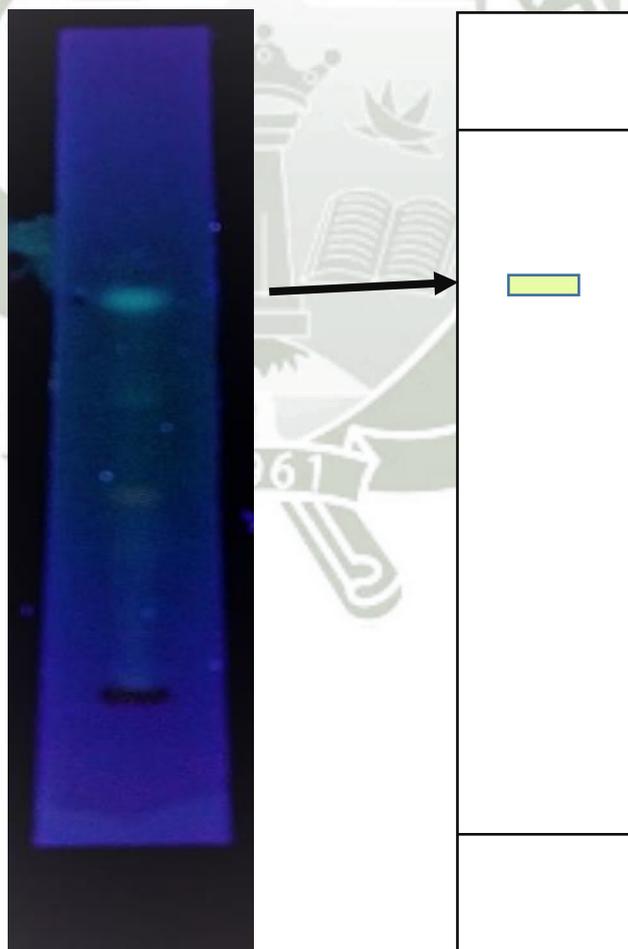
4.2. Determinación de flavonoides

En la figura 3.7 se puede observar fluorescencia amarilla en la luz UV a 366 nm, lo cual evidencia la presencia de flavonoides en extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (MULLACA).

Los flavonoides presentes en la raíz y partes aéreas de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (MULLACA) son rutina, epicatequina, emodina. (24,42)

Figura 3.7 - Análisis cromatográfico – extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher – FLAVONOIDES.

UV – 366 nm



4.3. Determinación de taninos

En la figura 3.8 se puede observar a la luz visible bandas de color azul negrusco, lo cual nos indica la presencia de taninos en el extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA).

Los taninos son solubles en solventes orgánicos polares como alcohol, acetato de etilo y agua. ⁽²⁴⁾

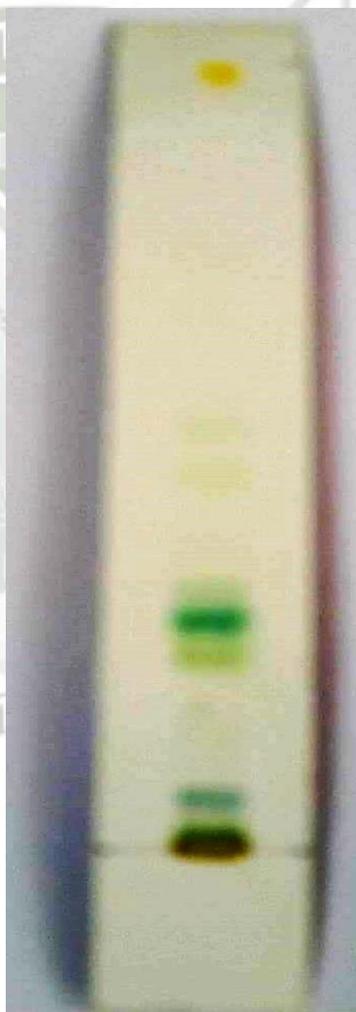
Figura 3.8 - análisis cromatográfico – extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) – TANINOS



4.4. Determinación de terpenos

En la figura 3.9 se puede observar a la luz visible bandas de color verde lo cual nos indica la presencia de terpenos en el extracto etanólico de raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) ⁽²⁴⁾

Figura 3.9 - Análisis cromatográfico – extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) – TERPENOS



5. ETAPA EXPERIMENTAL - EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

Después de evaluar los resultados obtenidos en la prueba piloto, se determinó que el extracto blando de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA), realizado con etanol tenía mejor efecto antiinflamatorio.

Posteriormente se realizó la prueba definitiva utilizando el extracto etanólico en diferentes concentraciones (3.5 mg/kg; 10.6 mg/kg y 17.7 mg/kg), comparándolos con un grupo control y un grupo de ácido acetilsalicílico 7.2 mg/kg. de peso.

5.1. Determinación del porcentaje de inflamación

Se puede observar en el cuadro 3.7 los porcentajes de inflamación de los cinco grupos experimentales, calculados a partir de las unidades en mililitros, obtenidos mediante el equipo Pletismómetro Digital. El porcentaje de inflamación fue calculado con la fórmula del Anexo 04.

Dicho porcentaje de inflamación fue calculado una hora después de administrar la solución de carragenina al 1 %, hasta siete horas después. Los tratamientos con suspensiones de extracto blando de mullaca con etanol, grupo control y grupo ácido acetilsalicílico fueron administrados a la tercera hora después de administrar solución de carragenina al 1%.

En la figura 3.10 una hora después de recibir el tratamiento observamos un mayor efecto antiinflamatorio en el grupo de ácido acetilsalicílico y el grupo con extracto etanólico de mullaca de 17.7 mg/kg. Dado que a la tercera hora se administraron los tratamientos farmacológicos y luego de su absorción en el tracto gastrointestinal, los principales metabolitos antiinflamatorios ejercen su efecto.

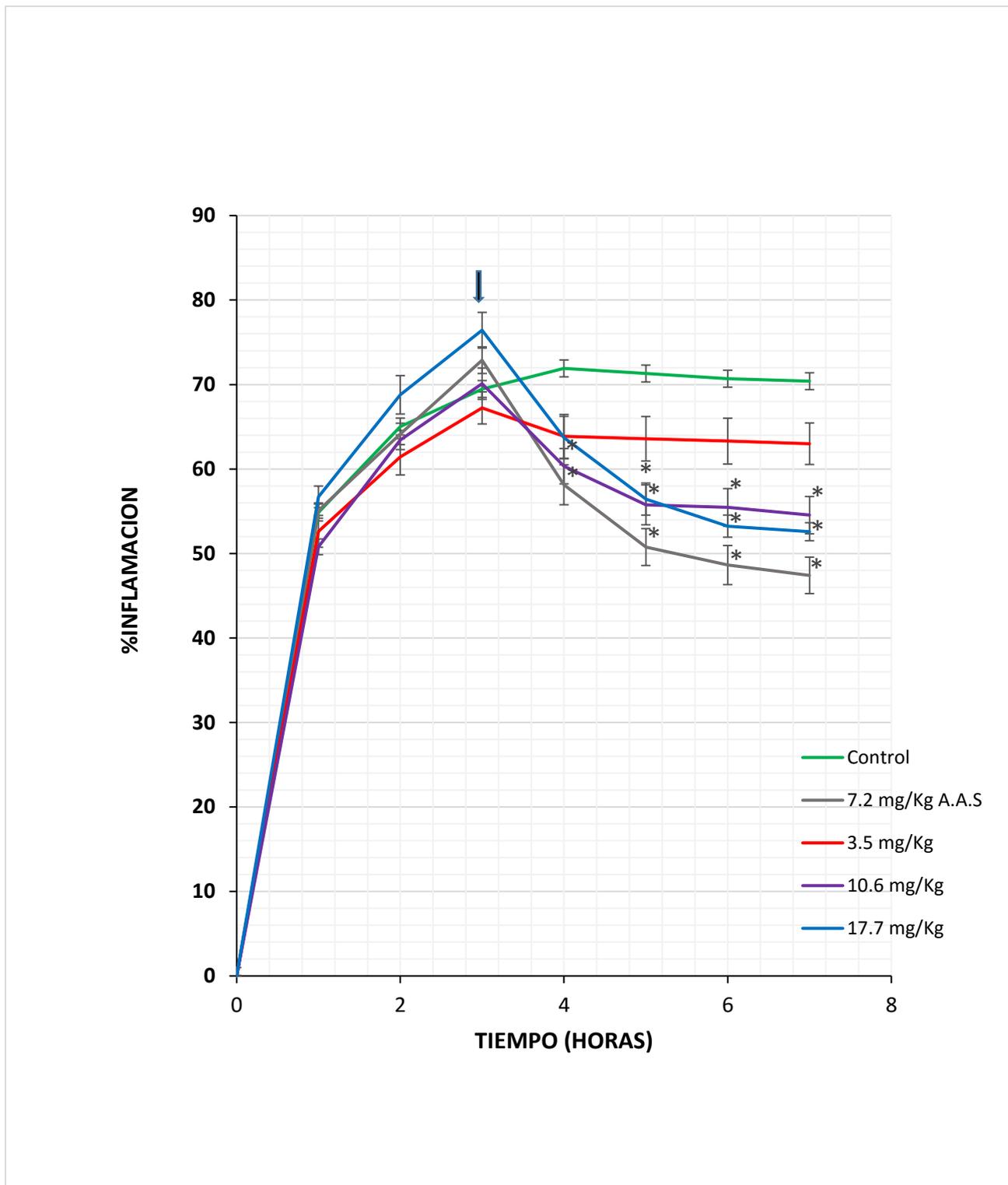
Con estos resultados obtenidos se realizaron pruebas estadísticas de ANOVA y Test de Tukey, para confirmar que dichos datos sean estadísticamente significativos.

Cuadro n° 3.7 - porcentaje de inflamación - grupos control, ácido acetilsalicílico y extractos blandos de etanol de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) en la etapa experimental

Grupos	N° Rata	0-hr %	1-hr %	2-hr %	3-hr % (*)	4-hr %	5-hr %	6-hr %	7-hr %
Control	1	0	50.00	62.50	67.50	68.75	68.75	67.50	67.50
	2	0	54.22	65.06	73.49	75.90	75.90	74.70	74.70
	3	0	56.43	65.06	61.90	65.48	64.29	64.29	63.10
	4	0	58.75	67.50	75.00	77.50	76.25	76.25	76.25
7.15 mg/kg Grupo ácido acetil salicílico	5	0	54.88	67.07	76.83	60.98	53.66	48.78	46.34
	6	0	54.76	65.48	73.81	57.14	48.81	46.43	45.24
	7	0	57.50	62.03	71.25	62.50	55.00	55.00	53.75
	8	0	53.16	62.03	69.62	51.90	45.57	44.30	44.30
3.54 mg/kg Extracto etanólico de mullaca (1g)	9	0	50.62	60.49	71.60	70.37	70.37	70.37	69.14
	10	0	48.31	57.30	62.92	62.92	61.80	60.67	60.67
	11	0	55.56	60.49	68.89	57.78	57.78	57.78	57.78
	12	0	55.98	67.47	65.52	64.37	64.37	64.37	64.37
10.63mg/kg Extracto etanólico de mullaca (3g)	13	0	51.85	62.96	74.07	64.20	59.26	58.02	56.79
	14	0	50.63	63.29	72.15	63.29	59.49	59.49	58.23
	15	0	52.44	60.98	68.29	58.54	54.88	54.88	54.88
	16	0	48.24	66.47	65.88	55.29	49.41	49.41	48.24
17.71mg/kg Extracto etanólico de mullaca (5g)	17	0	60.00	74.67	82.67	66.67	58.67	54.67	53.33
	18	0	56.41	69.23	73.33	69.23	60.26	55.13	53.85
	19	0	53.75	63.75	75.00	58.75	55.00	53.75	53.75
	20	0	56.63	67.47	74.70	60.24	51.81	49.40	49.40

(*) Nos indica la hora en que se les administró la suspensión del extracto blando de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. (mullaca) a los animales de experimentación.

FIGURA 3.10 – Porcentaje de inflamación grupos control, ácido acetilsalicílico y extractos blandos de etanol de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benthanderlicher (MULLACA)



↓ Hora en que se administra los tratamientos: control, ácido acetil salicílico y extractos etanólicos a concentraciones 3.54mg/kg, 10.63mg/kg y 17.71mg/kg

5.2. Análisis estadístico inferencial de Anova y Tukey

5.2.1 Análisis estadístico una hora después de administrar el agente flogógeno (carragenina 1%)

Al emplear el análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de inflamación provocado una hora después de administrar la solución de carragenina al 1% en el cuadro 3.8, observamos que el cociente F es igual a 2.59 y el P-valor de la prueba F es mayor a 0.05, lo que nos indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los cinco grupos de tratamiento, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para comprobar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey cuadro 3.9, en el cual realizamos una comparación múltiple entre los tratamientos, en donde se identificó que los cinco grupos experimentales son homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas, ya que todos los tratamientos comparten una misma columna de X's. El análisis de varianza de ANOVA se confirma con el Test de Tukey.

Por lo tanto, no se observa ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los cinco grupos de tratamiento, una hora después de administrar la carragenina al 1%, dado que todos los grupos se sometieron a iguales condiciones de experimentación.

Cuadro N° 3.8 Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación una hora después del agente flogógeno

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
Entre Grupos	85.4794	4	21.3699	2.59	0.0793
Dentro de los Grupos	123.876	15	8.25839		
Total	209.355	19			

Cuadro N° 3.9 Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento una hora después del agente flogógeno

Nivel	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
Control	4	54.85	X
E.etanólico 3.54 mg/kg	4	52.6175	X
E.etanólico 10.63 mg/kg	4	50.79	X
E.etanólico 17.71 mg/kg	4	56.6975	X
A.A.S. 7.15 mg/kg	4	55.075	X

5.2.2 Análisis estadístico dos horas después del agente flogógeno

Al aplicar el análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de inflamación producido una hora después de administrar la solución de carragenina al 1% en el cuadro 3.10, observamos que el cociente F es igual a 2.67 y el P-valor de la prueba F es mayor a 0.05, lo que nos indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los cinco grupos de tratamiento, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey cuadro 3.11, en el cual realizamos una comparación múltiple entre los tratamientos, en donde se identificó que todos los grupos son homogéneos según la alineación de las X's en

columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas, ya que todos los tratamientos comparten una misma columna de X's, ya que el análisis de varianza de ANOVA se corrobora con el Test de Tukey.

Por lo tanto, no se observa ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los cinco grupos de tratamiento, dos horas después de administrar la carragenina al 1%, dado que todos los grupos se sometieron a iguales condiciones de experimentación y aún no se administró tratamiento farmacológico.

Cuadro N° 3.10 Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación dos horas después del agente flogógeno

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
Entre Grupos	116.934	4	29.2335	2.67	0.0733
Dentro de los Grupos	164.489	15	10.9659		
Total	281.423	19			

Cuadro N° 3.11 Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento dos horas después del agente flogógeno

Nivel	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
Control	4	65.03	X
E.etanólico 3.54 mg/kg	4	61.4375	X
E.etanólico 10.63 mg/kg	4	63.425	X
E.etanólico 17.71 mg/kg	4	68.78	X
A.A.S. 7.15 mg/kg	4	64.1525	X

5.2.3 Análisis estadístico tres horas después del agente flogógeno

Al aplicar el análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de inflamación producido tres horas después de administrar la solución de carragenina cuadro 3.12, observamos que el cociente F es igual a 2.72 y el P-valor de la prueba F es mayor a 0.05, lo que nos indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los cinco grupos de tratamiento, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey cuadro 3.13, en el cual realizamos una comparación múltiple entre los tratamientos, en donde se identificó que todos los grupos son homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas, dado que todos los tratamientos comparten una misma columna de X's ya que el análisis de varianza de ANOVA se corrobora con el Test de Tukey.

Por lo tanto, no se observa ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los cinco grupos de tratamiento, una tres después de administrar la carragenina al 1%, dado que todos los grupos se sometieron a iguales condiciones de experimentación.

Después de la medición de la tercera hora inmediatamente administramos las diferentes suspensiones del extracto blando etanólico, control y ácido acetil salicílico respectivamente a cada grupo.

Cuadro N° 3.12 Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación tres horas después del agente flogógeno

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F-Ratio	P-Valor
Entre grupos	200.213	4	50.0532	2.72	0.0692
Dentro de los grupos	275.665	15	18.3777		
Total	475.878	19			

Cuadro N° 3.13 Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento tres horas después del agente flogógeno

Nivel	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
Control	4	69.4725	X
E.etanólico 3.54 mg/kg	4	67.7325	X
E.etanólico 10.63 mg/kg	4	70.0975	X
E.etanólico 17.71 mg/kg	4	76.425	X
A.A.S.7.15 mg/kg	4	72.8775	X

5.2.4 Análisis estadístico cuatro horas después del agente flogógeno

Al aplicar el análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de inflamación producido cuatro horas después de administrar la solución de carragenina al 1% cuadro 3.14, observamos que el cociente F es igual a 4.40. También observamos que el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo que indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los cinco grupos de tratamiento, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey cuadro 3.15, en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificaron 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. Existiendo diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg y etanol 10.63mg/kg.

Cuadro N° 3.14 Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación cuatro horas después del agente flogógeno

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
Entre Grupos	438.842	4	109.71	4.40	0.0150
Dentro de los Grupos	374.219	15	24.948		
Total	813.061	19			

Cuadro N° 3.15 Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento cuatro horas después del agente flogógeno

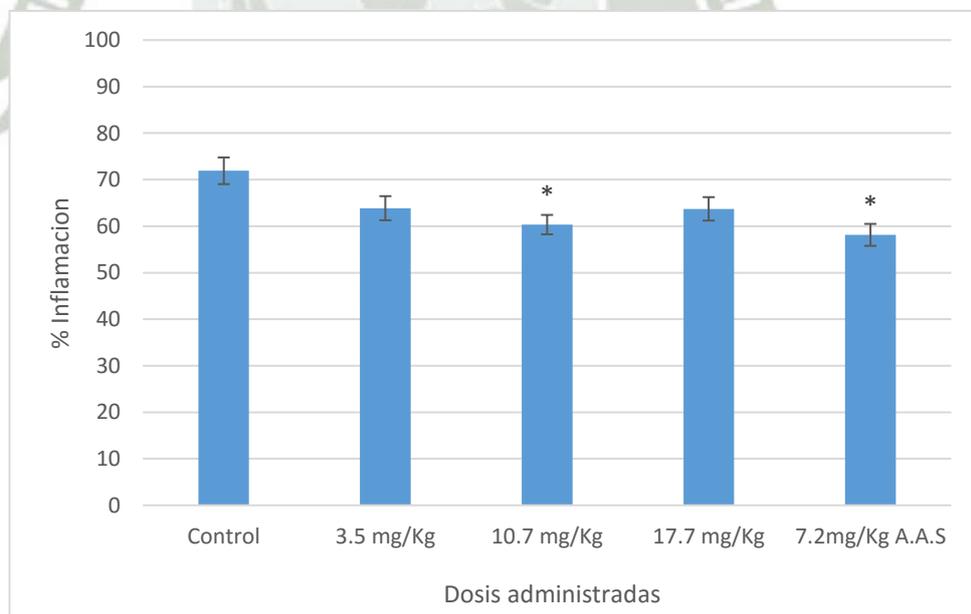
Nivel	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
Control	4	71.9075	X
E.etanólico 3.54 mg/kg	4	63.86	X
E.etanólico 10.63 mg/kg	4	60.33	X
E.etanólico 17.71 mg/kg	4	63.7225	X
7.2 mg/Kg A.A. S	4	58.13	X

La figura 3.11 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, cuatro horas después de administrada la solución de carragenina. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapan verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que los grupos ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS) y extracto etanólico 10.63 mg/kg, se traslapan verticalmente, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa. También los grupos control, extracto etanólico 3.54 mg/kg, extracto etanólico 17.71 mg/kg se traslapan entre sí, indicando pares de medias con igualdad estadísticamente.

Pasada una hora de administración de los tratamientos farmacológicos, se afirma que el extracto blando etanólico 10.63 mg/kg tiene similar actividad antiinflamatoria que el ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS).

Figura 3.11 - Medias de los tratamientos por intervalos hsd de tukey al 95.0% de confianza para porcentaje de inflamación cuatro horas después del agente flogógeno



5.2.5 Análisis estadístico cinco horas después del agente flogógeno

Al aplicar el análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de inflamación producido cinco horas después de administrar la solución

de carragenina al 1% cuadro 3.16, observamos que el cociente F es igual a 10.88 y el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo que nos indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los cinco grupos tratamiento al 95.0% de confianza.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.17), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificaron 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. No existiendo diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y el grupo extracto etanólico 3.54 mg/kg, se observa que tampoco existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de extracto etanólico de 10.63 mg/kg, extracto etanólico de 17.71 mg/kg y ácido acetyl salicílico 7.15 mg/kg.

Cuadro N° 3.16 Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación cinco horas después del agente flogógeno

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
Entre Grupos	1022.3	4	255.575	10.88	0.0002
Dentro de los Grupos	352.303	15	23.4869		
Total	1374.6	19			

Cuadro N° 3.17 Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento cinco horas después del agente flogógeno

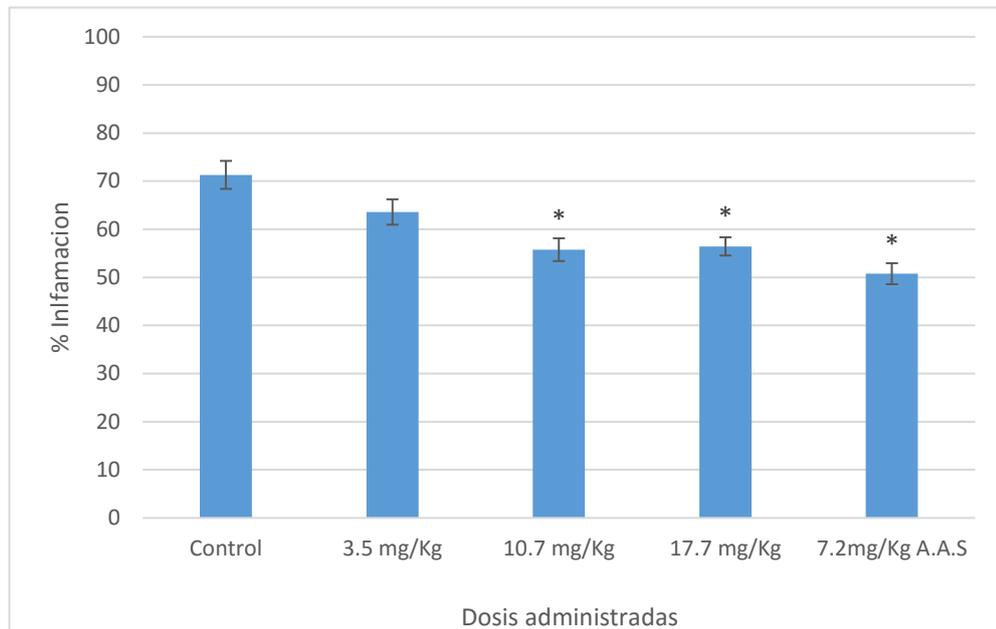
Nivel	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
Control	4	71.2975	X
E.etanólico 3.54 mg/kg	4	63.58	X
E.etanólico 10.63 mg/kg	4	55.76	X
E.etanólico 17.71mg/kg	4	56.435	X
A.A.S. 7.15 mg/kg	4	50.76	X

La figura 3.12 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, cinco horas después de administrada la solución de carragenina corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que el grupo control y el grupo extracto etanólico 3.5 mg/kg se traslapan verticalmente; también se traslapan entre los grupos de extracto etanólico de 10.6 mg/kg, extracto etanólico de 17.7 mg/kg y ácido acetil salicílico 7.2 mg/kg indicando pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

Logramos observar que cada vez que se incrementa la dosis de los tratamientos de extracto blando etanolico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth and Endlicher (MULLACA) este tiene un mayor efecto antiinflamatorio; pero la dosis de extracto etanólico 3.5 mg/kg no tiene ningún efecto antiinflamatorio, ya que estadísticamente es igual al grupo control.

Figura 3.12 - Medias de los tratamientos - tukey al 95.0% de confianza cinco horas después de administrar el agente flogógeno



5.2.6 Análisis estadístico seis horas después del agente flogógeno

Al aplicar el análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de inflamación producido seis horas después de administrar la solución de carragenina al 1% (Cuadro 3.18), observamos que el cociente F es igual a 13.84 y que el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo que nos indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los cinco grupos de tratamiento, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey (Cuadro 3.19), en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificaron 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existiendo diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y el grupo de extracto blando etanólico de 3.54 mg/kg, se observa que tampoco existe diferencia entre el grupo ácido

acetilsalicílico 7.15 mg/kg, grupo etanólico de 10.63 mg/kg y el grupo etanólico de 17.71 mg/kg.

Cuadro N° 3.18 Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación seis horas después del agente flogógeno

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
Entre Grupos	1222.65	4	305.664	13.84	0.0001
Dentro de los Grupos	331.191	15	22.0794		
Total	1553.85	19			

Cuadro N° 3.19 Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento seis horas después del agente flogógeno

Nivel	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
Control	4	70.685	X
E.etanólico 3.54 mg/kg	4	63.2975	X
E.etanólico 10.63 mg/kg	4	55.45	X
E.etanólico 17.71 mg/kg	4	53.2375	X
A.A.S 7.15 mg/kg	4	48.6275	X

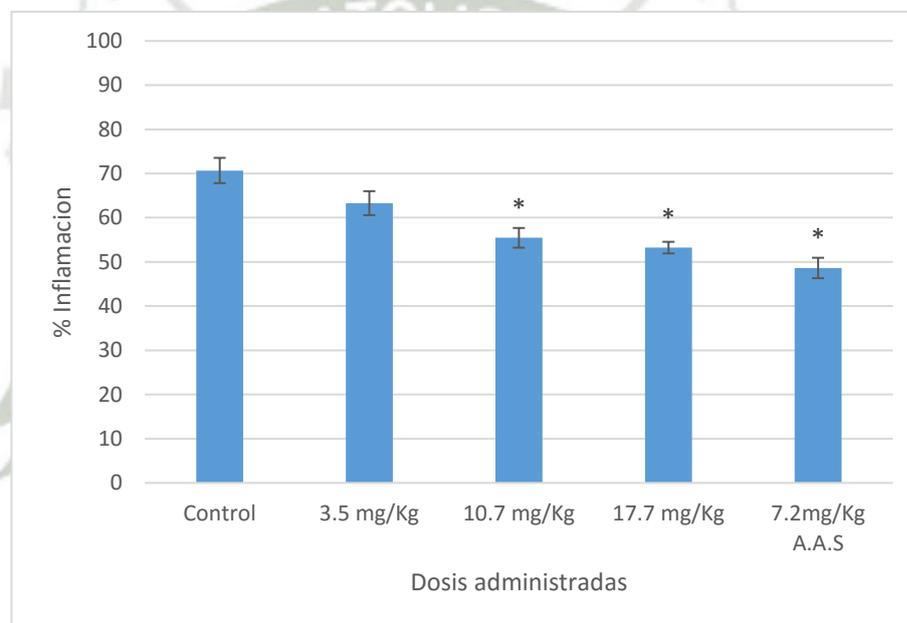
La figura 3.13 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, seis horas después de administrada la solución de carragenina. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que el grupo control y el grupo de extracto blando etanólico de 3.54 mg/kg sus medias indican igualdades estadísticamente significativas, también se observa que el grupo ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg (AAS), grupo etanólico de 10.6

mg/kg y el grupo etanólico de 17.71 mg/kg, indican pares de medias con igualdad estadísticamente significativa.

Logramos observar que cada vez que se incrementa la dosis de los tratamientos de extracto blando etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) este tiene un mayor efecto antiinflamatorio; pero la dosis de extracto etanólico de 3.54 mg/kg no tiene ningún efecto antiinflamatorio, ya que es estadísticamente igual al grupo control.

Figura 3.13 - Medias de los tratamientos por intervalos hsd de tukey al 95.0% de confianza para porcentaje de inflamación seis horas después del agente flogógeno



5.2.7 Análisis estadístico siete horas después del tratamiento

Cuando empleamos el análisis de varianza – ANOVA del porcentaje de inflamación producido siete horas después de administrar la solución de carragenina al 1% cuadro 3.20, observamos que el cociente F es igual a 15.79. También observamos que el P-valor de la prueba F es inferior a 0.05, lo que indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias del porcentaje de inflamación de los cinco grupos tratamiento, a un nivel de confianza del 95.0%.

Para determinar las medias que son estadísticamente diferentes unas de otras, utilizamos el Test de Tukey Cuadro 3.21, en el cual se realiza una comparación múltiple entre los tratamientos, se identificaron 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas, indicando que no existe diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. No existiendo diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y el grupo extracto etanólico 3.54 mg/kg, se observa que tampoco existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de extracto etanólico de 10.63 mg/kg, extracto etanólico de 17.71 mg/kg y ácido acetil salicílico 7.15 mg/kg.

Cuadro N° 3.20 Análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de inflamación siete horas después del agente flogógeno

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
Entre Grupos	1324.11	4	331.027	15.79	0.0000
Dentro de los Grupos	314.528	15	20.9685		
Total	1638.64	19			

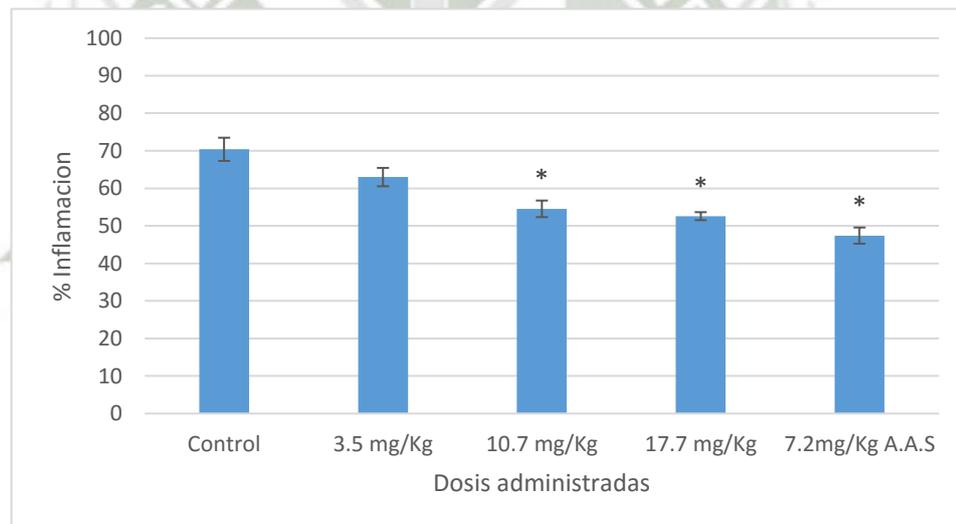
Cuadro N° 3. 21 Test de Tukey al 95.0% de confianza para el porcentaje de inflamación por tipo de tratamiento siete horas después del agente flogógeno

Nivel	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos
Control	4	70.3875	X
E.etanólico 3.54 mg/kg	4	62.99	X
E.etanólico 10.63 mg/kg	4	54.535	X
E.etanólico 17.71 mg/kg	4	52.5825	X
A.A.S.7.15 mg/kg	4	47.4075	X

La figura 3.14 muestra la media del porcentaje de inflamación para cada tratamiento, siete horas después de administrada la solución de carragenina al 1%. También muestra un intervalo alrededor de la media. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa al 95.0% de confianza.

Observamos que los grupos de extracto etanólico de 10.63 mg/kg, extracto etanólico de 17.71 mg/kg y ácido acetil salicílico 7.15 mg/kg ácido acetilsalicílico presentan una diferencia significativa con respecto al grupo control, pero en relación al ácido acetil salicílico 7.15 mg/kg se observa similar efecto antiinflamatorio.

Figura 3.14 - medias de los tratamientos por intervalos HSD de tukey al 95.0% de confianza para porcentaje de inflamación siete horas después del agente flogógeno



En la etapa experimental el resultado final nos indica que los cinco tratamientos (control, extracto blando de etanol al 3.54 mg/kg, extracto blando de etanol al 10.63 mg/kg y el extracto blando de etanol al 17.71 mg/kg, ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg, muestran durante las tres primeras horas igualdad estadística significativa al 95.0% de confianza, después de administrarse la solución de carragenina al 1%, ya que hasta este momento los grupos de tratamiento han sido sometidos a iguales condiciones ambientales y experimentales.

A partir de la cuarta hora o una hora después se pudo observar diferencias entre los cinco grupos, tenemos en cuenta que en la tercera hora se administraron los diferentes tratamientos farmacológicos, transcurrido el tiempo necesario para que se dé la absorción y distribución de los principios activos y metabolitos, así mismo se evidencia igualdad estadísticamente significativa al 95% de confianza entre los grupos de extracto blando de etanol al 10.63 mg/kg, extracto etanólico al 17.71 mg/kg y ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg.

En la investigación de Katherine Arauco “Efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) sobre el granuloma inducido por carragenina en ratas” afirma que los flavonoides y triterpenos contribuyen en el efecto antiinflamatorio debido a una inhibición de la prostaglandina sintetasa reduciendo el nivel de prostaglandinas en el proceso inflamatorio⁽³⁷⁾, asimismo según fuentes bibliográficas en edema sub-plantar la inflamación se produciría entre 3 horas hasta las 6 horas de inducida la inflamación las prostaglandinas serían los principales mediadores de la inflamación⁽²⁶⁾, siendo la ciclooxigenasa una enzima responsable de la biosíntesis de prostaglandinas⁴⁸, por este motivo las suspensiones del extracto blando de etanol de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) se administra vía oral, después de tres horas de producida la inflamación. Se pueden observar los resultados a partir de la cuarta hora de transcurrida la inflamación ya que según las pruebas estadísticas el extracto blando de etanol de 17.71 mg/kg de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) producen similar efecto antiinflamatorio que el ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg.

CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron extractos de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA), con disolventes de diferente polaridad etanol como solvente polar, cloroformo medianamente polar y éter de petróleo apolar por el método de extracción continua con equipo de Soxhlet, obteniéndose tres extractos cuyos rendimientos fueron etanol 24.80%, cloroformo 1.41% y éter de petróleo 0.40%.
2. Se determinó que el extracto etanólico de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) tuvo mayor efecto antiinflamatorio mediante una prueba piloto.
3. Se identificó mediante cromatografía en capa fina del extracto blando etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) los principales metabolitos secundarios entre ellos: Flavonoides, Taninos y Terpenos.
4. Se evaluó el efecto antiinflamatorio de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) teniendo en cuenta las dosis con efecto antiinflamatorio tradicionalmente utilizadas, haciendo uso de una suspensión oral (forma farmacéutica), se concluye que el extracto etanólico de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endl. (mullaca) 17.71 mg/kg presenta mayor efecto antiinflamatorio con respecto al grupo del extracto etanólico 3.54 mg/kg, extracto etanólico 10.63 mg/kg, grupo control.
5. Se comparó el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) con el ácido acetilsalicílico evidenciándose que no existe diferencia entre el grupo extracto etanólico de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA) 17.71 mg/kg y el grupo ácido acetilsalicílico 7.15 mg/kg.

RECOMENDACIONES

1. Continuar con trabajos de identificación, aislamiento y cuantificación de los principales metabolitos secundarios en los extractos de la raíz *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (MULLACA)
2. Realizar con trabajos de investigación clínicos que complementen los estudios realizados.
3. Implementar nuevas formas de formas farmacéuticas para uso oral y uso externo.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pamo-Reyna, O. “Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas”. Revista peruana de medicina experimental y salud pública. v.26 n.3 Lima jul./set. 2009. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342009000300008.
2. Huamantupa, Isau, Magaly Cuba, Rosa Urrunaga, Elías Paz, Nelson Ananya, Myrthia Callalli, Nadir Pallqui y Hozmary Coasaca. “Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco”. En Revista Peruana de Biología. 18(3): 283 – 291 (diciembre 2011). <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v18n3/a04v18n3.pdf>
3. Agapito F, Sung I. Fito medicina: 1100 Plantas Medicinales. Perú: Editorial Isabel; 2005.
4. Pavlow M. El Gran Libro de las Plantas Medicinales. España: Editorial Everest S.A; 1980.
5. De-la-Cruz, Horacio, Graciela Vilcapoma y Percy A. Zevallos. “Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Perú”. Revista de Etnofarmacología 111. 284–294. 2007 Flora del Perú. Actualización de datos.
6. Dr. Miguel Álvarez Velásquez C.M.P. 19844 Coordinador del programa de medicina tradicional y terapias Alternativas del Hospital San José - Diresa Callao. 2009 [Online]. [Cited: 2009 Noviembre 07. Available <https://es.slideshare.net/robertopazgil/fitoterapia-enf-resp-cardiov-fmp-cmp-fotos>.
7. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural Barcelona: Ediciones Omega; 2000.
8. Vila Jato JI, editor. Tecnología Farmacéutica. In. Madrid: Editorial Síntesis S.A.; 2001. p. 25-54.

9. Núñez Carlos Eduardo. Extracciones con equipo Soxhlet. . [Online]. [Cited 2007 Agosto. Available from: www.cenunez.com.ar.]
10. J. Pasto Dr. Johnson C. Determinación de estructuras orgánicas. In. Barcelona: Editorial Reverte; 2003. p. 26-38.
11. Lamarque A, Zygadlo J, Labuckas D, López L, Torres M, Maestri D. Fundamentos Teóricos-Prácticos de Química Orgánica. In. Córdoba: Encuentro; 2008. p. 41-53.
12. Casado Canchez Em, Duran Barquero P, Miro Arias T, Paredes de la Sal Aj. Operaciones básicas de laboratorio. In. Madrid: Paraninfo; 2012. p. 165-185.
13. Heftmann, E. Chromatography: Fundamentals and Applications of chromatography and related differential migration methods, Elsevier Science Publishers B.V, 5a. edición, EUA, 1992, pp. 2-14 Rojo Callejas F., Manual de Química Analítica Instrumental II, Anexo III, Facultad de Química UNAM, México 2002.
14. Hernández Herrero G, Moreno Gonzáles A, Zaragoza García F, Porras Chavarino A. Tratado de medicina farmacéutica. In. Madrid: Médica panamericana; 2011. p. 103 - 121.
15. Abbas, A.B.; Lichtman A.H. (2009). «Ch.2 Innate Immunity». Basic Immunology. Functions and disorders of the immune system (3rd edición). Saunders (Elsevier).
16. Goldsby Richard, *Inmunología*, 5.ª edición, Editorial Mc Graw Hill, Capítulo I pág. 7.
17. Broide D. Immunologic and inflammatory mechanisms that drive asthma progression to remodeling. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2008; 121: 560-70.
18. Tucker Collins, *Inmunología*, “Inflamación Aguda y Crónica”, Capítulo III pág. 53- 68.

19. Robbins y Cotran, Patología Estructural y Funcional, “Inflamación y Reparación”, Capítulo III pág. 73 – 96.
20. Valsecia Malgor, Analgésicos Antipiréticos y Antinflamatorios No Esteroides (AINEs), Capítulo VII pág. 112 – 132.
21. Clemente Muriel, Dr. Juan Santos, Dr. Francisco Sanchez – Moreno, Máster del Dolor, “Farmacología de los Analgésicos No Opiáceos (AINEs), Capítulo 6, pág. 3 – 40.
22. Shigematsu, S. et al. (2003). Resveratrol, a red wine constituent polyphenol, prevents superoxide-dependent inflammatory responses induced by ischemia/reperfusion, platelet-activating factor, or oxidants. *Free Radic Biol Med.*, 34(7); 10-7.
23. Somova, L., Shode, F., Ramnanan, P. & Nadar, A. (2003). Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves. *J Ethnopharmacol*, 84(2-3): 299-305.
24. Erazo, S., Muñoz, O., García, R., Lemus, I., Backhouse, N., Negrete, R., San Feliciano, A. & Delporte, C. (2002), Constituents and biological activities from *Muehlenbeckia hastulata*. *Z Naturforsch C*. Sep-Oct; 57(9-10):801-4.
25. Sinche, Justo. Estudio Farmacognóstico y Farmacológico de *Muehlenbeckia volcánica* (Benth) “mullaca”. [Tesis de pregrado]. Univ. Nac. Mayor San Marcos. Lima- Perú. (1956
26. Capítulo Prueba de Edema Plantar en rata inducido por Carragenina. http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbc/baez_cg/capitulo11.pdf 2012-06-20.
27. Young JM y De Young LM Cutaneous Models of Inflammation for the Evaluation of Topical and Systemic Pharmacological Agent en *Pharmacological Methods in the Control of Inflammation* (Spector S y Back N, Eds.) 1989, New York, p. 215-231.

28. Fernando Muñoz, Plantas Medicinales y Aromáticas (estudio, cultivo y proceso), Barcelona – Instituto Nacional de Investigación Agraria -2002- págs. 311,314-316.
29. Lucas Hernández Hernández, Claudio González Pérez, Introducción al análisis instrumental, 1ª Edición, Editorial Ariel S.A, Barcelona, 2002, pág. 456.
30. Douglas A. Skoog, F. James Holler, Principios de Análisis Instrumental, Quinta Edición, Editorial Mc. Graw Hill, España 2001, pág. 753.
31. Braithwaite, A. Métodos cromatográficos, 4ª ed., ED. Chapman & Hall, Londres, 1985. Páginas 216- 217, 271-272.
32. Burriel Martí, Felipe Lucena Conde, Siro Arribas Jimeno, Jesús Hernández Méndez, Química Analítica Cualitativa, Ed. Thompson, España, 2003 pp 321-322.
Garrido, A., Fundamentos de química biológica. Interamericana Mc Graw-Hill. España. 1991.
33. Kenneth A. Rubinson, Judith F. Rubinson, Análisis Instrumental, Ed. Prentice Hall, España 2004, pp 730-739.
34. Panlab S.L. LE 7500 Pletismómetro Digital. Manual de instrucciones. 2000.
35. Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. Journal Article. Journal of Pharmacobiodynamics; 1981.
36. Winter Ca. Risley Ea, Nuss Gw. Carrageenin – induced edema in hind paw or the rat's assay for anti – inflammatory drugs. Proc Soc Exp. Biol. Med. 1962; III: 544 – 547.
37. Arauco Pinao K, Efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de Muehlenbeckia volcánica (Bentham) endlincher (mullaca) sobre el granuloma inducido por carragenina en ratas. Facultades de Medicina y Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. 2016

38. Servicio nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado – SERNANP.
“Competividad del sector Ecoturismo en Madre de Dios – 2004. Available from:
www.sernanp.gob.pe
39. Brako L. J. L. Zaruccm. Monographs in Sistematic Botany from the Missouri Botanical Garden. Vol. 45. Missouri Botanical Garden; 1993.
40. Lock de Ugaz O. Colorantes Naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1997.
41. Lock de ugaz o. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio en los Productos Naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2004.
42. Bladt, Sabine. Plant Drug Análisis . A Thin Layer Cromatography Atlas. 1996.
43. Brack Egg Antonio. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Cusco: Centro de Estudios Regionales Andinos "Bartolomé de las Casas"; 1999.
44. Gennaro Ar. Remington Farmacia. In. Bueno Aires: Editorial Médica Panamericana; 2003. p. 872-874.
45. Ministerio de salud - Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas. Formulario Nacional de Medicamentos Esenciales. In. Lima: Sinco; 2011. p. 58-60.
46. Duran Hortolá M. Farmacología para fisioterapeutas. In. Buenoa Aires: Médica panamericana; 2008. p. 129-131.
47. Fernández Urquiza F, Torres Fuentes M. Inflamación y plantas medicinales. 2006.
48. Sociedad cubana de farmacología. Taller nacional sobre inflamación. In; 2001; La Habana. p. 18-20.
49. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica de las plantas medicinales. Segunda ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 2001.
50. Roersch, C. Plantas Medicinales;Editorial Kietz Scientific. 1ra Edición Holanda 1994.

51. Ministerio de salud-Instituto Nacional de Salud. Plantas medicinales. [Online]. [cited 2014 Mayo 14. Available from: <http://www.ins.gob.pe/portal/jerarquia/7/107/plantas-medicinales/jer.107>.
52. Pizzorno J, Murray M, Joiner-Bey H. Manual de medicina natural: toma de decisiones en la clínica. In. Barcelona: Elsevier España; 2009. p. 37.
53. Bravo Días Luis. Farmacognosia. Ediciones Elsevier. Madrid. 2003.
54. Núñez Carlos Eduardo. Extracciones con equipo Soxhlet. . [Online]. [Cited 2007 Agosto. Available from: www.cenunez.com.ar.]
55. Heinrich M, Bames J, Gibbons S, Willian E. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy. Ediciones Elsevier. Madrid. 2004.
56. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapeuticos. In. Santafé de Bogota: Area de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello; 2000. p. 157-178.
57. Altamirano Sarmiento Dan Orlando (coordinador (inv. principal)) — 000146200 Efecto del extracto acuoso de Muehlenbeckia volcánica “MULLACA” sobre el aprendizaje y memoria espacial en ratas con daño cognitivo inducido por la escopolamina [Online]. [cited: 2017 noviembre 15. Available <https://static.upao.edu.pe/upload/riu/2017/000000044-6183306-20170214170226.pdf>.
58. Pauro, J. J., F. Gonzáles, B. Gamarra, Jr. pauro, F. Mamani y R. Huerta. “Plantas alimenticias, medicinales y biocidas de las comunidades de Muñani y Suatia, Provincia de Lampa (Puno-Perú)”. Ecología Aplicada, vol. 10, núm. 1 pp. 41-49, 2011, Universidad Nacional Agraria La Molina.
59. Jurado, B., A. Gorriti, A. Córdova, C. Fuertes, J. Arroyo, R. Soria, & M. Inocente, “La “Mullaca” Muehlenbeckia volcanica (Benth) Endl. Y su potencial utilidad antiinflamatoria y/o cicatrizante”. Libro de resúmenes, 21.

60. Junín, P., M. Flores, J. Alegría, & A. Granda, (2005). “Diversidad florística asociada a las lagunas andinas Pomacocha y Habascocha, Junín, Perú”. *Revista Peruana de Biología*, 12(1), 125-134.
61. Hernandez Chavez Abel, *Farmacología General. Una guía de Estudio.* derechos reservados © 2014, respecto a la primera edición en español por, mcgraw-hill interamericana editores, s.a. de c.v.
62. Young, Kenneth R. y Blanca León. “Vegetación de la Zona Alta del Parque Nacional Río Abiseo, San Martín”. *Revista Forestal del Perú*. 15(1):1-15 – Facultad de Ciencias Forestales-cedinfov. http://cedinfov.lamolina.edu.pe/Articulos_RFP/Vol15_no1_88_%2821%29/vol15_no1_art1.pdf
63. Mathez-Stiefe, Sarah-Lan e Ina Vandebroek. “Distribution and Transmission of Medicinal Plant Knowledge in the Andean Highlands: A Case Study from Peru and Bolivia”. En: *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2012, Article ID 959285, 18 pages. September 2011.
64. Burriel MartI, Felipe Lucena Conde, Siro Arribas Jimeno, Jesús Hernández Méndez, *Química Analítica Cualitativa*, Ed. Thompson, España, 2003 pp 321-322.
Garrido, A., *Fundamentos de química biológica*. Interamericana Mc Graw-Hill. España. 1991.
65. Kenneth A. Rubinson, Judith F. Rubinson, *Análisis Instrumental*, Ed. Prentice Hall, España 2004, pp 730-739..
66. Sugishita E, Amagaya S, Ogihara Y. Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. *Journal Article. Journal of Pharmacobiodynamics*; 1981.
67. Winter Ca. RisleY Ea, Nuss Gw. Carrageenin – induced edema in hind paw or the rat’s assay for anti – inflammatory drugs. *Proc Soc Exp. Bid. Med.* 1962; III: 544 – 547.

68. Katherine A. Arauco, “Efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica* (Bentham) endlincher (mullaca) sobre el granuloma inducido por carragenina en ratas” UNMSM.
69. Servicio nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado – SERNANP. “Competividad del sector Ecoturismo en Madre de Dios – 2004. Available from: www.sernanp.gob.pe



ANEXOS

ANEXO N° 1: CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN TAXÓNOMICA



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



CONSTANCIA 04- 2017-HUSA

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

HACE CONSTAR:

Que las muestras frescas de hojas y tallos de la planta traída al laboratorio para el análisis botánico corresponde a la especie *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. Conocido comúnmente como "mullaca" de la familia Polygonaceae. Dicha muestra fue obtenida de laderas de cerros de la provincia de Espinar, departamento del Cuzco para el estudio de la Tesis: "Efecto antiinflamatorio de la Raíz de *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. "Mullaca" en animales de experimentación, ejecutado por ANCALLA HUANCA GRACIELA y FLORES BEGAZO CARMEN ELENA de la Escuela Profesional y Académica Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Santa María.

Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE: Caryophyllidae
ORDEN: Polygonales
FAMILIA: Polygonaceae
GENERO: Muehlenbeckia
ESPECIE: *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl.

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

Arequipa 29 de Marzo del 2017



[Firma]
Blgo. Leoncio Marjño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)

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

3. ETAPA PRELIMINAR – PRUEBA PILOTO

Figura A.1 - Suspensiones de los extractos de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* (MULLACA) para la etapa preliminar (control negativo – extracto etanólico - extracto cloroformico – extracto éter de petróleo)



- **Agente Viscosante:** Carboximetilcelulosa mejora la estabilidad física de las suspensiones y emulsiones, permitiendo mantener suspendidas las partículas.
- **Tensioactivo:** Tween 20 permite disminuir la tensión superficial. Como emulsificantes y solubilizantes: 1 % – 15 %.
Como humectantes: 0,1 – 3 %.

4. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Figura A.2 - Elucion del extracto etanólico de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* (MULLACA) en la placa de sílica gel



Figura A.3 - Cámara de luz UV



5. FORMULACIÓN DE LA SUSPENSIÓN

FIGURA A.4 - suspensiones del extracto etanólico de la raíz de *Muehlenbeckia volcánica* (MULLACA) para la etapa experimental (3.5 mg/kg - 10.6 mg/kg – 17.7 mg/kg)



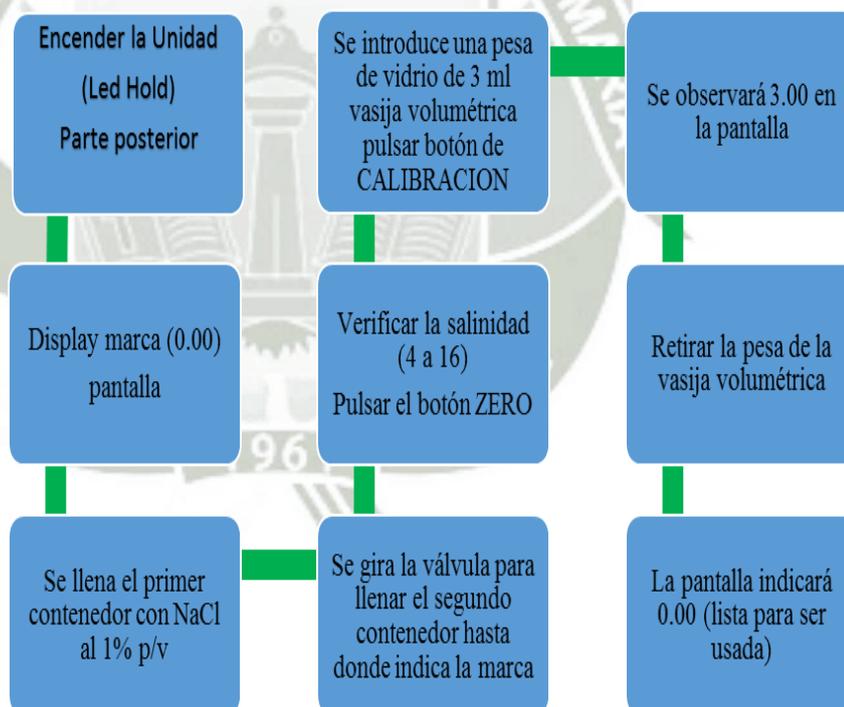
6. ETAPA EXPERIMENTAL-EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

6.1. MEDICIÓN DEL GRADO DE INFLAMACIÓN EN RATAS

Figura A.5 - Equipo pletismómetro digital LE 7500



Figura A.5 – Esquema funcionamiento del Pletismómetro Digital



7. INDUCCIÓN DE INFLAMACIÓN EN RATAS

Figura A.6 - inflamación producida cuatro horas después de administrado el agente flogogeno (grupo control)



Figura A.7 - Inflamación producida cuatro horas después de administrado el agente flogógeno (grupo ácido acetilsalicílico)



Figura A.8 - Inflamación producida cuatro horas después de administrado el agente flogógeno (grupo extracto etanólico 17.7 mg/kg)



**ANEXO N° 2: RESULTADOS EN MILILITROS DADOS POR EL EQUIPO
PLETISMÓMETRO DIGITAL DURANTE LA PRUEBA PILOTO.**

	N°de Rata	T0 Hrs mL	T1 Hrs mL	T2 Hrs mL	T3 Hrs mL	T4 Hrs mL	T5 Hrs mL	T6 Hrs mL	T7 Hrs mL
Control	1	0.79	1.25	1.32	1.38	1.40	1.39	1.39	1.39
	2	0.82	1.26	1.34	1.42	1.45	1.44	1.44	1.43
Etanol	3	0.84	1.24	1.32	1.39	1.30	1.27	1.26	1.25
	4	0.80	1.25	1.33	1.38	1.30	1.26	1.25	1.23
Cloroformo	5	0.79	1.18	1.27	1.34	1.29	1.27	1.27	1.26
	6	0.81	1.23	1.33	1.41	1.35	1.33	1.32	1.32
Éter de Petróleo	7	0.80	1.22	1.33	1.40	1.39	1.38	1.37	1.37
	8	0.84	1.23	1.34	1.42	1.39	1.39	1.38	1.38

**ANEXO N° 3: RESULTADOS EN MILILITROS DADOS POR EL EQUIPO
PLETISMÓMETRO DIGITAL DURANTE LA ETAPA EXPERIMENTAL**

Gráfico A.16 - Volúmenes medidos en el equipo pletismometro digita durante la etapa experimental

	N° de Rata	T0 Hrs ml	T1 Hrs ml	T2 Hrs ml	T3 Hrs ml	T4 Hrs ml	T5 Hrs ml	T6 Hrs ml	T7 Hrs ml
Control	1	0.80	1.20	1.30	1.34	1.35	1.35	1.34	1.34
	2	0.83	1.28	1.37	1.44	1.46	1.46	1.45	1.45
	3	0.84	1.23	1.30	1.36	1.39	1.38	1.38	1.37
	4	0.80	1.27	1.34	1.40	1.42	1.41	1.41	1.41
Aspirina	5	0.82	1.27	1.37	1.45	1.32	1.26	1.22	1.20
	6	0.84	1.30	1.39	1.46	1.32	1.25	1.23	1.22
	7	0.80	1.26	1.37	1.45	1.30	1.24	1.24	1.23
	8	0.79	1.21	1.28	1.34	1.20	1.15	1.14	1.14
Etanol 1 gr	9	0.81	1.22	1.30	1.39	1.38	1.38	1.38	1.37
	10	0.89	1.32	1.40	1.45	1.45	1.44	1.43	1.43
	11	0.90	1.31	1.38	1.43	1.42	1.42	1.42	1.42
	12	0.87	1.27	1.37	1.44	1.43	1.43	1.43	1.43
Etanol 3 gr	13	0.81	1.23	1.32	1.41	1.33	1.29	1.28	1.27
	14	0.79	1.19	1.29	1.36	1.29	1.26	1.26	1.25
	15	0.82	1.25	1.32	1.38	1.30	1.28	1.27	1.27
	16	0.85	1.26	1.33	1.41	1.32	1.27	1.27	1.26
Etanol 5 gr	17	0.75	1.20	1.31	1.37	1.25	1.19	1.16	1.15
	18	0.78	1.22	1.32	1.43	1.32	1.25	1.21	1.20
	19	0.80	1.23	1.31	1.40	1.27	1.24	1.23	1.23
	20	0.83	1.30	1.39	1.45	1.33	1.26	1.24	1.24

ANEXO N° 4: FÓRMULA PARA HALLAR EL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN.

$$\% \text{ de Inflamación} = \frac{(V_{tx} - V_{to})}{V_{to}} \times 100$$

Vtx: Volumen de la pata inflamada a un tiempo x

Vto: Volumen normal de la pata

ANEXO N° 5: FORMULA PARA PREPARAR LAS SUSPENSIONES DE ETANOL, CLOROFORMO Y ÉTER DE PETROLEO

0.00603 g extracto blando (cloroformo) _____ 100 ml

(X) g _____ 30 ml

$$X = 0.001809 \text{ g}$$

$$X = 1.8 \text{ mg}$$

Carboximetilcelulosa sódica (0.5% - 1%)

0.5 g _____ 100 ml

X _____ 30 ml

$$X = 0.15 \text{ ml}$$

Tween 20 (1% - 15%) 1.6 ml _____ 100 ml

X _____ 30 ml

$$X = 0.5 \text{ g}$$