

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



**“EFECTO ANTIINFLAMATORIO TÓPICO DEL EXTRACTO DE LAS
HOJAS DE *CESTRUM HEDIONDINUM* (HIERBA SANTA) EN MODELOS
EXPERIMENTALES. AREQUIPA-2017”**

Tesis presentada por los Bachilleres:

Boza Cervantes, Gladys Vanessa

Pinto Flores, Edgar Brayan

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

Asesor:

Q.F. Torres Vela, Fernando

AREQUIPA – PERÚ

2019

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

Expediente N°. 20170000031251

N° Trámite en Fac. 1709-2017
Fecha 13-07-2017

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL

DE: *BOZA CERVANTES, Gladys Vanessa*
PINTO FLORES, Edgar Brayán

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

"EFECTO ANTIINFLAMATORIO TOPICO DE CREMA Y EXTRACTO DE LAS HOJAS DE Cestrum hediondum "Hierba Santa" EN MODELOS EXPERIMENTALES. AREQUIPA 2017"

DICTAMINADORES: 1) *Mgter. Angélica Corzo Salas* 2) *Mgter. María Elena Guillen Núñez*

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por las recurrentes, se ha procedido a la revisión del mismo, sugiriendo se cambie el título a: *"EFECTO ANTIINFLAMATORIO TOPICO DE EXTRACTO DE LAS HOJAS DE Cestrum hediondum (HIERBA SANTA) en modelos experimentales. Arequipa 2017"*, y después de realizadas las correcciones y sugerencias correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad Atentamente

Firmas : *[Signatures]* (Devolver antes de 8 días hábiles) Fecha *13/09/2017*

ASESOR: *Q. F. Fernando Torres Vela*

DICTAMEN DE ASESOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como Asesor en el presente Trabajo de Investigación, cumpro con informar que este se ha desarrollado de acuerdo a los objetivos trazados y se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad. Atentamente

Firma *[Signature]* Fecha *14-09-2018*

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) *Mgter. Angélica Corzo Salas*
- 2) *Mgter. María Elena Guillen Núñez*
- 3) *Dra. Yenny López Valencia*

DICTAMEN DE BORRADOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por los recurrentes, y luego de haber verificado el cumplimiento de los objetivos, la redacción del informe, de los resultados, discusión y conclusiones correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad. Atentamente

Firma *[Signatures]* (Devolver antes de 15 días hábiles) Fecha *24/10/2018*

JURADOS: Presidente *DRA. YENNY LOPEZ VALENCIA*
Vocal *MAG. ANGELICA CORZO SALAS*
Secretario *MAG. MARIA ELENA GUILLEN NUÑEZ*

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha: *27/11/18* Hora: *19:00* Local: C- 402 (SUM)

DECANO

[Signature]

DEDICATORIAS

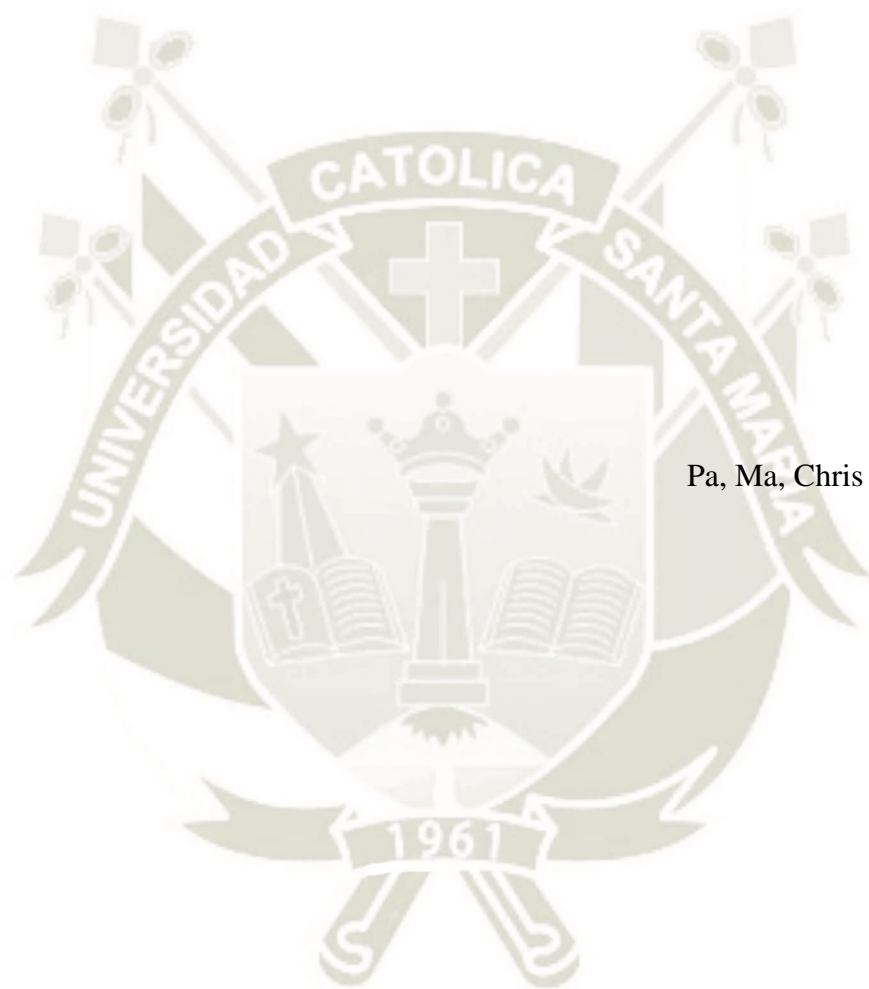
A Dios y a la virgen de Copacabana, por ser mi consuelo y mi empuje en todo momento, y permitirme tener la fuerza para lograr mi más grande sueño

A mi madre Jesús por estar conmigo, por confiar en mí y darme la oportunidad de ser alguien en la vida, por el esfuerzo que hizo para que culminara mi carrera.

A mi compañero, mi mejor amigo, mi fuerza Jonathan, gracias por estar ahí cuando más lo requería, por tu gran amor, por tu paciencia.

A mis hermanos Cesar, Isabel, Ricardo, Verónica que siempre me impulsaron a ser mejor, por darme la mano siempre, muchas gracias.

Vanessa Boza Cervantes



Pa, Ma, Chris y Nano, los amo.

Tesoro, te amo.

E.B.P.F.

AGRADECIMIENTOS

QF. Fernando Torres, una gran persona, gracias por el apoyo y cada consejo que nos brindó para poder culminar este trabajo.

Mgter. Maria Elena Guillen por sus palabras, consejos, enseñanzas y ánimos a lo largo de toda nuestra vida universitaria.

Al departamento de Farmacia y Bioquímica por las sugerencias en este proyecto, muchas gracias por ayudarnos al desarrollo y ganar mucha experiencia en este ámbito.

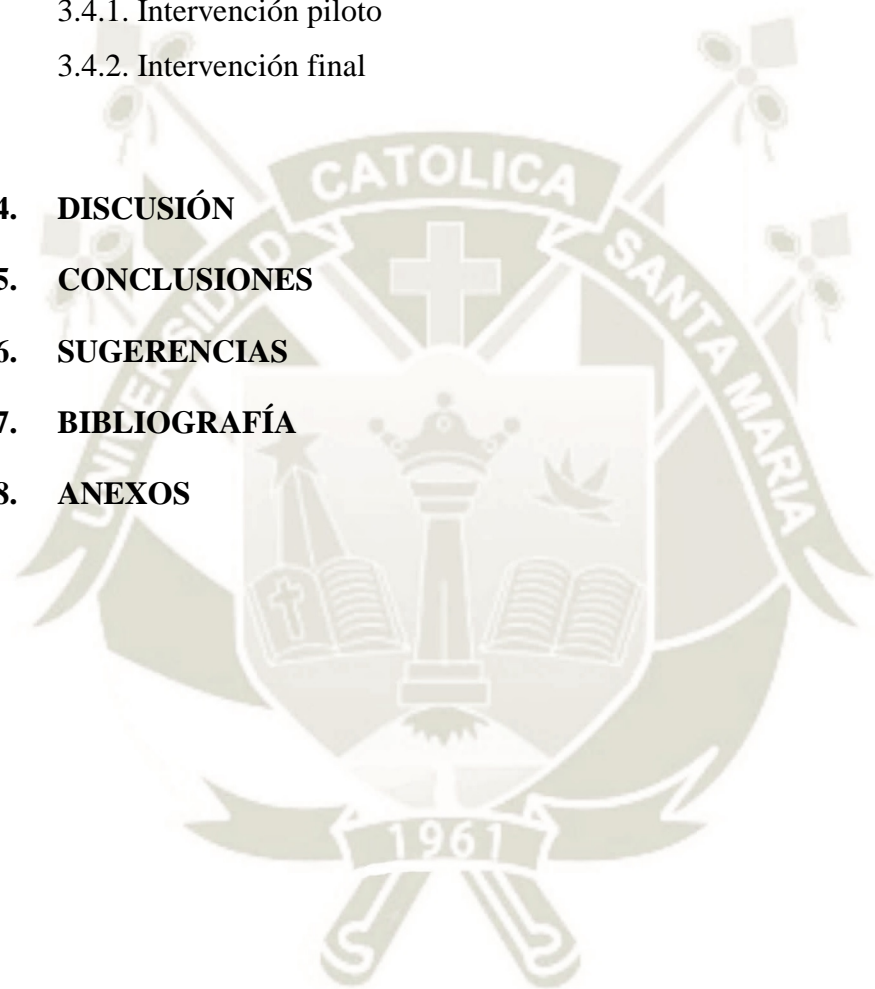
ÍNDICE DEL CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIAS	I
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	VIII
ABSTRACT	X
INTRODUCCIÓN	XII
OBJETIVOS	XIII
HIPÓTESIS	XIV
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO	
1.1. HIERBA SANTA	2
1.1.1. Nombres científicos	
1.1.2. Nombres comunes	
1.1.3. Taxonomía	
1.1.4. Descripción botánica	
1.1.5. Hábitat	3
1.1.6. Composición química	
1.1.7. Usos medicinales	
1.1.8. Otros usos populares	
1.2. INFLAMACIÓN	4
1.2.1. Generalidades	
1.2.2. Concepto	5
1.2.3. Causas de la inflamación	
1.2.4. La respuesta inflamatoria	6
1.2.5. Resolución de la inflamación	9
1.2.6. Reparación de tejidos	
1.3. FARMACOS ANTIINFLAMATORIOS	10
1.3.1. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE)	

1.4.	Diclofenaco	
1.4.1.	Mecanismo de acción	
1.4.2.	Propiedades farmacodinamias	11
1.4.3.	Propiedades farmacocinéticas	
1.4.3.1	Absorción	
1.4.3.2	Distribución	
1.4.3.3	Biotransformación	12
1.4.3.4	Eliminación	
1.4.4.	Indicaciones	
1.4.5.	Contraindicaciones	
1.4.6.	Reacciones adversas	13
1.4.6.1	Infecciones e infestaciones	
1.4.6.2	Trastornos del sistema inmunológico	
1.4.6.3	Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos	
1.4.6.4	Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	
1.5.	GELES	
1.5.1.	Clasificaciones de los geles	14
1.5.1.1	Dependiendo de su comportamiento frente al agua	
1.5.2.	Mecanismo de formación de un Gel	
1.5.3.	Estabilidad de Geles	
CAPÍTULO II		15
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	
2.1.	PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO	16
2.1.1.	Tipo de Investigación	
2.2.	DISEÑO PRE Y POST TEST	
2.2.1.	Intervención piloto	
2.2.2.	Intervención final	17
2.3.	ÁREA DE INVESTIGACIÓN	18
2.4.	ESQUEMA EXPERIMENTAL	
2.5.	MATERIALES	19
2.5.1.	Material biológico	

2.5.1.1	Unidad botánica	
2.5.2.	Materiales de laboratorio	
2.5.2.1	Material volumétrico	
2.5.2.2	Equipos de laboratorio	
2.5.2.3	Reactivos	20
2.5.3.	Otros	21
2.5.4.	Formulación de geles	
2.6.	MÉTODOS	
2.6.1.	Recolección	
2.6.2.	Tratamiento de las hojas recolectadas	
2.6.3.	Procedimientos de extracción	22
2.6.3.1	Método 1	
2.6.3.2	Fundamento	
2.6.3.3	Procedimiento	24
2.6.3.4	Método 2	
2.6.3.5	Fundamento	
2.6.3.6	Procedimiento	
2.6.4.	Evaluación fitoquímica preliminar	
2.6.4.1	Método	24
2.6.4.2	Fundamento	25
2.6.4.3	Procedimiento	26
2.6.5.	Elaboración del gel con extracto	28
2.6.6.	Evaluación de la actividad antiinflamatoria	30
2.6.6.1	Método	
2.6.6.2	Fundamento	
2.6.6.3	Procedimiento	31
2.6.7.	Análisis de datos	32
2.6.7.1	Cambio porcentual	
2.6.7.2	Área bajo la curva	
2.6.7.3	Estadígrafos	

CAPÍTULO III	34
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
3.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	35
3.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO	37
3.3. PREPARACIÓN DEL GEL CON EXTRACTO	40
3.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO	
3.4.1. Intervención piloto	43
3.4.2. Intervención final	48
4. DISCUSIÓN	56
5. CONCLUSIONES	60
6. SUGERENCIAS	62
7. BIBLIOGRAFÍA	63
8. ANEXOS	67



RESUMEN

En la actualidad se han ido desarrollando diversos tipos de estudios que demuestran la gran importancia y beneficios de las plantas medicinales en diversos tipos de tratamientos para diversas enfermedades.

El presente trabajo de investigación tiene como principal objetivo evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto de las hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) en modelos experimentales que incluyen el uso de animales de laboratorio.

Primero se realizó la recolección del material vegetal, posteriormente se procedió al tratamiento de las hojas recolectadas, este procedimiento consistió sobre todo en someter a las hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) a estabilización y desecación, luego se trituraron con la finalidad de proceder a la extracción. El triturado fue material solo para la extracción mediante equipo Soxhlet, ya que para la expresión se utilizó las hojas frescas seleccionadas y estabilizadas. Para ambos métodos se determinaron sus rendimientos, para el primero el rendimiento final fue de 30.85%, y para la expresión que fue el segundo método fue de 19.25%.

Se realizó una evaluación piloto, para determinar qué tipo de extracto según el método tiene mayor eficacia. La evaluación se realizó utilizando un modelo experimental con animales de laboratorio consistente en administrar un inductor de inflamación o agente flogístico por vía SC, este agente fue la carragenina

administrada en la zona subplantar de los animales de experimentación. Se midió el volumen basal previamente a la administración de carragenina, luego se administró el agente flogístico y posteriormente los tratamientos, midiéndose luego los volúmenes de la inflamación a las 1, 2, 3, y 5 horas posteriores a la administración de carragenina y consecuentemente de los tratamientos también, en la prueba piloto en cuanto a sus volúmenes de inflamación, se calculó el cambio porcentual, considerando el 100% para la medición basal, con estos datos se calculó el área bajo la curva que permite valorar todo el proceso inflamatorio medido a los cuatro distintos momentos. El análisis estadístico realizado en el programa Minitab 18, indico mediante el Análisis de varianza y Test de Tukey a un nivel de confianza del 95% que el grupo con mayor actividad inflamatorio y distinta del control fue el grupo tratado con extracto metanólico.

Fue al extracto metanólico al que se practicó un estudio fitoquímico preliminar, mediante la técnica de cromatografía en capa fina, esta reveló la presencia de sustancias terpénicas, saponinas y taninos.

Con el extracto metanólico seco también se elaboraron los geles, a dos concentraciones al 2% y al 10%, utilizando como base el gel de carbopol.

La intervención final, evaluó el extracto metanólico, los dos geles elaborados al 2 y 10%, así como un grupo farmacológico consistente en administrar diclofenaco en gel. El análisis de test de Tukey realizado también en el programa estadístico Minitab 18, indico que el grupo tratado con el gel que incluía extracto metanólico seco al 10%, al grupo con mayor eficacia, similar al diclofenaco, aunque no tan definida ya que también era similar al extracto que tuvo una eficacia intermedia bien definida. En cuanto al gel con extracto de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) al 2%, su eficacia fue similar al control.

Palabras claves: *Cestrum hediondinum*, saponinas, taninos, inducción a inflamación.

ABSTRACT

At present, several types of studies have been developed that demonstrate the great importance and benefits of medicinal plants in various types of treatments for various diseases.

The objective of this research work is to evaluate the anti-inflammatory effect of the extract of the leaves of *Cestrum hediondinum* (holy grass) in experimental models that include the use of laboratory animals.

First the collection of the vegetal material was carried out, then the collected leaves were treated, this procedure consisted mainly in subjecting the leaves of *Cestrum hediondinum* (holy grass) to stabilization and drying, then they were crushed in order to proceed to the removal. The crushed material was only for the extraction by means of Soxhlet equipment, since for the expression the selected and stabilized fresh leaves were used. For both methods their yields were determined, for the first the final yield was 30.85%, and for the expression that was the second method was 19.25%.

A pilot evaluation was carried out to determine which type of extract according to the method has greater efficacy. The evaluation was carried out using an experimental model with laboratory animals consisting of administering an inflammation inducer or phlogistic agent via SC, this was the carrageenan administered in the subplantar zone of the experimental animals. The basal volume

was measured prior to the administration of carrageenan, then the phlogistic agent was administered and then the treatments, measuring the volumes of the inflammation at 1, 2, 3, and 5 hours after the administration of carrageenan - and consequently of the treatments also -, the pilot test regarding its inflammation volumes, the percentage change was calculated, considering 100% for the basal measurement, with this data the area under the curve was calculated that allows to assess the entire inflammatory process measured to the four different moments. The statistical analysis carried out in the Minitab 17 program, indicated by the Analysis of variance and Tukey test at a confidence level of 95% that the group with the most inflammatory activity and different from the control group was the methanolic extract.

It was to the methanolic extract that a preliminary phytochemical study was practiced, by means of the thin layer chromatography technique, this revealed the presence of terpene substances, saponins and tannins.

With the dry methanolic extract, the gels were also prepared, at two concentrations at 2% and 10%, using carbopol gel as a base.

The final intervention evaluated the methanol extract, the two gels elaborated at 2 and 10%, as well as a pharmacological group consisting in administering diclofenac gel. The Tukey test analysis also performed in the Minitab 17 statistical program, indicated that the group treated with the gel that included 10% dry methanolic extract, to the group with greater efficacy, similar to diclofenac, although not as defined as it was also similar to the extract that had a well-defined intermediate efficacy. As for the gel with extract of *Cestrum hediondinum* (holy grass) at 2%, its efficacy was similar to the control.

Key words: *Cestrum hediondinum*, saponins, tannins, induction of inflammation.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los pobladores de muchas localidades del Perú recurren a otras alternativas ante los diferentes problemas de salud que presentan en su vida diaria. Los pueblos utilizaron las plantas medicinales para el tratamiento de las enfermedades; con el avance de la tecnología los tratamientos con hierbas, fueron desplazadas lentamente por los medicamentos químicos. Debido a los efectos colaterales de muchos de los medicamentos sintetizados, su elevado costo, las personas ven la opción de retomar los medios naturales para el tratamiento de las diversas enfermedades, ya que estas aportan grandes ventajas, teniendo como principales; su bajo costo y por su fácil adquisición.

Dentro de estas alternativas encontramos a *Cestrum Auriculatum* o *Cestrum hediondinum* Durn, mayormente conocida Hierba Santa o hediondilla, arbusto de unos 3 m de alto, tallo ramificado desde la base, hojas pecioladas alternas con bordes enteros y ápice agudo o acuminado. Tiene inflorescencia en panículas terminales y axilares, y su fruto es una baya de color verde con pequeñas semillas adentro. Hierba Santa posee muchos usos tradicionales que comprende desde baños de florecimiento, alivio de cólicos menstruales, alivia el reumatismo, fiebre, cólicos, resfríos, sarampión, heridas de la piel, diarrea, bronquitis, insomnio y otitis.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

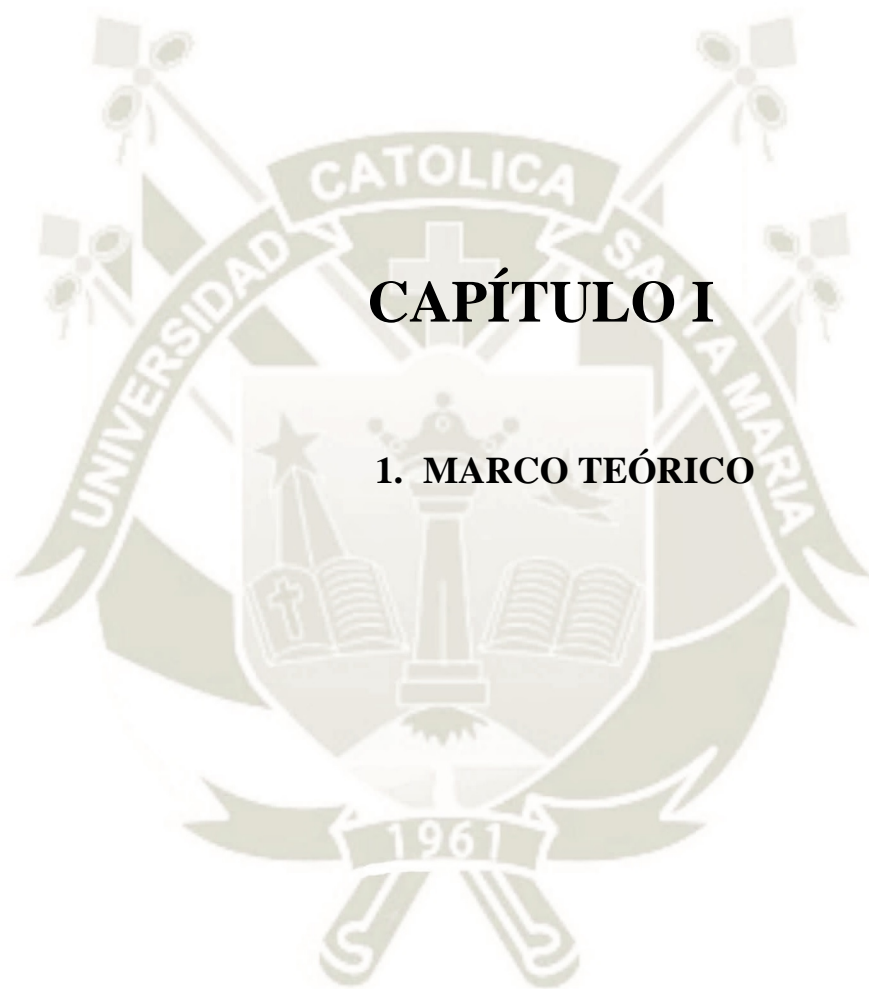
- Evaluar el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de hojas de *Cestrum Hediondinum* “Hierba santa”.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desarrollar los procedimientos de extracción que permitan la obtención de extracto de hojas de *Cestrum hediondinum* “Hierba santa”.
- Formular un gel a las concentraciones de 2 % y 10 % con el extracto hojas de *Cestrum hediondinum* “Hierba santa”.
- Analizar el extracto de hojas de *Cestrum Hediondinum* “Hierba santa” mediante un estudio fitoquímico preliminar por cromatografía en capa fina a fin de revelar que metabolitos secundarios presenta.
- Comparar el efecto antiinflamatorio del extracto y gel de hojas de *Cestrum hediondinum* “Hierba santa” al 2 % y 10 % con una forma farmacéutica tópica (gel de diclofenaco 1%).

HIPÓTESIS

Si en los usos y costumbres de plantas medicinales de la población local se utiliza las hojas de *Cestrum hediondinum* “Hierba santa” en el tratamiento de procesos inflamatorios (reumatismo, contusiones, otitis, etc.), es probable que, mediante un estudio en animales con edema plantar experimental, se evidencie el efecto antiinflamatorio de dicha droga.



CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. HIERBA SANTA

1.1.1. Nombres científicos

Cestrum hediondinum durn. *Cestrum auriculatum*. (Brack)

1.1.2. Nombres comunes

Hierba santa, hierba hedionda, hierba hedienda, tundio, hierba de cáncer, hierba de la Virgen, nukchu⁽⁴⁾.

1.1.3. Taxonomía

Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	Cestrum
Especie	<i>Cestrum hediondinum</i> durn

FUENTE: Ubicación taxonómica obtenida por el HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA) anexo 9

1.1.4. Descripción botánica

Arbusto de hasta 3 metros de alto, tallo ramificado desde la base, hojas pecioladas alternas con bordes enteros y ápice agudo o acuminado. Tiene inflorescencia en panículas terminales y axilares, y su fruto es una baya de color azul que contiene 3 semillas. Hojas alternas pecioladas; peciolo de 6 – 18 mm de largo; limbo ovado – oblongo o lanceolado 20 – 80 x t – 40 mm, glabro, bordes enteros ⁽²⁷⁾.

1.1.5. Hábitat

Crece tanto en la costa como en la sierra, en las riberas de los canales de regadío, cerca de los cultivos y aun como cerco de los mismos. Entre 2800 a 3500 metros de altitud ⁽²⁷⁾.

1.1.6. Composición química

Saponinas, gomas heterósidos, taninos, almidones, mucílagos, azufre orgánico ⁽²⁷⁾.



Figura 1. Hierba Santa (Cestrum Hediondinum)

1.1.7. Usos medicinales

- Reumatismo: tomar la infusión de las hojas tres veces al día.
- Astringente
- Febrífugo: tomar la infusión de las hojas o baños en el cocimiento de las hojas.
- Curar el salpullido de los bebés: hojas limpias en agua al sol y luego restregadas, con el agua lavar a los bebés.
- Contra los cólicos: enema de la infusión.
- Sudorífico: Tomar la infusión de las hojas.

- Vulnerario en erupciones de cuero cabelludo: el cocimiento.
- Gastrálgico: enema de la infusión, infusión de las flores.
- Contra resfriados: el cocimiento.
- Diarrea: tomar la infusión de las hojas.
- Anticaspa: aplicar la infusión de la planta en forma de lavados.
- Hemorroides: aplicar en forma de baños de asiento la infusión de las hojas.
- Estomatitis: aplicar en forma de buchadas la infusión de las hojas y flores.
- Bronquitis: tomar el cocimiento de las hojas.
- Analgésico muscular: aplicar el cocimiento de las hojas.
- Inflamación bucofaríngea: infusión de las hojas y flores secas en gargarismos.
- Otitis: instilar el cocimiento de las hojas ⁽²⁷⁾.

1.1.8. Otros usos populares

- Tratamiento de cadáveres: A los difuntos se les pone una almohada debajo de la cabeza. Al parecer el olor aleja olores indeseables y moscas ⁽⁴⁾.
- Agroforestería. Cercos vivos ⁽⁴⁾.

1.2. INFLAMACIÓN

1.2.1. Generalidades

La inflamación se considera una respuesta de los tejidos a estímulos nocivos de origen externo, provenientes de infecciones o de daño del propio tejido. En consecuencia, las funciones de la inflamación son proteger contra las infecciones y reparar los tejidos. Por lo general, la respuesta inflamatoria inducida por estímulos externos es aguda, pero si no se resuelve (como en el caso de las infecciones persistentes o de las enfermedades autoinmunes) puede volverse crónica, comúnmente en forma localizada. Ahora bien, en años recientes se ha documentado

con claridad que los estímulos de origen interno (provenientes de una disfunción del tejido) también son capaces de iniciar una respuesta inflamatoria. Es decir, más allá de que la inflamación causada por infección o daño ocasiona que se altere la función del tejido, un tejido disfuncional tiene la capacidad, a su vez, de iniciar o perpetuar una respuesta inflamatoria. Una implicación trascendente de ello es que es posible asociar la pérdida no reversible de la homeostasis tisular (debida a trastornos permanentes en la función) con la presencia de inflamación crónica con repercusiones sistémicas, la cual se observa en una creciente variedad de enfermedades, por ejemplo diabetes tipo 2, ciertos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares, entre otras ⁽²⁵⁾.

1.2.2. Concepto

Así pues, la inflamación puede entenderse como el extremo del abanico de respuestas adaptativas con las que el organismo confronta los retos y perturbaciones a la homeostasis tisular, cualquiera que sea el origen de éstos. Es posible llegar a dicho extremo de modo paulatino o inmediato, de acuerdo con las características del reto y del propio organismo ⁽²⁵⁾.

Se mencionó con anterioridad que el reto puede provenir de trastornos en la homeostasis, de la continuación de una respuesta de estrés, o de reconocimiento de las características estructurales o funcionales de los agentes capaces de trastornar la homeostasis tisular ⁽²⁵⁾.

1.2.3. Causas de la inflamación

La inflamación se desencadena como consecuencia de:

- Infección: los diferentes tipos de microorganismos (virus, bacterias, hongos, parásitos) provocan distintas respuestas inflamatorias.
- Necrosis tisular: la isquemia, los traumatismos y las toxinas provocan inflamación.
- Cuerpos extraños: entre ellos, astillas, suciedad, puntos de sutura, prótesis, cristales de urato (gota) y ésteres de colesterol.

- Reacciones inmunitarias (respuestas de hipersensibilidad), dirigidas contra uno mismo (autoinmunidad) o contra agentes exógenos (alergia) ⁽¹¹⁾.

1.2.4. La respuesta inflamatoria

De manera clásica se considera que la inflamación muestra los cuatro signos cardinales descritos por el enciclopedista romano de principios de la era cristiana: Aulo Cornelio Celso: calor, rubor, tumor y dolor. Todos están referidos en latín, pero su significado en español es claro y son una útil nemotecnia en la clínica para identificar procesos inflamatorios visibles. Son resultado de la liberación de los mediadores y de la expresión de moléculas de adhesión que provocan un aumento de la permeabilidad vascular, el paso de plasma al espacio intersticial, el reclutamiento de leucocitos, el aumento de la temperatura local o sistémica y la estimulación de nociceptores. El quinto signo cardinal se denomina *functio laesa*, o perturbación de la función. Fue agregado por el sabio alemán del siglo XIX, Rudolf Virchow. Estos procesos celulares y moleculares se observan en los casos de infección y de daño al tejido, aunque la respuesta inflamatoria mejor caracterizada es aquella provocada por infecciones, en especial las bacterianas ⁽²⁵⁾.

En seguida se explicará lo que sucede cuando hay una infección en cualquier tejido. Como ya se dijo, los macrófagos y los mastocitos residentes inician la producción de un conjunto de mediadores y se producen los fenómenos característicos de la respuesta inflamatoria ⁽²⁵⁾.

Los leucocitos y las proteínas plasmáticas suelen circular dentro de los vasos sanguíneos y son reclutados a los sitios de infección o lesión mediante señales específicas, por ejemplo, moléculas presentes en los microorganismos patógenos (la N-formil metionina); sustancias derivadas de la activación del sistema del complemento (componentes C5a y C3a), citocinas (TNF) y quimiocinas. Una vez que los componentes del plasma se extravasan a los tejidos, el exudado plasmático está compuesto no sólo por proteínas contenidas normalmente en el torrente sanguíneo, sino también por proteínas que se activan durante el proceso inflamatorio por medio de una serie de pasos denominados cascadas, incluyendo la del sistema del complemento, la coagulación y los sistemas fibrinolítico y de las cininas ⁽²⁵⁾.

Para conseguir eliminar los agentes inductores es necesario el reclutamiento de células del sistema inflamatorio al sitio de la lesión. Los macrófagos residentes en los tejidos y las células dendríticas migran de los sitios cercanos al lugar de inicio de la respuesta. Las células que intervienen en la respuesta inmunológica innata utilizan receptores celulares, como los TLR, para detectar la presencia de agentes infecciosos mediante el reconocimiento de PAMP. El endotelio y los macrófagos residentes en los tejidos responden ante los estímulos proinflamatorios generando quimiocinas, moléculas capaces de atraer células inmunocompetentes. La IL-8 (CXCL8) favorece la llegada de neutrófilos, y la proteína MCP-1 (del inglés Monocyte Chemoattractant Protein-1 o proteína quimioatrayente de monocitos 1) induce la migración de monocitos. Por lo regular, los leucocitos más abundantes en una respuesta inflamatoria aguda son los neutrófilos, pero con el transcurso del tiempo comienzan a migrar monocitos (que se convertirán en macrófagos tisulares) y linfocitos T y B. Si el evento inflamatorio no se resuelve, todas estas células pueden convertirse en las poblaciones predominantes en la inflamación crónica, que puede persistir durante años. En muchos casos esta inflamación crónica es de baja intensidad y no origina manifestaciones clínicas detectables ⁽²⁵⁾.

La migración de las células inflamatorias desde la luz de los vasos sanguíneos a los tejidos ocurre de manera ordenada. Primero el endotelio expresa simultáneamente las quimiocinas, que se adhieren en la cara intraluminal de la membrana endotelial y atraen a los leucocitos. Una citocina, también secretada de modo local, el TNF, activa al endotelio que, en respuesta, expresa P-selectina. Esta molécula se encuentra preformada y contenida en gránulos llamados cuerpos de Weibel-Palade, por lo que en cuestión de minutos se encuentra en la superficie endotelial, pues sólo se requiere la fusión de los gránulos a la membrana. Al mismo tiempo, el proceso inflamatorio inicia la síntesis de otras moléculas, por ejemplo, la E-selectina que en un par de horas se convierte en la principal selectina de la superficie del endotelio activado. Como su nombre sugiere, las selectinas contienen un dominio tipo lectina en su parte distal; las lectinas son proteínas fijadoras de carbohidratos y, en este caso, tienen como ligando al tetrasacárido sialil-Lewisx, el cual se encuentra en forma constitutiva en la superficie de los neutrófilos, pero no en la de los linfocitos. Estos últimos lo expresan después de ser activados en los órganos

linfoides secundarios por células dendríticas migrantes del tejido inflamado. La migración tardía de linfocitos a los tejidos marca el inicio de la participación de la respuesta inmunológica adaptativa en la respuesta inflamatoria ⁽²⁵⁾.

La acción conjunta de las quimiocinas producidas por los macrófagos y las células endoteliales (que marginan a los leucocitos circulantes hacia el sitio de la lesión), y de las selectinas (que los fijan con baja afinidad) inicia la interacción endotelio-leucocito. La baja afinidad de esta interacción y la fuerza del flujo sanguíneo impiden una fijación firme y provocan el llamado rolling de los leucocitos sobre la superficie endotelial. El endotelio continúa sintetizando moléculas con una mayor afinidad y capacidad de adhesión y transmigración ⁽²⁵⁾.

Los leucocitos circulantes también se activan durante el proceso y expresan moléculas con capacidad adherente, como el LFA-1 (del inglés Lymphocyte Function-Associated Antigen 1, o antígeno asociado a la función linfocitaria 1) que está en casi todos los leucocitos e interactúa con las moléculas de adhesión intercelular, miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas, ICAM-1 e ICAM-2 (del inglés Intercellular Adhesion Molecule, o molécula de adhesión intercelular) sobre la superficie del endotelio. La ICAM-1 se expresa de manera importante en los procesos inflamatorios, mientras que ICAM-2 se halla de forma constitutiva en las membranas de los leucocitos. De modo similar, Mac-1 (del inglés Macrophage-1 Antigen, o antígeno de macrófagos 1) participa, pero en forma secundaria en la migración de leucocitos utilizando ICAM-1 e ICAM-2 como sus ligandos. Otras moléculas que participan en la adhesión son los proteoglicanos CD44 que se encuentran en la superficie de gran variedad de subpoblaciones de leucocitos; su ligando es el hialuronato. Estudios de inhibición in vivo que emplean anticuerpos que bloquean la función de CD44, indican que esta molécula juega un importante papel al dirigir los linfocitos a los sitios de inflamación ⁽²⁵⁾.

Algunos ejemplos de moléculas relacionadas con la transmigración o diapédesis son CD31, miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas; CD99 y las ICAM, las cuales se expresan lo mismo en leucocitos que en células endoteliales. Estas moléculas interactúan en secuencia de forma homotípica entre ellas mismas durante la diapédesis. En la transmigración también participan JAM-A, JAM-B y JAM-C, cuyos ligandos son LFA-1, integrina $\alpha_4\beta_1$ y Mac-1, respectivamente. Hace

poco se describió el papel que juegan las ectoenzimas en la cascada de adhesión. La VAP-1 (del inglés Vascular Adhesión Protein, o proteína de adhesión vascular 1) y las CD73 y CD38 se encuentran del todo identificadas durante el proceso de transmigración. Debido a su papel como enzimas, tales moléculas pueden modificar con rapidez las interacciones de adhesividad y modular el microambiente ⁽²⁵⁾.

1.2.5. Resolución de la inflamación

El proceso inflamatorio es por lo general limitado y termina por resolverse. Las distintas células y sistemas que participan en él tienen mecanismos que las desactivan cuando su participación ya no es necesaria. La desaparición de las células que ya no sean requeridas en el proceso ocurre por apoptosis ⁽¹⁴⁾.

Tanto el sistema del complemento como el de las quininas y el de la coagulación tienen enzimas reguladoras que evitan que su activación se prolongue más de lo necesario ⁽¹⁴⁾.

El Eos es una de las pocas fuentes de fosfolipasa D, enzima que inactiva el “factor activador de las plaquetas”. Además, posee histaminasa que desactiva la histamina, y otras moléculas que son generadas en células lipoides y que actuando como citoquinas ayudan a frenar el proceso inflamatorio cuando éste ha cumplido su función ⁽¹⁴⁾.

1.2.6. Reparación de tejidos

Cuando cesa el proceso inflamatorio se inicia la reparación y cicatrización de los tejidos. Los macrófagos cumplen el papel inicial de eliminación de detritos y remoción de restos celulares ^(14, 25).

Los fibroblastos, las células epiteliales y las endoteliales, estimuladas por citoquinas como el factor de crecimiento de la epidermis, EGF, y el factor de crecimiento del endotelio, VEGF, inician la cicatrización con neoformaciones de vasos, proceso conocido como angiogénesis ^(14, 25).

1.3. FARMACOS ANTIINFLAMATORIOS

1.3.1. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE)

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), son uno de los grupos de fármacos más prescritos a nivel mundial. Son útiles en el dolor reumático, tanto en enfermedades inflamatorias como degenerativas y por su poder analgésico, también se usan con frecuencia en enfermedades no reumáticas como la migraña, dolor dental y en general en cualquier proceso doloroso. En este grupo se incluyen medicamentos tan conocidos y usados como ácido acetil salicílico, diclofenaco entre otros ⁽³⁶⁾.

1.4. DICLOFENACO

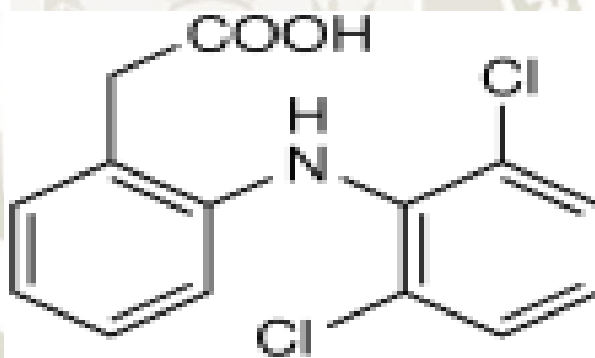


Figura 2. Formula Diclofenaco

El diclofenaco de sodio es un derivado del ácido fenilacético y pertenece al grupo de los Antiinflamatorios no esteroideos (AINE) con propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas pronunciadas ⁽³⁶⁾.

1.4.1. Mecanismo de acción

Su acción principal se realiza en la periferia inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, principales mediadores de inflamación. A nivel central su acción no está completamente establecida y da origen al efecto antipirético.

Los AINES inhiben la ciclooxigenasa, enzima encargada de convertir el ácido araquidónico en prostaglandinas D, E, F y prostaciclina y tromboxanos. También los AINES intervienen en la inhibición de la migración de los neutrófilos y la respuesta linfocítica ⁽³⁷⁾.

1.4.2. Propiedades farmacodinámicas

El diclofenaco es un antiinflamatorio y analgésico no esteroideo, del grupo de los derivados arilacéticos, que actúa impidiendo la síntesis de prostaglandinas y otros prostanoides, mediante la inhibición competitiva y reversible de la ciclooxigenasa, que interviene en procesos inflamatorios ^(13, 16).

1.4.3. Propiedades farmacocinéticas

1.4.3.1 Absorción

La cantidad de diclofenaco absorbido a través de la piel es proporcional al tiempo de contacto y el área de la piel cubierta por diclofenaco, y depende de la dosis tópica total y de la hidratación de la piel. La absorción es de un 6% de la dosis de diclofenaco tras la aplicación tópica de 2.5g de diclofenaco por 500 cm² de piel, determinado en referencia a la eliminación renal total, comparado con diclofenaco comprimidos. La oclusión durante un periodo de 10 horas provoca un aumento de tres veces en la cantidad de diclofenaco absorbido ⁽¹⁵⁾.

1.4.3.2 Distribución

Tras la administración tópica de diclofenaco en las articulaciones de la mano y la rodilla, se puede medir el diclofenaco en plasma, tejido sinovial, y líquido sinovial. Las concentraciones plasmáticas máximas de diclofenaco tras la administración tópica de diclofenaco son unas 100 veces más bajas que tras la administración oral de diclofenaco comprimidos. El 99.7% de diclofenaco se une a las proteínas plasmáticas, principalmente a albúmina ⁽¹⁵⁾.

1.4.3.3 Biotransformación

La biotransformación de diclofenaco supone por una parte glucuronidación de la molécula intacta, pero principalmente hidroxilación simple y múltiple que genera diversos metabolitos fenólicos, la mayoría de los cuales se convierten en glucurónidos conjugados. Dos de estos metabolitos fenólicos son biológicamente activos, aunque en una proporción menor que diclofenaco ^(1, 15).

1.4.3.4 Eliminación

El aclaramiento sistémico total de diclofenaco del plasma es 263 ± 56 mL/min (valor medio \pm DS). La vida media plasmática terminal es de 1 a 2 horas. Cuatro de los metabolitos, incluyendo los dos activos, también tienen vidas medias plasmáticas cortas de 1 a 3 horas. Un metabolito, el 3-hidroxi-4-metoxi diclofenaco, tiene una vida media plasmática más larga, pero es virtualmente inactivo. El diclofenaco y sus metabolitos se excretan principalmente por la orina ^(1, 15).

1.4.4. Indicaciones

Alivio local del dolor y la inflamación leves y ocasionales ^(7, 17).

1.4.5. Contraindicaciones

Hipersensibilidad al diclofenaco o a cualquiera de los componentes de la fórmula ^(1, 7).

No utilizar sobre quemaduras solares.

No administrar a pacientes que hayan presentado reacciones alérgicas (rinitis, asma, prurito, angioedema, urticaria, shock u otras) provocadas por ácido acetilsalicílico u otros AINES debido a la posibilidad de hipersensibilidad cruzada.

No utilizar durante el último trimestre del embarazo ^(1, 7).

No administrar concomitantemente con otros productos que contengan diclofenaco ^(1, 7).

1.4.6. Reacciones adversas

La absorción sistema de diclofenaco por vía tópica es muy baja comparada con los niveles plasmáticos del principio activo después de la administración oral de diclofenaco. Por lo tanto, la probabilidad de que se produzcan reacciones adversas sistémicas (como trastornos digestivos o renales, broncoespasmo) es muy baja tras la aplicación tópica, en comparación con la frecuencia de reacciones adversas asociadas a la administración oral de diclofenaco. Sin embargo, si se usa el diclofenaco sobre una gran zona de piel, y durante un largo periodo de tiempo, pueden ocurrir reacciones adversas sistemas. En general por vía tópica se mencionan las siguientes ^(1,7).

1.4.6.1 Infecciones e infestaciones

Muy raras: erupción pustular ^(1,7).

1.4.6.2 Trastornos del sistema inmunológico

Muy raras: Hipersensibilidad (incluyendo urticaria), angioedema ^(1,7).

1.4.6.3 Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos

Muy raras: Asma ^(1,7).

1.4.6.4 Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo

Muy raras: Reacción de fotosensibilidad.

Raras: Dermatitis ampollosa.

Frecuentes: Dermatitis (incluyendo dermatitis de contacto), erupción, eczema, eritema, prurito ^(1,7).

1.5. GELES

Un gel es un sistema coloidal, son de consistencia semisólida transparente. Los geles presentan una densidad similar a los líquidos, sin embargo, su estructura se asemeja más a la de un sólido ⁽³⁷⁾.

1.5.1. Clasificaciones de los geles

1.5.1.1 Dependiendo de su comportamiento frente al agua

1.5.1.1.1 Geles hidrófilos o hidrogeles

Constituidos por agua, glicerina, propilenglicol u otros líquidos hidrofílicos. Gelificados por sustancias de tipo poliméricas, goma tragacanto, almidón, derivado de la celulosa, polímeros carboxílicos o silicatos de aluminio y magnesio ⁽³⁷⁾.

1.5.1.1.2 Geles hidrófobos o lipogeles (oleogeles)

Constituidos por parafina líquida adicionada de polietileno o por aceites grasos gelificados por anhídrido silícicoloidal o por jabones de aluminio y zinc ⁽³⁷⁾.

1.5.2. Mecanismo de formación de un Gel

Los productos gelificantes se pueden agrupar del siguiente modo: - Polímeros que dan lugar a un gel dependiente del pH del medio. -Polímeros que dan lugar a un gel por sí mismo, independiente del pH del medio ⁽³⁷⁾.

1.5.3. Estabilidad de Geles

Los factores desencadenantes de la inestabilidad de un gel son:

- Temperatura
- Cambios de pH
- Agitación violenta ⁽³⁷⁾.



CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

2.1.1. Tipo de Investigación

El objetivo básico de los estudios experimentales es evaluar los efectos producidos por una acción o manipulación, intentando establecer una relación causa-efecto con los resultados observados (estudios analíticos). Esta suele ser un tratamiento farmacológico, una estrategia diagnóstica o un modelo organizativo⁽²⁾; es por lo que el tipo de investigación corresponde a un estudio experimental en donde la intervención consistió en la administración tópica del extracto y gel de hierba santa, y ver sus efectos sobre el proceso inflamatorio.

2.2. Diseño Pre y Post Test

Este diseño experimental consiste en realizar mediciones de intervención de la variable antes y después de administrar el tratamiento. En nuestra investigación, se realizó una medición basal y mediciones posteriores a la administración del extracto de hierba santa.

Además, este diseño comprende varios grupos experimentales con uno control, a criterio de los investigadores se incluyó una experimentación preliminar o piloto, con la finalidad de definir la extracción final. El diseño comprendió los siguientes grupos.

2.2.1. Intervención piloto

El objetivo de la intervención piloto fue seleccionar el método de extracción, ya sea por extracción por Soxhlet o expresión, utilizado en presencia de un grupo control.

- Grupo control: conformado por 3 animales de experimentación, sobre los que no hubo intervención alguna.

- Grupo Extracto Metanólico por Soxhlet: conformado por 3 animales de experimentación, sobre los que se intervino en el proceso inflamatorio administrando el extracto metanólico de hierba santa.
- Grupo Extracto por Expresión: conformado por 3 animales de experimentación, sobre los que se intervino en el proceso inflamatorio administrando el extracto por expresión de hierba santa.

2.2.2. Intervención final

El objetivo de la intervención final corresponde al objetivo principal de la presente investigación, incluyó además del grupo extracto de mayor eficacia de la intervención piloto, a unos grupos que incorporen a este extracto en una forma farmacéutica, un grupo control, y un grupo farmacológico.

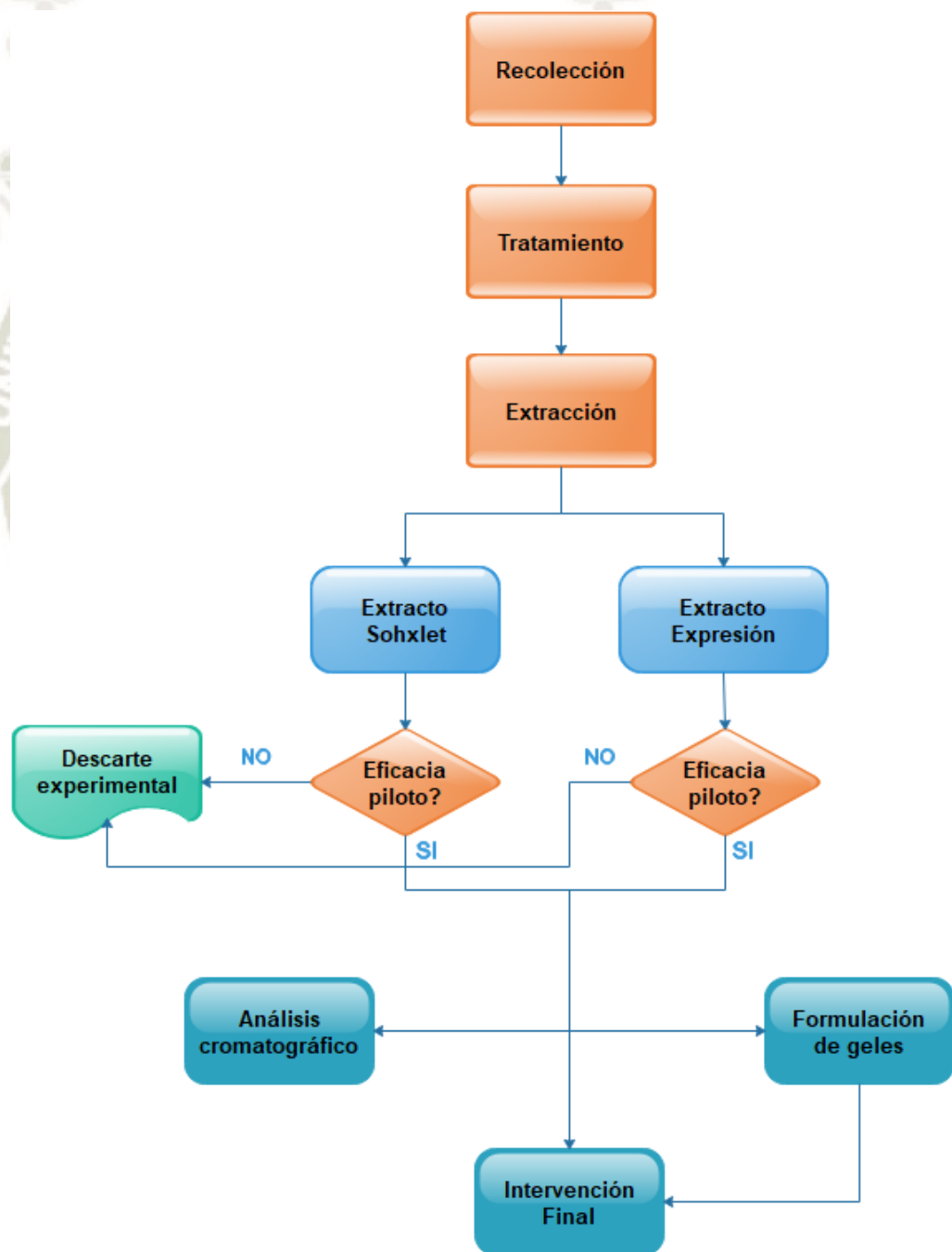
- Grupo Control: conformado por 5 animales de experimentación, sobre los que no hubo intervención alguna.
- Grupo Metanol: conformado por 5 animales de experimentación, sobre los que se intervino en el proceso inflamatorio administrando el extracto metanólico de hierba santa.
- Grupo Gel 2 %: conformado por 5 animales de experimentación, sobre los que se intervino en el proceso inflamatorio administrando el extracto metanólico de hierba santa en una proporción del 2% en una base de gel de carbopol.
- Grupo Gel 10 %: conformado por 5 animales de experimentación, sobre los que se intervino en el proceso inflamatorio administrando el extracto metanólico de hierba santa en una proporción del 10% en una base de gel de carbopol.
- Grupo Gel Farmacológico: conformado por 5 animales de experimentación, sobre los que se intervino en el proceso inflamatorio administrando un gel farmacológico con diclofenaco al 1% como principio activo antiinflamatorio.

2.3. Área de Investigación

El proyecto de tesis, la obtención del extracto, y la obtención de las pruebas preliminares en cromatografía se realizó en los laboratorios de experimentación H-103 y el bioterio de la Universidad Católica De Santa María.

2.4. Esquema experimental

El gráfico resume el esquema experimental que se siguió hasta la etapa final.



2.5. MATERIALES

2.5.1. Material biológico

2.5.1.1 Unidad botánica

Para el trabajo de investigación se utilizó las hojas secas de *Cestrum hediondinun* “Hierba santa”.

2.5.1.1.1 Unidad biológica

El estudio en animales de experimentación se realizó en el bioterio de la Universidad Católica de Santa María. Los animales de experimentación que se utilizaron para el presente estudio fueron ratas albinas pertenecientes a la especie *Rattus rattus* de la raza “Hotzman”, se utilizaron para la prueba piloto y la prueba final. Para este proyecto, los animales de experimentación fueron 25 ratas de la especie *Rattus Rattus* de la raza “Holtzman” machos, con un peso entre 200-245 g, con una edad aproximada de 5 meses. Estos animales fueron sub-divididos en 5 grupos de 5 animales cada uno.

2.5.2. Materiales de laboratorio

2.5.2.1 Material volumétrico

- Balones
- Matraces
- Pipetas graduadas
- Probetas graduadas
- Vasos precipitados

2.5.2.2 Equipos de laboratorio

- Balanza analítica

- Balanza gramera
- Equipo de baño maría
- Equipo rotavapor
- Equipo Soxlet
- Estufa de desecación
- Frigorífico
- Lámpara UV
- Pletismómetro digital

2.5.2.3 Reactivos

- Acetato de etilo
- Ácido sulfúrico
- Agua destilada
- Carbopol
- Cloruro de aluminio
- Metanol
- Metilparabeno
- Propilenglicol
- Propilparabeno
- Reactivo de Dragendorf
- Trietanolamina
- Vainillina
- Ácido acético

2.5.3. Otros

- Gorro de laboratorio
- Guantes de examen
- Jeringa de Insulina
- Mascarilla
- Placas de silica gel
- Potes de plástico
- Sonda orogástrica

2.5.4. Formulación de geles

Se procedió a formular geles conteniendo 2 % y 10 % del extracto de Hierba santa “*Cestrum Hediondinun*”. se evaluaron los diferentes geles en la etapa experimental, aplicarlo en los animales de experimentación para poder determinar cuál concentración es la que tiene mayor efecto antiinflamatorio.

2.6. MÉTODOS

2.6.1. Recolección

La recolección de especies de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) se llevó a cabo en las zonas periféricas del Distrito de Characato, se recolecto a partir de especies que crecen en forma silvestre, la recolección de estas especies fue a las 8 horas de la mañana, se prefirió especímenes adultos, sanos obteniendo 1.5 kilogramos de ramas.

2.6.2. Tratamiento de las hojas recolectadas

Las ramas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) recientemente recolectadas fueron tratadas convenientemente a fin de ser sometidas al proceso de extracción con disolventes. Con este objetivo en primer lugar se seleccionó a partir de las ramas solo las hojas, que se encuentren en buen estado, desechando todo lo demás. Posteriormente estas hojas fueron estabilizadas, para ello fueron introducidas

en la estufa con temperatura previa de 90 °C, y permanecieron dentro durante alrededor de 3 minutos, luego que se estabilizaron las hojas, en la misma estufa se procedió con la desecación. La desecación fue a calor artificial en estufa eléctrica, la temperatura para desecar fue de 50 °C, el tiempo que tomó hasta tener hojas secas fue de 4.5 horas ⁽²⁰⁾.

El procedimiento final de tratamiento de las hojas recolectadas fue la trituration, se realizó con la finalidad de aumentar la superficie de contacto droga disolvente. Esta trituration se llevó a cabo en mortero de porcelana por lo que la trituration fue manual ⁽²⁰⁾.



Figura 3. Hojas de hierba santa triturada

FUENTE: Elaboración propia

2.6.3. Procedimientos de extracción

2.6.3.1 Método 1

Como método de extracción se utilizó la extracción Soxhlet.

2.6.3.2 Fundamento

Es un método de extracción continuo que se utiliza para materiales sólidos. Consiste en colocar el material a extraer, previamente molido y pesado, en un cartucho de celulosa que se introduce en la cámara de extracción, conectada por una parte a un balón de destilación y por otra a un refrigerante. El disolvente contenido en el balón se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo lateral y

se condensa en el refrigerante, cayendo sobre el material. Cuando alcanza el nivel conveniente sifona por el tubo regresando al balón. El proceso se repite hasta conseguir el agotamiento deseado del material ⁽¹⁹⁾.



Figura 4 Equipo soxhlet
FUENTE: Elaboración propia

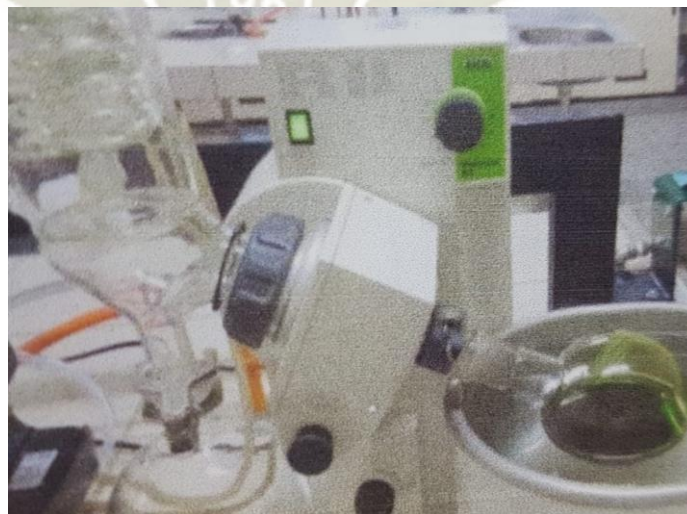


Figura 3. Equipo rotavapor
FUENTE: Elaboración propia

2.6.3.3 Procedimiento

Se pesó una cantidad suficiente para que cupiera en el tubo de extracción del equipo, esta cantidad se introdujo en un papel filtro, este conjunto fue introducido al tubo de extracción. Por otra parte, se colocó disolvente en el balón de destilación. Se armó todo el equipo, y se colocó dentro de un baño maría, este a su vez sobre la cocinilla eléctrica y se inició el proceso de extracción. Esta extracción fue exhaustiva, hasta agotar la droga

2.6.3.4 Método 2

Como segundo método de extracción se utilizó la extracción mediante expresión.

2.6.3.5 Fundamento

La extracción por expresión consiste en ejercer una presión sobre la droga, es una técnica de extracción mecánica que permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. ⁽¹⁸⁾

2.6.3.6 Procedimiento

Para lograr la extracción por expresión se acondicionó una prensa para jugos de naranja de aluminio, en esta se colocó en su fondo un lienzo fino para que haga las veces de filtro. Se colocaron en varias tandas alrededor de 130 g de hojas frescas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) hasta obtener un jugo o zumo total de 25.3 ml. Esta extracción fue progresiva a medida que se requería el jugo, ya que tenía que utilizarse inmediatamente.

2.6.4. Evaluación fitoquímica preliminar

2.6.4.1 Método

Como método análisis fitoquímico se utilizó la Cromatografía en Capa Fina.

2.6.4.2 Fundamento

La cromatografía en capa fina (TLC- Thin layer-chromatography) es una aplicación especial de la cromatografía de absorción, en la cual se utiliza una capa fina de adsorbente soportada encima de una superficie plana en lugar de una columna rellena de adsorbente. La elución, o más propiamente el desarrollo del cromatograma se consigue por el movimiento capilar ascendente del disolvente a través de la capa fina de adsorbente. Desgraciadamente quedamos limitados al uso de un solo sistema de disolventes. No obstante, después de usar un disolvente el cromatograma puede secarse y desarrollarse de nuevo con un segundo sistema de disolventes bien en la misma dirección o en ángulo recto al primer desarrollo ⁽²⁴⁾.

En orden de importancia, los adsorbentes más corrientemente usados en TLC son el gel de sílice, alumina, kieselguhr y celulosa. Los dos primeros son más importantes para los usos generales que los dos últimos. Los adsorbentes para TLC son de partículas más pequeñas que aquellos usados para columna ⁽²⁴⁾.



Figura 6: Corrida de muestra en cuba cromatografica

FUENTE: Elaboración propia

2.6.4.3 Procedimiento

La evaluación de la composición fitoquímica preliminar consideró cuatro reacciones de identificación; General, Terpenos, Flavonoides, Taninos y Alcaloides.

2.6.4.3.1 General

2.6.4.3.1.1 Fase móvil:

Acetato de etilo	Metanol	Agua
98	2	1

2.6.4.3.1.2 Reactivo de vainillina-ácido sulfúrico

Solución A

Vainillina..... 1g

Etanol csp..... 100ml

Solución B

Ácido sulfúrico concentrado..... 5 ml

Etanol csp..... 100ml

Pulverizar la placa con la solución A y dejar secar, luego con la solución B someter la placa a 110°C durante 10 minutos. Es un reactivo denominado universal o general ya que tiene amplio uso en la determinación de patrones cromatográficos.

(12)

Terpenoides, fenoles, derivados fenilpropánicos, aceites esenciales. (12)

2.6.4.3.2 Flavonoides

2.6.4.3.2.1 Fase móvil:

Acetato de etilo	Metanol	Ácido acético
70	30	1

2.6.4.3.2.2 Reactivo de cloruro de aluminio

Cloruro de aluminio..... 1 g

Etanol csp..... 100 ml

Pulverizar la placa con la solución preparada y observar a la luz UV-365nm ⁽¹²⁾.

Flavonoides, observar fluorescencia amarilla ⁽¹²⁾.

2.6.4.3.3 Taninos

2.6.4.3.3.1 Fase móvil:

Metanol	Agua
90	10

2.6.4.3.3.2 Reactivo de cloruro férrico

Cloruro férrico..... 1 g

Etanol csp..... 100 ml

Pulverizar la placa con la solución recientemente preparada y dejar secar, después se somete la placa a 110°C durante 10 minutos.

Flavonoides, fenoles y taninos generando manchas azules, rojas, verdes y marrones ⁽¹²⁾.

Para calcular el Rf se aplica la siguiente expresión:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto (X)}}{\text{distancia recorrida por el eluyente (Y)}}$$

2.6.5. Elaboración del gel con extracto

Para la formulación del gel que contiene el extracto se siguió el procedimiento normalizado para la elaboración de geles, descrito en la segunda edición del Formulario Nacional Español que se describe a continuación.

Formula patrón

Principio activo	x%
Excipientes:	
Gelificante/s	x%
Regulador de pH (si procede)	c.s
Diluyente	c.s.p. ⁽²²⁾

En caso de utilizar geles semielaborados, seguir las instrucciones del fabricante.

Método patrón

- Pesar todos los componentes ⁽²²⁾.
- Dispersar el gelificante en parte del diluyente por toda la superficie, evitando la formación de grumos ⁽²²⁾.
- Dejar reposar el tiempo suficiente hasta la total imbibición del diluyente.
- Agitar evitando la incorporación de aire, hasta obtener un gel uniforme.
- Incorporación del principio activo ⁽²²⁾.
 - Siempre que sea posible se incorporará disuelto en el diluyente antes de elaborar el gel ⁽²²⁾.
 - Si no es así, una vez formada el gel, incorporar el resto de diluyente con los principios activos solubles ⁽²²⁾.

- Si son insolubles en el diluyente, disolverlos o dispersarlos en el mínimo volumen posible de un solvente con la polaridad adecuada.

- En caso de que sea necesario para la gelificación, agregar la sustancia reguladora del pH si procede, ajustando al pH deseado y controlándolo según procedimiento de medición de pH ⁽²²⁾.
- La velocidad, tiempo de agitación, temperatura se especificarán en cada formulación en concreto ⁽²²⁾.
- Proceder a la limpieza del material y equipo según se especifique en los procedimientos de limpieza correspondientes ⁽²²⁾.

Procedimiento realizado

- Pesar todos los componentes.
- Se disolvió los parabenos en el propilenglicol mediante agitación constante. Esta mezcla se disolvió en el agua destilada.
- Se dispersó el gelificante en la mezcla anterior por toda la superficie, evitando la formación de grumos.
- Se dejó reposar durante 24 horas hasta la total imbibición del diluyente.
- En agregó el regulador de pH trietanolamina gota a gota, ajustando al pH deseado y controlándolo mediante papel indicador de pH.
- Se agitó evitando la incorporación de aire, hasta obtener un gel uniforme.
- Los extractos se agregaron al final, una vez elaborado el gel ⁽²²⁾.

Formula específica

Complejo activo	x%
Excipientes:	
Carbopol 940	1.1 %
Trietanolamina	c.s pH 7
Metilparabeno	0.08 g
Propilparabeno	0.02 g
Propilenglicol	5 g
Agua destilada	c.s.p. 100 g

2.6.6. Evaluación de la actividad antiinflamatoria

2.6.6.1 Método

Modelo animal de edema plantar inducido por carragenina.

2.6.6.2 Fundamento

El método de edema plantar inducido por carragenina consiste en la administración subcutánea de una solución de carragenina (un mucopolisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondus crispus*) a nivel de la aponeurosis plantar de la rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas) además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta ⁽³⁾.

Una hora después de la administración de la sustancia problema, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. Aproximadamente de una hora y media a dos horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase mediada por prostaglandinas (PGE1 y PGE2, PGF2). La respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la administración de carragenina y coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. La extravación de proteínas ocurre durante

toda la respuesta al agente edematógeno. La migración celular, fundamentalmente leucocitos polimorfonucleares, comienza a la hora de haberse inyectado el agente ⁽³⁾.

Se prefiere la carragenina ante otros irritantes porque el edema producido esta menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y, además, porque la actividad antiinflamatoria de este ensayo guarda una buena correlación con la actividad antiinflamatoria en clínica ⁽³⁾.



Figura 7. Equipo Pletismómetro digital

FUENTE: Elaboración propia

2.6.6.3 Procedimiento

Tanto en la intervención piloto como final se siguió un procedimiento que comienza en la estandarización de los animales de experimentación, es decir, tuvieron condiciones uniformes de alimentación y cautiverio. Luego de ello se identificó a cada animal generándole pintas en su pelambre, una vez identificados fueron asignados al azar a los grupos experimentales de la intervención piloto y final.

Posteriormente se tomó la lectura del volumen de la pata anterior derecha del animal antes de administrar el agente flogístico, este dato fue la lectura basal.

La administración de la carragenina fue por vía sub cutánea, una solución al 1%, y se midió el volumen de inflamación a la 1, 2, 3 y 5 horas. La administración

del tratamiento fue inmediatamente antes de la primera medición, aplicando por vía tópica sea el extracto o el gel con extracto ⁽³⁾.

2.6.7. Análisis de datos

2.6.7.1 Cambio porcentual

Las lecturas de volúmenes de tejido inflamado medidas mediante el pletismómetro digital, servirán para hallar el *cambio porcentual*.

El cambio porcentual es un cociente cuyo numerador se constituye con el cambio entre dos momentos y el denominador es un periodo base. Su fórmula es ⁽¹⁰⁾:

$$\text{Cambio porcentual} = \frac{x_p - x_A}{x_A} 100$$

Donde x_A representa el valor en el periodo anterior y x_p el valor en el periodo posterior. El cambio porcentual permite expresar numéricamente el cambio cuantitativo observado entre dos momentos tomando como referencia el valor observado en el periodo anterior ⁽¹⁰⁾.

2.6.7.2 Área bajo la curva

El área bajo la curva de los cambios porcentuales en los cuatro tiempos se realizó mediante el método de los trapecios ⁽²³⁾.

2.6.7.3 Estadígrafos

Para el análisis de los datos proporcionados por el cálculo del área bajo la curva, se aplicó los siguientes estadígrafos para la interpretación de resultados de cada grupo experimental, así como la comparación de los grupos ⁽¹⁰⁾.

2.6.7.3.1 Promedio

La media aritmética o simplemente media o promedio es una medida descriptiva de tendencia central cuyo único número resume una serie de valores a partir de los cuales se calcula ⁽¹⁰⁾.

2.6.7.3.2 Rango

El rango es la diferencia entre el valor máximo y el mínimo de un conjunto de datos ⁽¹⁰⁾.

2.6.7.3.3 Varianza y desviación estándar

La varianza es una medida de dispersión que describe la separación de los valores en relación con la media. La varianza se expresa en unidades cuadradas que son difíciles de interpretar. Una medida de dispersión expresada en las unidades originales es la desviación típica o desviación estándar, que es igual a la raíz cuadrada de la varianza ⁽¹⁰⁾.

2.6.7.3.4 Análisis de Varianza

La distribución t de Student es muy útil para hacer inferencias comparando dos muestras simultáneamente, pero no es adecuada cuando tenemos más de dos. En estos casos, podemos utilizar el análisis de varianza, que es un procedimiento que toma la variabilidad total de una serie de datos y la divide en dos o más fuentes de variación. Este procedimiento estadístico evalúa la hipótesis nula de que no existe diferencia entre dos o más medias poblacionales ⁽¹⁰⁾.



CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

Como se describió para la obtención del extracto se precisó en primer lugar recolectar cantidad suficiente de ramas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa), esta recolección fue por las afueras del distrito de Characato. Luego procedió con el tratamiento de este material vegetal, con los procedimientos de selección, estabilización, desecación y trituración. Luego de la selección de las hojas a partir de las ramas se obtuvo una cantidad en peso de hojas por lo que se determinó el rendimiento de la recolección a partir de las ramas.

Tabla 1. Rendimiento de la Recolección

Descripción	Cantidad	Unidades
Ramas de <i>Cestrum hediondinum</i> (hierba santa)	613.87	g
Hojas de <i>Cestrum hediondinum</i> (hierba santa)	153.29	g
Rendimiento	24.97	%

FUENTE: Elaboración propia

La tabla 1 expresa los resultados para el rendimiento de la recolección se aprecia que 613.87 gramos de ramas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) presentan en su conformación 24.97 % de hojas seleccionadas es decir expeditas para ser tratadas.

Luego de aplicar todos estos procedimientos dieron como resultado final la obtención de un polvo semi fino de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa), el que fue depositado en un papel filtro, para ser introducido en el tubo de extracción del equipo Soxhlet. La extracción con llevo al uso de disolvente metanol, este se utilizó en una cantidad aproximada de 150 ml realizándose tres extracciones, estas no fueron realizadas en forma consecutiva sino más bien se dieron por necesidades de experimentación, sin embargo, fueron útiles para el cálculo del rendimiento de la extracción del método.

Tabla 2. Rendimiento promedio de la extracción Soxhlet

Descripción	Cantidad	Unidades
Hojas trituradas de <i>Cestrum hediondinum</i> (hierba santa)	14.32	g
Extracto de <i>Cestrum hediondinum</i> (hierba santa)	4.38	g
Rendimiento	30.85	%

FUENTE: Elaboración propia

La tabla 2 expresa los resultados para el rendimiento de la extracción, cabe hacer notar que, a diferencia de la anterior tabla, en esta se observan promedios totales ya que se realizaron tres extracciones. El rendimiento total final fue de 30.85%.

Tabla 3. Rendimiento promedio de la extracción por Expresión

Descripción	Cantidad	Unidades
Hojas frescas de <i>Cestrum hediondinum</i> (hierba santa)	130.02	g
Líquido extractivo (zumo)	25.3	ml
Rendimiento	19.25	%

FUENTE: Registro investigativo propio

La tabla 3 expone los resultados para la extracción mediante expresión, el producto a diferencia del anterior método fue un líquido vulgarmente conocido como zumo, su rendimiento fue de 19.25%.

3.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

En cuanto al análisis fotoquímico preliminar se observaron resultados positivos para la reacción general, terpenos y taninos, siendo negativo para flavonoides y alcaloides. En estos últimos casos se volvió a repetir el ensayo y no se obtuvo placas con buena resolución.

La reacción general – como se aprecia en el cromatofolio siguiente – fue positiva, este ensayo se realizó utilizando como fase móvil el acetato de etilo, metanol y agua, las proporciones de esta mezcla de disolventes se describe en el capítulo anterior. El revelador fue el reactivo de vainillina-ácido sulfúrico. Se aprecian en la placa, manchas de color rosa, que corresponden para **saponinas**, y marrones correspondientes a **lactonas sesquiterpénicas**.

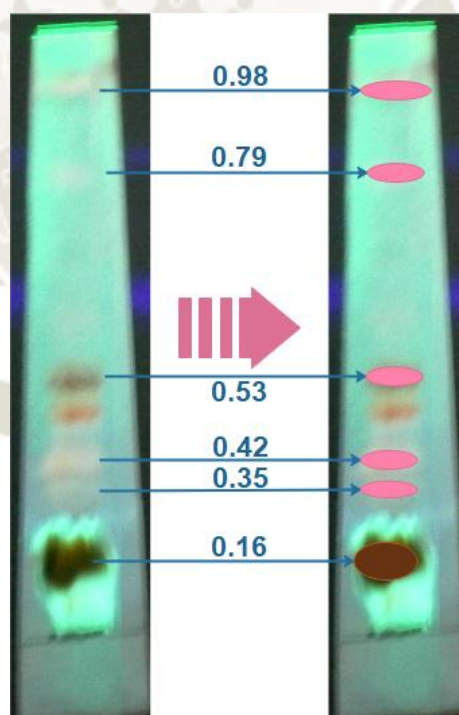


Figura 8. Placa cromatografica proveniente de la aplicación del extracto metanolico obtenido de *Cestrum hediundinun* (hierba santa)

FUENTE: Elaboración propia

La reacción para terpenos – como se aprecia en el cromatofolio siguiente – fue positiva, este ensayo se realizó utilizando como fase móvil el tolueno y el acetato de etilo, las proporciones también se describen en el capítulo anterior. El revelador fue el reactivo de Liebermann Burchard. Se aprecian en la placa, manchas de color rojo oscuro para **saponinas**, azul y azul verdosas para **triterpenos y esteroides**.

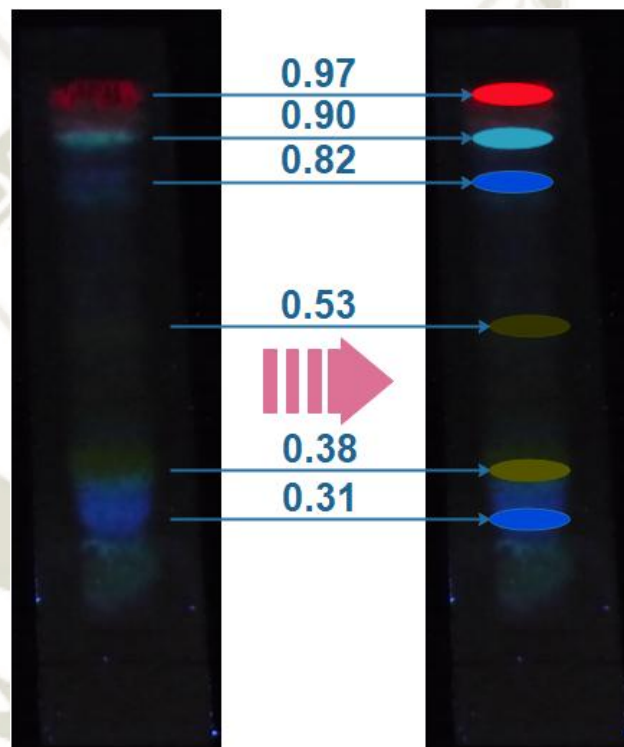


Figura 9. Identificación de terpenos del extracto metanólico obtenido por el método de Soxhlet

FUENTE: Elaboración propia

La reacción para taninos – como se aprecia en el cromatofolio siguiente – fue positiva, este ensayo se realizó utilizando como fase móvil metanol y agua, las proporciones también se describen en el capítulo anterior. El revelador fue el reactivo de cloruro férrico. Se aprecian en la placa, manchas de color marrón y verdes para **taninos**.

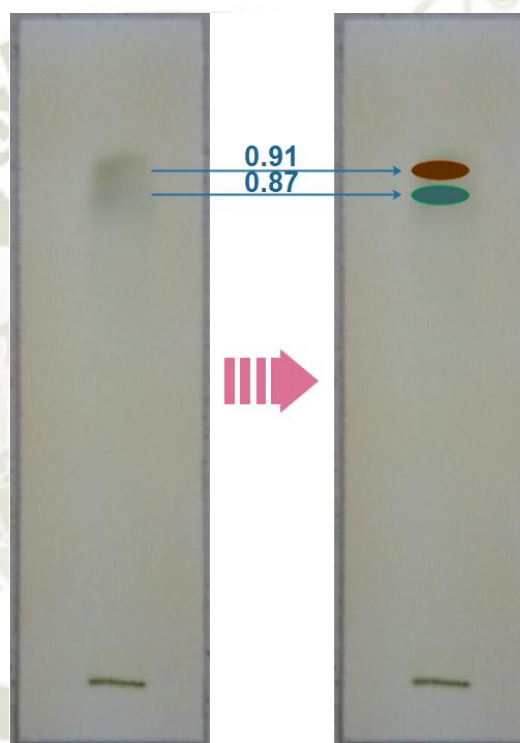


Figura 10. Identificación de taninos del extractos metanólicos, obtenido por método de soxhlet

FUENTE: Elaboración propia

3.3. PREPARACIÓN DEL GEL CON EXTRACTO

Para la elaboración del gel con extracto de *Cestrum hediondinum*, en primer lugar, se elaboró el gel de carbopol, conforme la metodología descrita en el apartado anterior. Una vez elaborado del gel de carbopol se preparó las siguientes formulaciones.

Formula al 2%

Extracto de <i>Cestrum hediondinum</i>	2 g
Gel de carbopol 940 csp	100 g

Formula al 10%

Extracto de <i>Cestrum hediondinum</i>	10 g
Gel de carbopol 940 csp	100 g

3.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

La evaluación del efecto antiinflamatorio consistió en medir el volumen de tejido inflamado luego de la administración de carragenina como agente flogístico, el volumen de tejido inflamado se midió mediante pletismometro digital. Se logró cinco lecturas, la lectura basal, a la 1 hora, 2 horas, 3 horas y 5 horas de administrada la carragenina. El tratamiento fue administrado inmediatamente antes de la primera medición. Los valores volumétricos fueron expresados en incremento porcentual. Al final de obtuvieron cuatro incrementos porcentuales en relación al basal correspondientes a la 1 hora, 2 horas, 3 horas y 5 horas, las que se denominaron Hora 1, Hora 2, Hora 3 y Hora 5 respectivamente. Estos incrementos porcentuales hasta la Hora 5 engloban todo el proceso inflamatorio, por lo que, para tener una comprensión total del proceso, y no análisis fragmentados por cada hora, lo que complicaría para un análisis estadístico en conjunto al final, que comprenda todos los análisis fragmentados de cada hora, es que fue necesario hallar el área bajo la curva

de cada una y realizar el sumatorio total, para poder así comparar todos los grupos y establecer conclusiones.

Tal como se explicó anteriormente la evaluación del efecto antiinflamatorio contemplo dos intervenciones la piloto y la final.



Figura 11. Administración de carragenina al 1%.

FUENTE: Elaboración propia



Figura 12. Medición de inflamación 1 hora después de la aplicación de carragenina al 1%.

FUENTE: Elaboración propia



Figura 13. Aplicación de diclofenaco.

FUENTE: Elaboración propia



Figura 14. Aplicación de gel a base de Hierba Santa “Cestrum hediondinun” al 2% y 10%.

FUENTE: Elaboración propia

3.4.1. Intervención piloto

La intervención piloto tuvo como finalidad, verificar previamente si el método de extracción tiene eficacia, ello debido a que las hojas de hierba santa son utilizadas en compresa por lo que, se diseñó tres grupos experimentales uno, con el extracto proveniente de la expresión de las hojas frescas, y el extracto metanólico proveniente de un método de extracción con disolventes denominado Soxhlet, todo ello con la participación de un grupo control. Los resultados se exponen.

Tabla 4. Área bajo la curva: Grupo control, Intervención Piloto

N° Animal	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 5
1	57.315	123.78	133.54	301.22
2	66.875	136.25	141.25	300
3	56.47	117.06	122.945	256.47

FUENTE: Elaboración propia

GRÁFICO N° 1: Área bajo la curva del cambio porcentual: Grupo control, Intervención Piloto

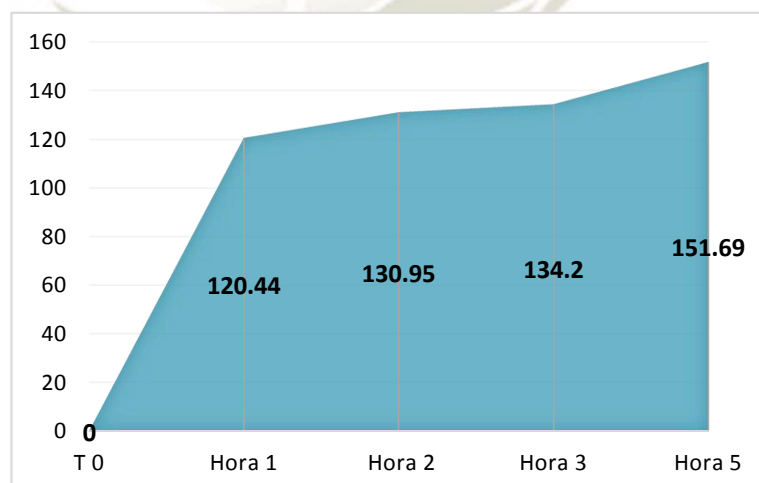


Tabla 5. Área bajo la curva: Grupo Extracto metanólico, Intervención Piloto

N° Animal	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 5
1	51.65	93.41	75.825	130.77
2	62.355	121.18	108.235	170.58
3	51.265	99.365	84.81	141.77

FUENTE: Elaboración propia

GRÁFICO N° 2: Área bajo la curva del cambio porcentual: Grupo Extracto metanólico, Intervención Piloto

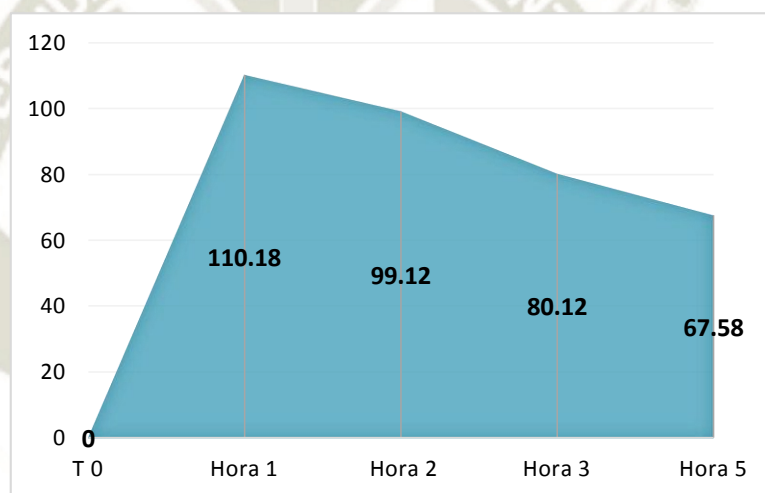
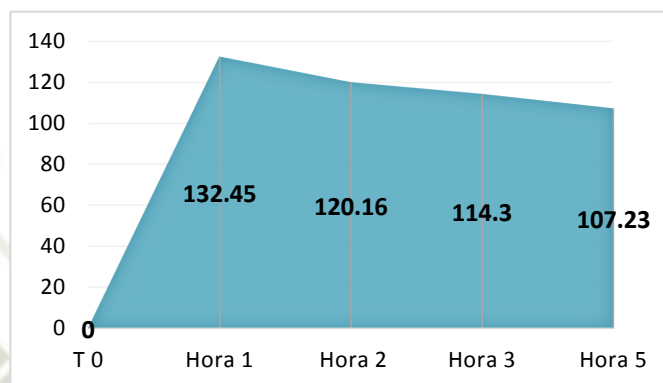


Tabla 6. Área bajo la curva: Grupo Extracto expresión, Intervención Piloto

N° Animal	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 5
1	58.525	115.91	112.5	213.64
2	81.325	153.01	140.96	265.06
3	58.825	110	98.235	185.88

FUENTE: Elaboración propia

GRÁFICO N° 3: Área bajo la curva del cambio porcentual: Grupo Extracto expresión, Intervención Piloto



Las tablas N° 4, 5 y 6 y sus respectivos gráficos N° 1, 2 y 3, muestran los resultados de la intervención piloto, las tablas exponen los resultados hallados del área bajo la curva trazada por los cambios porcentuales en cada tiempo de medición (Hora 1, 2, 3 y 5). Estos cambios porcentuales en promedio por cada tiempo de medición se exponen en los gráficos respectivos, con cada valor en cada tiempo se halló el área bajo la curva.

Para comparar la respuesta al tratamiento en cuanto al proceso inflamatorio, es necesario realizar la sumatoria de todos los tiempos de cada grupo. Los promedios de dichas sumatorias, así como su análisis estadístico se observan en los resultados de la tabla N° 7.

Tabla 7. Análisis de la Sumatoria total de las Áreas bajo la curva: Todos los grupos, Intervención Piloto

Variable	Media	D. Est.	Min.	Max.	Rango
Control	604.4	46.8	553.0	615.9	91.4
E. Metanólico	397.1	58.0	351.7	377.2	110.7
E. Expresión	531.3	97.4	452.9	500.6	187.4

FUENTE: Elaboración propia

Todos los resultados estadísticos (Tablas N ° 7, 8 y 9) se realizaron en el software de análisis estadístico conocido como Minitab 18. Los resultados de la tabla 7 indican que el grupo con menor promedio de volumen de inflamación, que es lo mismo, que el menos inflamado, es el grupo tratado en la intervención piloto con extracto metanólico con 397.1 en promedio, seguido del grupo tratado con extracto de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) por expresión con 531.3, finalmente el grupo control con 604.4 en promedio.

El análisis de anova ejecutado en Minitab 18, muestra un valor de probabilidad de $p= 0.030$, y como se trabajó con un nivel de confianza del 95%, este valor es menor al mínimo permitido ($P= 0.05$) para rechazar la hipótesis de nulidad. Por lo que concluimos los grupos experimentales en la intervención pilotos son estadísticamente diferentes entre sí.

Tabla 8. Análisis de varianza, Intervención Piloto

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	2	66342	33171	6.62	0.030
Error	6	30073	5012		
Total	8	96415			

FUENTE: Elaboración propia

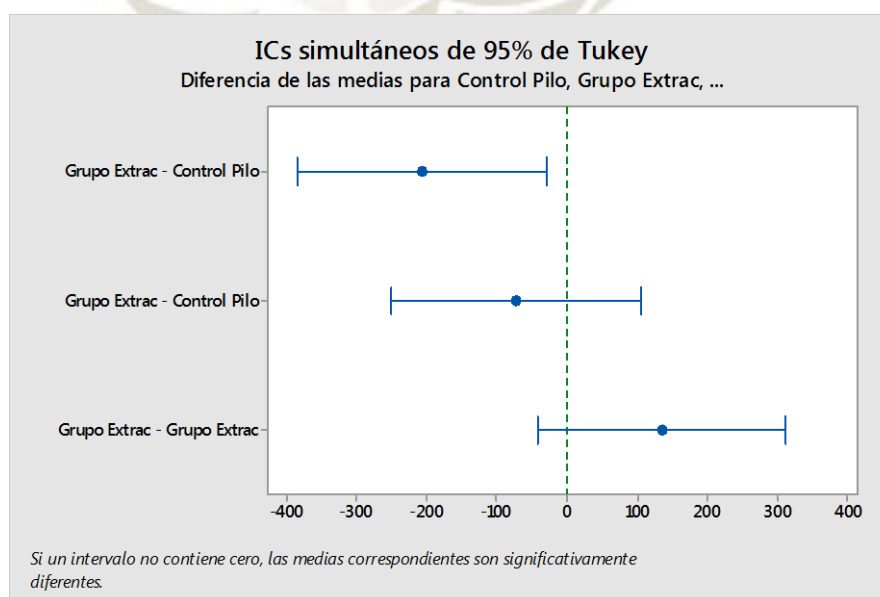
Tabla 9. Test de Tukey, Intervención Piloto

Factor	N	Media	Agrupación*	
Control	3	604.4	A	
E. Expresión	3	531.3	A	B
E. Metanólico	3	397.1	B	

* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

FUENTE: Elaboración propia

La tabla N° 9 muestra los resultados que por defecto genera el programa estadístico Minitab 17 del análisis Test de Tukey, como indica la nota a pie de cuadro las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, en atención a ello se aprecia que el grupo control es diferente estadísticamente del grupo tratado con extracto metanólico de *Cestrum hediondinum* (hierba santa), ya que ambos no comparten letra alguna, por su parte el extracto por expresión de las hojas frescas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa), comparten una letra no solo con el extracto metanólico sino también con el control, por lo que su actividad piloto no es del todo clara, razón por la cual se decidió trabajar solo con el extracto metanólico de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) obtenido mediante equipo de destilación Soxlet.



FUENTE: Elaboración propia

3.4.2. Intervención final

La intervención final incluyó al tratamiento consistente en extracto metanólico de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa), ya que este tuvo mejores resultados en la intervención inicial, además a este extracto se le incorporó a una forma farmacéutica en gel en dos concentraciones al 2 y 10%. El grupo farmacológico estuvo constituido por un tratamiento de gel de diclofenaco al 1%, como especialidad farmacéutica con denominación común internacional.

Tabla 10. Área bajo la curva: Grupo control, Intervención Final

N° Animal	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 5
1	49.41	106.47	118.825	278.82
2	58.535	118.29	122.56	265.85
3	57.535	122.605	136.99	310.96
4	49.38	100.615	106.79	248.15
5	60.415	125.69	136.11	313.89

FUENTE: Elaboración propia

GRÁFICO N° 5: Área bajo la curva del cambio porcentual: Grupo control, Intervención Final

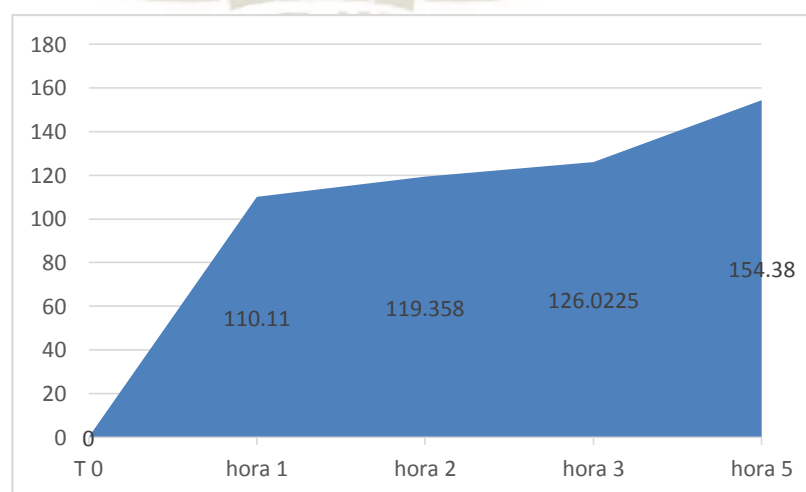


Tabla 11. Área bajo la curva: Grupo Extracto Metanólico, Intervención Final

N° Animal	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 5
1	45.18	98.19	91.565	163.86
2	59.24	113.045	105.435	165.22
3	70.29	130.435	110.145	179.71
4	65.115	115.695	94.185	151.16
5	69.85	135.29	119.85	189.70

FUENTE: Elaboración propia

GRÁFICO N° 6: Área bajo la curva del cambio porcentual: Grupo Extracto metanólico, Intervención Final

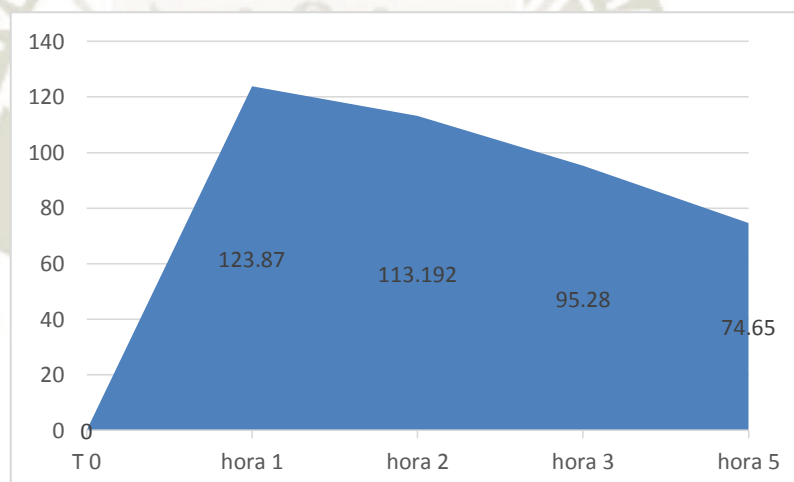


Tabla 12. Área bajo la curva: Grupo Gel al 2%, Intervención Final

N° Animal	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 5
1	65.43	127.16	122.225	232.1
2	67.035	125.825	115.385	217.59
3	83.335	158.335	145.455	275.76
4	63.89	123.335	118.335	225.56
5	61.045	117.44	111.625	217.44

FUENTE: Elaboración propia

**GRÁFICO N° 7: Área bajo la curva del cambio porcentual: Grupo gel al 2%,
Intervención Final**

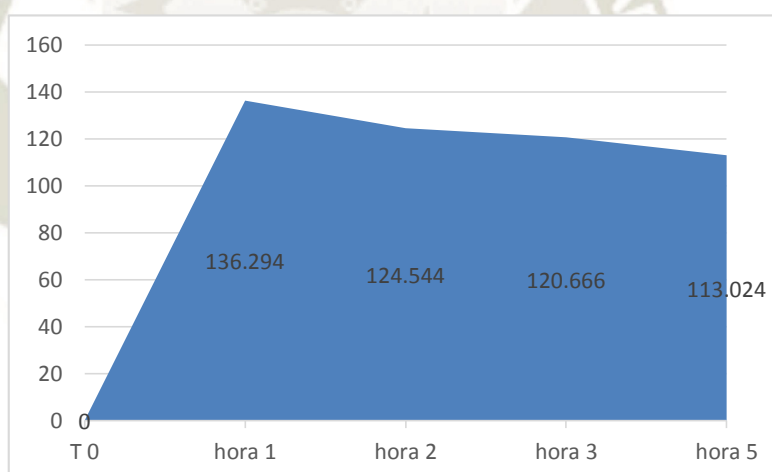


Tabla 13. Área bajo la curva: Grupo Gel al 10%, Intervención Final

N° Animal	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 5
1	44.15	94.15	98.935	193.61
2	54.86	114.58	106.25	177.78
3	53.085	105.555	88.89	138.27
4	48.025	100	95.395	177.63
5	51.135	97.16	87.5	155.67

FUENTE: Elaboración propia

GRÁFICO N° 8: Área bajo la curva del cambio porcentual: Grupo gel al 10%, Intervención Final

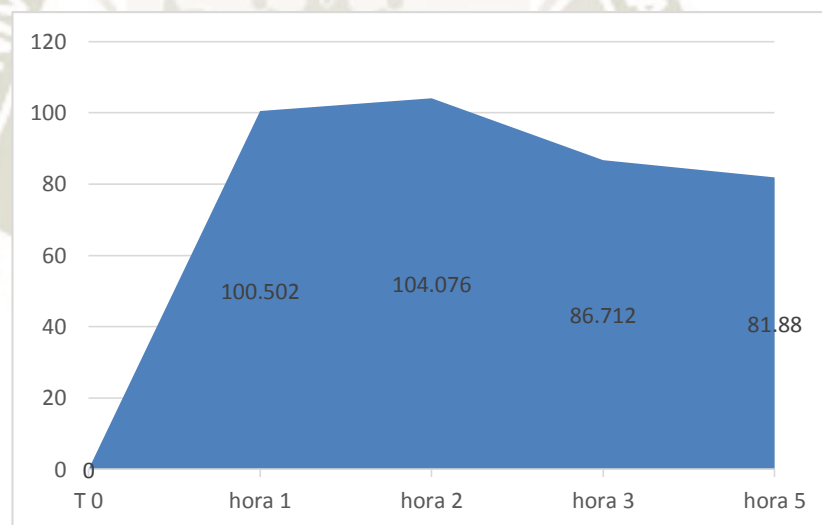
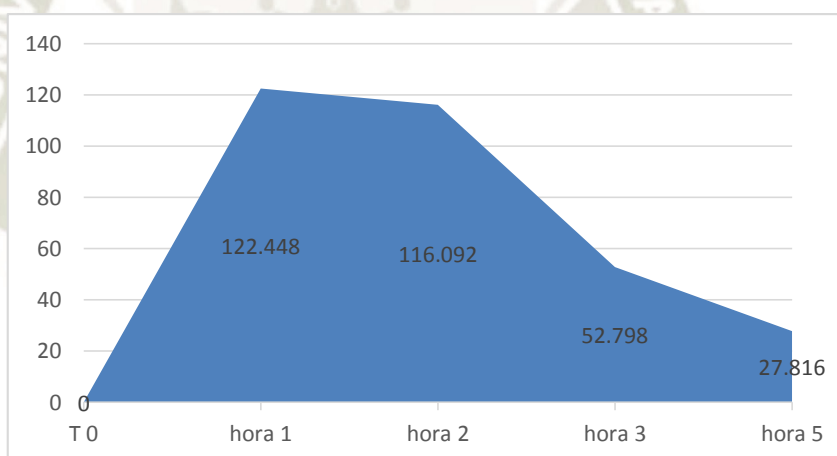


Tabla 14. Área bajo la curva: Grupo Farmacológico, Intervención Final

N° Animal	Hora 1	Hora 2	Hora 3	Hora 5
1	73.685	130.265	71.71	53.94
2	69.1	132.585	81.465	57.31
3	42.17	100.605	90.365	85.55
4	69.315	119.315	82.385	98.86
5	51.85	113.58	96.3	107.41

FUENTE: Elaboración propia

GRÁFICO N° 9: Área bajo la curva del cambio porcentual: Grupo farmacológico, Intervención Final



Las tablas N° 10, 11, 12, 13 y 14 y sus respectivos gráficos N° 5, 6, 7, 8 y 9, muestran los resultados de la intervención final, al igual que la intervención piloto estas tablas exponen los resultados hallados del área bajo la curva trazada por los cambios porcentuales en cada tiempo de medición (Hora 1, 2, 3 y 5). Estos cambios porcentuales en promedio por cada tiempo de medición se exponen en los gráficos respectivos, con cada valor en cada tiempo se halló el área bajo la curva.

Para comparar la respuesta al tratamiento en cuanto al proceso inflamatorio, es necesario realizar la sumatoria de todos los tiempos de cada grupo.

Los promedios de dichas sumatorias, así como su análisis estadístico se observan en los resultados de la tabla N° 15.

Los resultados de la tabla 15 indican que el grupo con menor promedio de volumen de inflamación o el menos inflamado, es el grupo tratado con gel al 1% de diclofenaco con 345.6, seguido del grupo tratado con Gel de hojas de hierba santa al 10% con 416.5; posteriormente continua el grupo tratado con extracto de hojas de *Cestrum hediondinum* con 454.6, el grupo con gel al 2% con 554.9 y finalmente el grupo control.

Tabla 15. Análisis de la Sumatoria total de las Áreas bajo la curva: Todos los grupos, Intervención Final

Variable	Media	Desv.Est.	Mínimo	Máximo	Rango
Grupo Control	577.6	54.7	504.9	636.1	131.2
Grupo Extracto	454.6	47.3	398.8	514.7	115.9
Grupo Gel 2%	554.9	62.0	507.6	662.9	155.3
Grupo Gel 10%	416.5	28.1	385.8	453.5	67.7
Grupo Farmacologico	345.6	23.2	318.7	369.9	51.2

FUENTE: Elaboración propia

Tabla 16. Análisis de varianza, Intervención Final

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	186786	46696	22.43	0.000
Error	20	41639	2082		
Total	24	228425			

FUENTE: Elaboración propia

El análisis de anova ejecutado en Minitab 18 cuyos resultados se encuentran con sus valores por defecto en la tabla N° 16, en ella se muestra un valor de probabilidad de $p= 0.000$, y como se trabajó con un nivel de confianza del 95%, este valor es menor al mínimo permitido ($P= 0.05$) para rechazar la hipótesis de

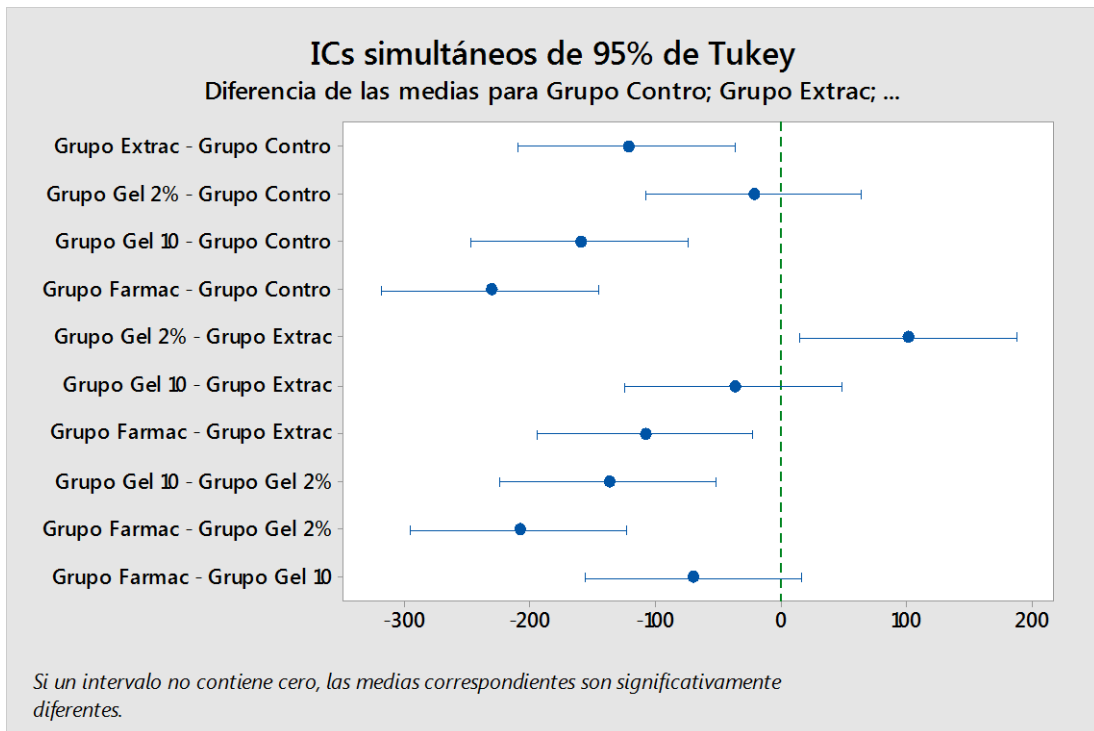
nulidad. Por lo que concluimos los grupos experimentales en la intervención final son estadísticamente diferentes entre sí.

Tabla 17. Test de Tukey, Intervención Final

Factor	N	Media	Agrupación	
Grupo Control	5	577.6	A	
Grupo Gel 2%	5	554.9	A	
Grupo Extracto	5	454.6	B	
Grupo Gel 10%	5	416.5	B	C
Grupo Farmacologico	5	345.6	C	

* Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes
FUENTE: Elaboración propia

La tabla N° 17 muestra los resultados que por defecto genera el programa estadístico Minitab 18 del análisis Test de Tukey, como indica la nota a pie de cuadro las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, por lo que se concluye grupo control es diferente estadísticamente del grupo tratado con gel de diclofenaco al 1%, siendo este último el de mayor eficacia antiinflamatoria ya que goza del menor promedio de sumatoria de área bajo la curva en promedio, en cuanto al grupo tratado con gel con extracto de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) al 10%, concluimos que tiene una eficacia moderada ya que se ubica entre el promedio control y el grupo farmacológico, sin embargo, comparte con este último, por lo que su eficacia tiene una tendencia a la eficacia farmacológica. El grupo tratado con extracto metanólico solamente tiene una eficacia moderada bien definida ya que no comparte letra con ningún otro grupo experimental. El grupo tratado con gel al 2% no tendría mayor eficacia ya que su respuesta es similar al control.



FUENTE: Elaboración propia

4. DISCUSIÓN

La inflamación es el nombre genérico que engloba a un grupo de reacciones en el tejido conjuntivo vascular como respuesta a una agresión endógena o exógena. En este proceso intervienen factores solubles y células, que se denominan mediadores inflamatorios. El objetivo final de la inflamación es la defensa frente a la agresión, de tal manera que se libera al organismo de dicho agente etiológico, así como del daño que se ha producido. Si no existiera la inflamación, los microorganismos nos invadirían y destruirían, y la cicatrización de heridas o la reparación de los traumatismos no se llevarían a cabo. Sin embargo, en ocasiones la reacción inflamatoria y la reparación pueden ser perjudiciales. Por tanto, aparece aquí un aspecto paradójico del fenómeno inflamatorio ⁽³⁰⁾.

Ciertamente como mecanismo de defensa o como etiología de alguna enfermedad, el proceso inflamatorio suele ser manifiesto, y una de sus expresiones más común es el dolor. Las personas recurren a medidas terapéuticas de diversa índole, entre ellas, se encuentran las plantas medicinales, como la que se estudió en la presente investigación, planta que es muy utilizada por sus efectos antiinflamatorios; y, a través de un trabajo de investigación científica se indagó no solo sobre este supuesto efecto sino también sobre su fitoquímica preliminar.

La conclusión principal de nuestro trabajo de investigación, está relacionado con nuestra hipótesis de estudio, en este contexto y en base al análisis estadístico (Anova y Test de Tukey) indica para el grupo tratado con gel con extracto de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) al 10%, es el grupo que tienen mayor eficacia junto con el grupo tratado con el extracto metanólico, ello se desprende porque no tienen similitud con el grupo control sin embargo, esta eficacia se ubicó por debajo del grupo farmacológico.

En cuanto al extracto, el resultado está en relación con otros estudios incluso a nivel local, como por ejemplo en el caso de la liga (*Ligaria cuneifolia*) en donde se evaluó un extracto etanólico, se concluyó que: “Finalmente el grupo tratado con extracto etanólico de suelda con suelda presenta una actividad antiinflamatoria “intermedia” ⁽³¹⁾, ya que se ubica entre las columna que contiene al grupo control y

la que contiene al grupo con diclofenaco al 1%”, probablemente ello se deba a la presencia del extracto total que es aplicado directamente sobre la zona afectada, sin embargo, es poco probable, por razones de costo sobre todo, hacer una forma farmacéutica utilizando la totalidad del extracto, es decir, con concentraciones al 50% por citar alguna concentración, ya que ello conllevaría a incorporar una gran cantidad de extracto, con las dificultades farmacotécnicas que ello implica. Cuestión aparte resulta la eficacia del gel que al contener solo un 10% de extracto por cada 100 gramos de gel, mostro similar eficacia inflamatoria que aquel, que fue administrado anteriormente en forma intacta. Esta respuesta positiva puede deberse a la base que contiene al gel y permite la presencia continua del conjunto activo en la zona de aplicación.

En el transcurso de la investigación se pensó incrementar la concentración para el diseño de un nuevo gel, con una concentración nueva y arbitraria del 20%, lo que implicaría mayor adición de extracto, sin embargo se tuvo en cuenta, que en la terapéutica tópica y su relación con los vehículo y excipientes utilizados se menciona que: Dentro de cada vehículo hay una concentración máxima efectiva para cada medicamento de manera que, aunque se aumente esta concentración, no se mejoran los resultados terapéuticos ⁽²¹⁾.

Sin duda esta última afirmación puede deberse a que la piel no es una buena zona de absorción más bien resulta una barrera, y la zona de aplicación por su área suele ser limitada y circunscrita a una pequeña área en parangón con la superficie total que ofrece el duodeno, razón por la cual concluimos que un gel al 10% de extracto de hierba santa, es la concentración final y eficaz, y de apreciar los mismos resultados en seres humanos estaría destinado al uso continuo de procesos inflamatorios probablemente coadyuvando a la terapéutica farmacológica.

Es importante también recalcar que nuestro estudio confirma otros que a pesar de utilizar solo el extracto y otros fármacos de referencia o de control positivo, se apreció resultados significativos con una eficacia antiinflamatoria incluso similar a la indometacina (para el extracto etanólico) ⁽³²⁾. Lo que confirma nuestro estudio sin embargo consideramos importante haber incorporado el extracto en una farmacéutica, la que como mencionamos también evidencio actividad antiinflamatoria. Por lo que la eficacia sobre el proceso inflamatorio no es un aspecto

aislado de la droga bajo estudio, probablemente sería necesario considerar la fitoquímica de esta especie.

En cuanto a los responsables de la acción farmacológica, si bien es cierto, establecer una relación de causalidad con una determinada estructura química no fue objetivo de la presente investigación, no podemos dejar de lado – a la luz que sobre actividad farmacológica y metabolismo secundario se conoce hasta el momento – explicar las posibles relaciones entre estructura química y efecto farmacológico.

La marcha fitoquímica preliminar realizada mediante el método de cromatografía en capa fina se reveló la presencia de triterpenos, esteroides, lactonas sesquiterpénicas y saponinas, probablemente la acción de deba a un efecto conjunto, ya que incluso las lactonas sesquiterpénicas se han relacionado con actividades antiinflamatoria, antitumoral y citotóxica.

En otros estudios en donde se evaluó la Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto cloformico de huamanpinta; la marcha fitoquímica demostró la presencia de alcaloides, taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos, esteroides, lactonas, antranas, naftoquinonas y principios amargos, pero en extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa*. Los resultados muestran que son los flavonoides, los triterpenos y esteroides los más abundantes en este extracto y serían los responsables del efecto antioxidante, antiinflamatorio e inmunomodulador ⁽³³⁾.

Tal como lo afirma este último autor que la presencia de sustancias como alcaloides taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos, esteroides, lactonas, antranas, naftoquinonas y principios amargos se encuentran en extractos acuosos y etanolicos, y el ser nuestro disolvente el metanol, es probable que el tenor de estos metabolitos en el extracto obtenido sea considerable, de allí no solo la presencia evidenciada mediante cromatografica sino también la propia actividad farmacológica.

Finalmente, en esta misma línea de discusión se aproxima la evaluación preclínica del jugo de morinda, en donde se afirma que: los resultados del tamizaje fitoquímico realizado al fruto verde y maduro coincide con lo planteado en la literatura revisada. Es importante el reconocimiento de los metabolitos esenciales para intentar establecer posibles correspondencias entre sustancias y acciones

farmacológicas de la planta. En el caso específico de la acción antiinflamatoria, pudiera relacionarse con la presencia de flavonoides, esteroides y triterpenos ⁽³⁴⁾.

Para más adelante comentar en este mismo estudio que: la presencia de flavonoides, triterpenos y esteroides encontrados en el tamizaje fitoquímico realizado pudieran explicar esta acción y justificar el empleo de la planta en el tratamiento agudo de afecciones con componente inflamatorio ⁽³⁴⁾.



5. CONCLUSIONES

Primera

Se evaluó el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de hojas de *Cestrum hediondinum* conocida como hierba santa, mediante el método de edema plantar inducido en ratas de laboratorio.

Segunda

Se desarrolló dos procedimientos para la obtención de extractos de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) uno fue la extracción mediante destilación en equipo Soxhlet, este método presentó un rendimiento del 30.85%, el otro método fue el método de expresión tuvo un rendimiento de 19.25%.

Tercera

Se formuló un gel con extracto de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) en dos concentraciones al 2 y 10%. La base gel utilizada fue el gel de carbopol.

Cuarta

Mediante cromatografía en capa fina aplicada al extracto metanólico de hojas de *Cestrum hediondinum* obtenido mediante destilación en equipo Soxhlet se revelo los siguientes metabolitos secundarios: Saponinas, lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, esteroides y taninos.

Quinta

El análisis estadístico Anova y Test de Tukey ejecutado en el programa Minitab 18 indica para el grupo tratado con gel de extracto de hojas de *Cestrum*

hediondinum (hierba santa) al 10%, tiene una eficacia moderada ya que se ubica entre el promedio extracto metanólico y el grupo farmacológico, sin embargo, comparte letra con este último, por lo que su eficacia tiene una tendencia a la eficacia farmacológica. El grupo tratado con extracto metanólico solamente tiene una eficacia moderada bien definida ya que solo comparte letra con el grupo gel al 10%. El grupo tratado con gel al 2% no tendría mayor eficacia ya que su respuesta es similar al control.



6. SUGERENCIAS

Primera

Realizar un estudio para determinar la seguridad del extracto de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) tanto por vía oral como tópica.

Segunda

Realizar una marcha fitoquímica completa al extracto de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa) mediante un método analítico cuantitativo.

Tercera

Realizar evaluaciones de comprobación farmacológica para las otras actividades de las de hojas de *Cestrum hediondinum* (hierba santa).

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarado Alva J.: Apuntes de Farmacología. 3ª Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
2. Argimon Pallás J. y Jiménez Villa J.: Métodos de Investigación Clínica y Epidemiológica. 4ª Edición. 2013. Editorial Elsevier, Barcelona, España.
3. Baez Castillo Glenda: Determinación del efecto antiinflamatorio de los extractos hexánicos, etanólicos y clorofórmicos de las plantas medicinales: *Brusera aloexylon*, *Amphyteryngium adstringens*, *Tilia mexicana*, *Verbascum thapsus*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia hispánica*, *Aloe vera*, *Opuntia ficus-indica* en un modelo animal. Universidad de las Américas. 2007. Puebla México.
4. Brack Egg Antonio: Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. 1ª Edición. 1999. Lima, Perú.
5. Bravo Díaz Luis: Farmacognosia. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
6. Bruneton J.: Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.
7. Brunton L, Chabner B. Knollman B.: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 12ª Edición. 2012. McGraw-Hill Interamericana. México
8. Carrasco Díaz S.; Metodología de la Investigación Científica, 1ª Edición. 2005. Editorial San Marcos. Lima, Perú.
9. Castillo García E., Martínez Solís I.: Manual de Fitoterapia. 2ª Edición. 2014. Editorial Elsevier Masson. España.
10. Celis de la Rosa A. y Labrada Martagón V.: Bioestadística. 3ª Edición. 2014. Editorial El Manual Moderno, México.
11. Cotran Ramzi S. y otros: Robbins Patología Estructural y Funcional. 6ª Edición. 2000. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Méxicom.
12. Flores Ojeda M. y Manrique Rodriguez S.: Evaluación del Efecto cicatrizante del extracto y gel del *Calceolaria lobata* (borragilla) en animales de

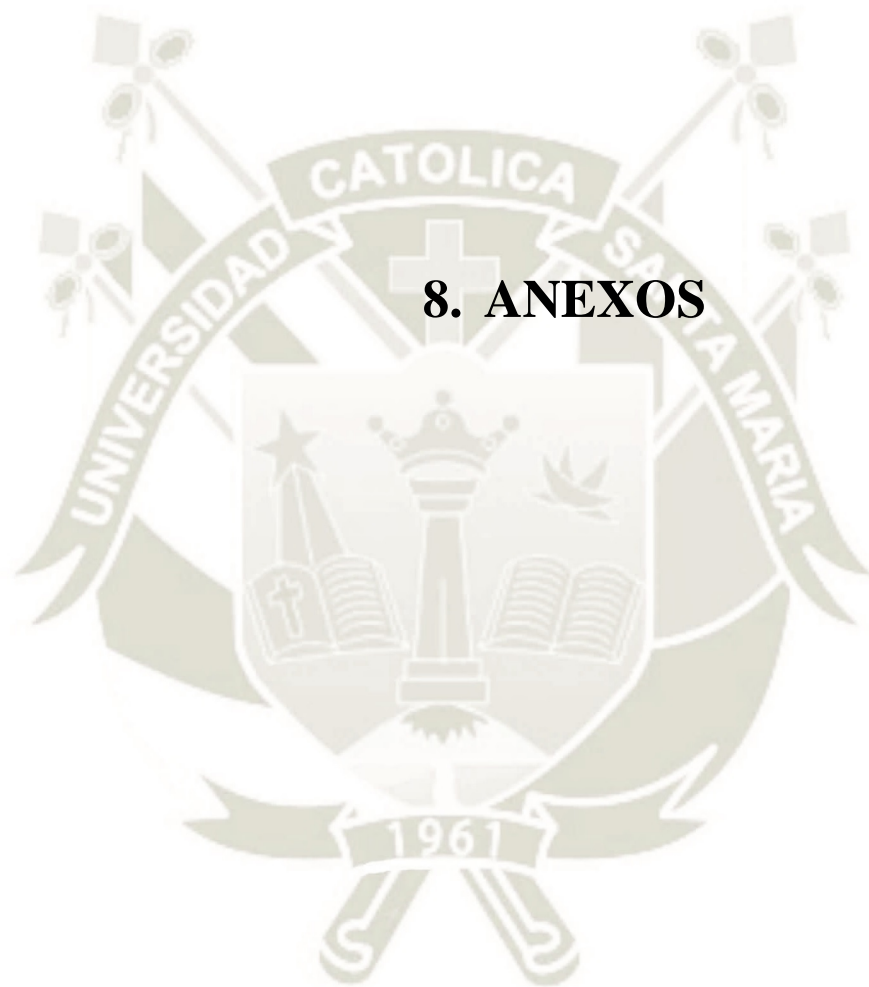
- experimentación. Arequipa 2009. Universidad Católica de Santa María. Arequipa Perú.
13. Flórez Jesús (Dir.): Farmacología Humana, 6ª Edición. 2014. Editorial Elsevier España. Barcelona España.
 14. Ganong William: Ganong Fisiología Médica. 23ª Edición, 2010. Editorial McGraw Hill-Interamericana. México.
 15. Harvey Richard. (Editor): Farmacología. 5ª Edición, 2014. Editorial Lippincott Williams Wilkins. España.
 16. Kalant Harold & Roschlau Walter: PRINCIPIOS BÁSICOS DE FARMACOLOGÍA MÉDICA. 6ª Edición, 2002. Editorial Oxford University Press. México.
 17. Katzung Bertram G.: Farmacología Básica y Clínica. 13ª Edición, 2016. Editorial McGraw Hill Interamericana. México.
 18. Kukllinski C.: Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas De Origen Natural, 1ª Edición, 2000. Ediciones Omega S.A.
 19. Lamarque Alicia (Coord.): Fundamentos Teórico Prácticos de Química Orgánica. 1ª Edición. 2011. Editorial Brujas, Córdoba Argentina.
 20. Lock de Ugaz O.: Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio De Productos Naturales. 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
 21. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C. y Moro M.A.: Velázquez Farmacología Básica
 22. Ministerio de Sanidad y Consumo de España: Formulario Nacional, 1ª Edición. 2003. Editorial Ministerio de Sanidad y Consumo de España.
 23. Moreyra Ramos P., Quiroz Huaranca M.: Evaluación del Efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las partes aereas de *Cajophora rosulata* (ortiga colorada) en edema plantar inducido en animales de experimentación. Diciembre 2012. Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa, Perú 2013.
 24. Pasto Daniel y Carl Johnson: Fundamentos Determinación de Estructuras Orgánicas. 1ª Edición. 2003. Editorial Reverté S.A, España.

25. Pavón Romero Lenin y otros: Inmunología molecular, celular y traslacional. 1ª Edición. 2016. Editorial Wolters Kluwer. Philadelphia, USA.
26. Rowe R.; Sheskey P. & Owen S. (Editores): Handbook Of Pharmaceutical Excipients. 5ª Edición. 2006. Pharmaceutical Press.
27. Sotta Apaza Norma: Plantas Medicinales y Aromáticas de la Región Arequipa. 1ª Edición 2000. Ediciones CORDAID.
28. Vila Jato José Luis (Editor): Tecnología Farmacéutica. 1ª Edición 2001. Editorial Síntesis S.A.
29. Villar del Fresno A. (Editor): Farmacognosia General. 1ª Edición 2000. Editorial Síntesis S.A.
30. Martín Duce Antonio. (Editor): Patología Quirúrgica. 1ª Edición 2005. Editorial Elsevier S.A. Madrid España.
31. Gutiérrez Mamani Eliana y Muñoz Pariguana Gracia: Efecto antiinflamatorio tópico del extracto y crema de las hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) en ratas con inflamación inducida experimentalmente. Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa, Perú 2014.
32. Curinambe Torres Walter y Zelada Sánchez Irma: Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum Heritier* “hierba santa” en ratas con inducción a inflamación. Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. Lima, Perú 2018.
33. Ramirez Roca Emilio: Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* “humanpinta”. Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa, Perú 2014.
34. Rodriguez Rivas y otros: Evaluación preclínica del efecto antiinflamatorio del jugo de *Morinda citrifolia* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales V. 10 n.3-4. Habana, Cuba. 2005.
35. Fármacos antiinflamatorios AINES, <http://www.svreumatologia.com/wp-content/uploads/2008/04/Cap-26-Antiinflamatorios-no-esteroides.pdf>.

36. Diclofenaco mecanismo de acción <https://es.slideshare.net/danielzavala/376/diclofenaco>.
37. Preparaciones farmacéuticas, <https://es.scribd.com/doc/229754980/POMADAS-PASTAS-Y-GELES>.



8. ANEXOS



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rendimiento de la Recolección.....	35
Tabla 2. Rendimiento promedio de la extracción Soxhlet	36
Tabla 3. Rendimiento promedio de la extracción por Expresión.....	36
Tabla 4. Área bajo la curva: Grupo control, Intervención Piloto.....	43
Tabla 5. Área bajo la curva: Grupo Extracto metanólico, Intervención Piloto.....	44
Tabla 6. Área bajo la curva: Grupo Extracto expresión, Intervención Piloto	44
Tabla 7. Análisis de la Sumatoria total de las Áreas bajo la curva: Todos los grupos, Intervención Piloto	45
Tabla 8. Análisis de varianza, Intervención Piloto	46
Tabla 9. Test de Tukey, Intervención Piloto	47
Tabla 10. Área bajo la curva: Grupo control, Intervención Final	48
Tabla 11. Área bajo la curva: Grupo Extracto Metanólico, Intervención Final.....	49
Tabla 12. Área bajo la curva: Grupo Gel al 2%, Intervención Final	50
Tabla 13. Área bajo la curva: Grupo Gel al 10%, Intervención Final	51
Tabla 14. Área bajo la curva: Grupo Farmacológico, Intervención Final	52
Tabla 15. Análisis de la Sumatoria total de las Áreas bajo la curva: Todos los grupos, Intervención Piloto	53
Tabla 16. Análisis de varianza, Intervención Piloto	53
Tabla 17. Test de Tukey, Intervención Final	54

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN PILOTO, GRUPO CONTROL.	70
ANEXO 2. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN PILOTO, GRUPO EXTRACTO SOXHLET.	70
ANEXO 3. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN PILOTO, GRUPO EXTRACTO EXPRESIÓN.....	71
ANEXO 4. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO CONTROL.....	72
ANEXO 5. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO EXTRACTO SOXHLET.....	72
ANEXO 6. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO GEL CON EXTRACTO AL 2%.	73
ANEXO 7. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO GEL CON EXTRACTO AL 10%.	74
ANEXO 8. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO GEL CON DICLOFENACO AL 1%.	75
ANEXO 9. CONSTANCIA DE IDENTIFICACION Y TIPIFICACION	76

ANEXO 1. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN PILOTO, GRUPO CONTROL.

Magnitud	N° animal	Basal	Horas de medición post carragenina			
			1	2	3	5
Ml en pletismómetro	1	0.82	1.76	1.91	1.92	2.19
	2	0.8	1.87	1.91	1.95	2.05
	3	0.85	1.81	1.88	1.91	1.97
Cambio porcentual	1		114.63	132.93	134.15	167.07
	2		133.75	138.75	143.75	156.25
	3		112.94	121.18	124.71	131.76
	Promedio			120.44	131	134.2

FUENTE: Elaboración propia

ANEXO 2. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN PILOTO, GRUPO EXTRACTO SOHXLET.

Magnitud	N° animal	Basal	Horas de medición post carragenina			
			1	2	3	5
Ml en pletismómetro	1	0.91	1.85	1.67	1.53	1.48
	2	0.85	1.91	1.85	1.69	1.46
	3	0.79	1.6	1.55	1.37	1.33
Cambio porcentual	1		103.3	83.52	68.13	62.64
	2		124.71	117.65	98.82	71.76
	3		102.53	96.2	73.42	68.35
	Promedio			110.18	99.12	80.12

FUENTE: Elaboración propia

ANEXO 3. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN PILOTO, GRUPO EXTRACTO EXPRESIÓN.

Magnitud	N° animal	Basal	Horas de medición post carragenina			
			1	2	3	5
Ml en pletismómetro	1	0.88	1.91	1.89	1.85	1.79
	2	0.83	2.18	2.02	1.98	1.88
	3	0.85	1.85	1.72	1.65	1.63
Cambio porcentual	1		117.05	114.77	110.23	103.41
	2		162.65	143.37	138.55	126.51
	3		117.65	102.35	94.12	91.76
	Promedio			132.45	120.16	114.3

FUENTE: Elaboración propia



ANEXO 4. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO CONTROL.

Magnitud	N° animal	Basal	Horas de medición post carragenina			
			1	2	3	5
Ml en pletismómetro	1	0.85	1.69	1.82	1.9	2.17
	2	0.82	1.78	1.8	1.85	1.97
	3	0.73	1.57	1.68	1.78	1.95
	4	0.81	1.61	1.64	1.71	1.92
	5	0.72	1.59	1.66	1.74	1.96
Cambio porcentual	1		98.82	114.12	123.53	155.29
	2		117.07	119.51	125.61	140.24
	3		115.07	130.14	143.84	167.12
	4		98.76	102.47	111.11	137.04
	5		120.83	130.55	141.67	172.22
		Promedio		110.11	119.358	126.0225

FUENTE: Elaboración propia

ANEXO 5. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO EXTRACTO SOXHLET.

Magnitud	N° animal	Basal	Horas de medición post carragenina			
			1	2	3	5
Ml en pletismómetro	1	0.83	1.58	1.71	1.47	1.55
	2	0.92	2.01	1.91	1.87	1.49
	3	0.69	1.66	1.52	1.38	1.24
	4	0.86	1.98	1.73	1.61	1.41
	5	0.68	1.63	1.57	1.42	1.23
Cambio porcentual	1		90.36	106.02	77.11	86.75
	2		118.48	107.61	103.26	61.96
	3		140.58	120.29	100	79.71
	4		130.23	101.16	87.21	63.95
	5		139.7	130.88	108.82	80.88
		Promedio		123.87	113.192	95.28

FUENTE: Elaboración propia

ANEXO 6. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO GEL CON EXTRACTO AL 2%.

Magnitud	N° animal	Basal	Horas de medición post carragenina			
			1	2	3	5
Ml en pletismómetro	1	0.81	1.87	1.81	1.79	1.71
	2	0.91	2.13	1.98	1.94	1.86
	3	0.66	1.76	1.65	1.59	1.55
	4	0.9	2.05	1.97	1.96	1.87
	5	0.86	1.91	1.83	1.81	1.78
Cambio porcentual	1		130.86	123.46	120.99	111.11
	2		134.07	117.58	113.19	104.4
	3		166.67	150	140.91	134.85
	4		127.78	118.89	117.78	107.78
	5		122.09	112.79	110.46	106.98
		Promedio		136.294	124.544	120.666

FUENTE: Elaboración propia

**ANEXO 7. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE
VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE
INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO GEL CON EXTRACTO AL 10%.**

Magnitud	N° animal	Basal	Horas de medición post carragenina			
			1	2	3	5
Ml en pletismómetro	1	0.94	1.77	1.88	1.86	1.84
	2	0.72	1.51	1.58	1.39	1.33
	3	0.81	1.67	1.66	1.4	1.34
	4	0.76	1.49	1.55	1.42	1.45
	5	0.88	1.78	1.69	1.61	1.52
Cambio porcentual	1		88.3	100	97.87	95.74
	2		109.72	119.44	93.06	84.72
	3		106.17	104.94	72.84	65.43
	4		96.05	103.95	86.84	90.79
	5		102.27	92.05	82.95	72.72
		Promedio		100.502	104.076	86.712

FUENTE: Elaboración propia

ANEXO 8. TABLA DE RESULTADOS DE LA MEDICION DE VOLUMENES DE EDEMA PLANTAR HECHOS EN LA PRUEBA DE INTERVENCIÓN FINAL, GRUPO GEL CON DICLOFENACO AL 1%.

Magnitud	N° animal	Basal	Horas de medición post carragenina			
			1	2	3	5
Ml en pletismómetro	1	0.76	1.88	1.62	0.99	0.94
	2	0.89	2.12	2.02	1.21	1.08
	3	0.83	1.53	1.8	1.36	1.01
	4	0.88	2.1	1.76	1.45	1.18
	5	0.81	1.65	1.81	1.37	1.12
Cambio porcentual	1		147.37	113.16	30.26	23.68
	2		138.2	126.97	35.96	21.35
	3		84.34	116.87	63.86	21.69
	4		138.63	100	64.77	34.09
	5		103.7	123.46	69.14	38.27
		Promedio		122.448	116.092	52.798

FUENTE: Elaboración propia

ANEXO 9. CONSTANCIA DE IDENTIFICACION Y TIPIFICACION



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



CONSTANCIA Nro. 12 -2017-HUSA

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

HACE CONSTAR:

Que la muestra fresca procedente de la localidad de Characato –Arequipa proporcionada por los Bachilleres Edgard Pinto Flores y Gladys Boza Cervantes de la Universidad Católica de Santa María, Facultad de Farmacia, Bioquímica y Biotecnología para el estudio de Identificación Biológica y Tipificación, para la ejecución de su investigación: "Efecto anti inflamatorio del extracto de "hierba santa" (*Cestrum hediondinum* Durn) en animales de experimentación 2017". Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE: ASTERIDAE
ORDEN: SOLANALES
FAMILIA: SOLANACEAE
GENERO: CESTRUM
ESPECIE: *Cestrum hediondinum* Durn

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

Arequipa 8 de Junio del 2017


Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)

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