

# UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

## FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

### PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“Efecto antiinflamatorio tópico del extracto y crema de las  
hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) en ratas con  
inflamación inducida experimentalmente”**

**Trabajo de tesis presentado por las  
bachilleres:**

**Gutiérrez Mamani, Eliana Idelsa**

**Muñoz Pariguana, Gracia Katherine**

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

**AREQUIPA – PERÚ**

**2014**

## AGRADECIMIENTOS

*Nos gustaría que estas líneas sirvieran para expresar nuestros más profundos y sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo*

*Dr. Torres una gran persona y gran asesor nuestro especial agradecimiento por el gran apoyo que nos brindó y por todos sus consejos que nos sirvieron para realizar y culminar este trabajo.*

*Especial reconocimiento merece el interés mostrado por mi trabajo y las sugerencias recibidas del Dr. José Villanueva Salas sus sabios consejos, su ayuda incondicional y experiencia nos dieron la clave para culminar esta meta de manera satisfactoria, gracias por su valiosa participación en nuestra formación profesional.*

*Mgter. Angelica Corzo Salas con la que nos encontramos deuda por el ánimo infundido y la confianza en nosotros depositada, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de estos años.*

*También nos gustaría agradecer los consejos y la ayuda recibida a la Q.F Mocita por su participación incondicional que nos brindó desde el comienzo para la realización de este trabajo.*

*Quisiera hacer extensiva mi gratitud a mis compañeros del Departamento de Farmacia y Bioquímica, Doctores del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica Por sus enseñanzas y consejos que nos sirvieron en toda nuestra formación profesional.*

*A Dios, porque siempre estuvo presente guiándonos y dándonos la fuerza que necesitamos en todo el camino.*

*Eliana y gracia*

## DEDICATORIA

*Todo mi trabajo de tesis realizado se lo dedico y agradezco a Dios ser maravilloso que me dio la fuerza y fe para creer lo que me parecía imposible terminar.*

*A mi madre por todo el esfuerzo y sacrificio para brindarme todo el amor, la comprensión el apoyo incondicional y la confianza en cada momento de mi vida y sobre todo en mis estudios universitarios, todo esto es para ti porque eres y serás la mejor madre del mundo.*

*A mi padre por ayudarme, corregirme orientarme en todos los procesos de mi vida,*

*A mi hermana por siempre hacerme reír con sus ocurrencias, a mis suegros por su ayuda moral y su preocupación por mí día a día.*

*En especial y con todo el amor del mundo a mi hijito Jossuítita y mi esposo por darme cada día darme la felicidad de que estén a mi lado, a mi hijito por darme todas las fuerzas necesarias eres lo más maravilloso que dios me ha dado, mi bitito gracias por toda tu ayuda por darme los mejores años junto a ti LOS AMO muchísimo.*

*Atte Gracia Muñoz*

*Dedico esta tesis a DIOS, al SEÑOR DE HUANCA por estar presente en todos los momentos guiándome y dándome la fe necesaria para seguir luchando, por darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentan, enseñándome a encarar las adversidades injusticias sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento .Por mostrarme día a día que con humildad, paciencia y sabiduría todo es posible.*

*A mis padres Con todo mi cariño y mi amor Cludo Gutiérrez por haberme guiado por el camino de la rectitud y a mi madre Elsa Mamani por haberme enseñado a ser una mujer fuerte y luchadora.*

*A mi hermano Víctor Gutiérrez por ser mi fortaleza y para ti tener en cuenta lo que nuestros padres nos inculcaron que todo sueño meta será difícil pero jamás imposible*

*Con cariño lo dedico a mi familia, por motivarme y darme la mano, porque creyeron en mí, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta. Admiro su fortaleza*

*Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar por todo el esfuerzo que hicieron para la culminación de mi carrera gracias por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional.*

*Eliana Gutiérrez Mamani*

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>7</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>8</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>9</b>
<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>9</b>
<b>1.1. SUELDA CON SUELDA.....</b>	<b>10</b>
1.1.1. NOMBRES COMUNES.....	10
1.1.2. DESCRIPCIÓN.....	10
1.1.3. DISTRIBUCIÓN.....	10
1.1.4. TAXONOMÍA.....	10
1.1.5. NOMBRE CIENTÍFICO.....	11
1.1.6. PARTE UTILIZADA.....	11
1.1.7. COMPOSICIÓN.....	11
1.1.8. USO MEDICINAL.....	12
1.1.9. CULTIVO.....	12
<b>1.2. INFLAMACIÓN, REACCIÓN INFLAMATORIA.....</b>	<b>12</b>
1.2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA INFLAMACIÓN.....	12
1.2.2. CÉLULAS DE LA INFLAMACIÓN.....	13
1.2.2.1 CÉLULAS ENDOTELIALES.....	13
1.2.2.2 PLAQUETAS.....	13
1.2.2.3 LEUCOCITOS.....	14
1.2.3. INFLAMACIÓN AGUDA.....	17
1.2.3.1 ETAPA VASCULAR Y CELULAR.....	18

<b>1.3. FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS.....</b>	<b>21</b>
1.3.1. DICLOFENACO.....	21
1.3.1.1 PRESENTACIONES .....	21
1.3.1.2 FARMACOCINÉTICA .....	22
1.3.1.3 FARMACODINAMIA .....	22
1.3.1.4 INDICACIONES .....	23
1.3.1.5 POSOLOGÍA.....	23
1.3.1.6 RAMS .....	24
1.3.1.7 INTERACCIONES.....	24
<b>1.4. EMULSIONES .....</b>	<b>24</b>
1.4.1. TIPOS DE EMULSIONES.....	24
1.4.1.1 EMULSIONES AGUA EN ACEITE, CREMAS (A/O) .....	24
1.4.1.2 EMULSIONES DE ACEITE EN AGUA (O/A).....	25
1.4.2. INESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES .....	25
1.4.2.1 MEDIANTE AGITACIÓN .....	26
1.4.2.2 AÑADIENDO SUSTANCIAS VISCOSIZANTES.....	26
1.4.2.3 AÑADIENDO SUSTANCIAS EMULGENTES.....	26
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>27</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
<b>2.1. MATERIALES.....</b>	<b>28</b>
2.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	28
2.1.1.1 <i>LIGARIA CUNEIFOLIA</i> .....	28
2.1.1.2 <i>RATTUS NOVERGICUS</i> .....	28
2.1.2. MATERIAL DE LABORATORIO .....	28
2.1.2.1 MATERIAL DE VIDRIO.....	28
2.1.2.2 EQUIPOS E INSTRUMENTOS .....	28
2.1.2.3 REACTIVOS Y FÁRMACOS.....	29
2.1.2.4 MATERIAL ANEXO .....	30
<b>2.2. MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
2.2.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO .....	30
2.2.1.1 PREPARACIÓN DE LA DROGA.....	30
2.2.1.2 EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES .....	32

2.2.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR.....	33
2.2.2.1 IDENTIFICACIÓN DE COMPONENTES GENERALES .....	33
2.2.2.2 IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES .....	34
2.2.2.3 IDENTIFICACIÓN DE TANINOS.....	35
2.2.2.4 IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES .....	35
<b>2.3. ELABORACIÓN DE CREMA CON EXTRACTO DE SUELDA CON SUELDA .....</b>	<b>37</b>
<b>2.4. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA .....</b>	<b>38</b>
2.4.1. PREPARACIÓN DE LOS ANIMALES .....	38
2.4.2. INDUCCIÓN DE INFLAMACIÓN .....	38
2.4.3. MEDICIÓN DEL VOLUMEN INFLAMADO .....	38
2.4.4. DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES .....	40
2.4.4.1 PARA LA PRUEBA PILOTO .....	40
2.4.4.2 PRUEBA FINAL.....	41
2.4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	41
2.4.5.1 PROMEDIO O MEDIA ARITMÉTICA .....	41
2.4.5.2 DESVIACIÓN ESTÁNDAR.....	42
2.4.5.3 ANÁLISIS DE VARIANZA.....	42
2.4.5.4 PRUEBA DE TUKEY .....	42
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>43</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>43</b>
<b>3.1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS.....</b>	<b>44</b>
<b>3.2. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA .....</b>	<b>45</b>
<b>3.3. OBTENCIÓN DE LA CREMA.....</b>	<b>46</b>
<b>3.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA.....</b>	<b>49</b>
3.4.1. EVALUACIÓN PILOTO.....	49
3.4.2. EVALUACIÓN FINAL .....	57
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>67</b>
<b>SUGERENCIAS.....</b>	<b>69</b>

<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>74</b>
<b>ANEXO N°1: PRUEBA PILOTO (ML VOLUMEN INFLAMACIÓN).....</b>	<b>75</b>
<b>ANEXO N°2: PRUEBA PILOTO (PORCENTADE DE INFLAMACIÓN).....</b>	<b>76</b>
<b>ANEXO N°3: PRUEBA FINAL (ML VOLUMEN DE INFLAMACIÓN).....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXO N°4: PRUEBA FINAL (PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN).....</b>	<b>78</b>



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como principal objetivo determinar si el extracto y la crema con extracto de las hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) presenta efecto antiinflamatorio tópico en ratas con inflamación inducida experimentalmente.

Para iniciar el proceso experimental primero se preparó la droga (estabilizó, desecó y trituró) para la extracción mediante equipo Soxhlet, se utilizaron tres disolventes: alcohol etílico, acetato de etilo y benceno. Los extractos con estos tres disolventes fueron evaluados mediante una prueba piloto inicial practicada en 12 animales de experimentación distribuidos en cuatro grupos (alcohol etílico, acetato de etilo, benceno y control) se determinó que el grupo tratado con extracto etanólico presenta mayor actividad antiinflamatoria, ello al realizar una prueba de Tukey a un nivel crítico de 0.05.

Se realizó un análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico mediante cromatografía en capa fina, tras el revelado se detectó la presencia de sustancias terpénicas, flavonoides y taninos. Posteriormente el extracto etanólico fue llevado a sequedad y se incorporó en una forma farmacéutica tipo emulsión (crema) a una concentración del 2%.

La evaluación final comprendió cinco grupos: a) grupo con extracto etanólico de suelda con suelda, b) grupo con crema más extracto al 2%, c) grupo con crema base, d) grupo con crema de diclofenaco al 1% y e) grupo control. Al comparar los resultados de estos grupos experimentales con el grupo tratado con crema de diclofenaco al 1%, se determinó mediante una prueba de Tukey a un nivel crítico de 0.05, que sólo la crema más extracto tiene una actividad estadísticamente similar a la del diclofenaco, por su parte el grupo tratado con extracto presenta una actividad antiinflamatoria “intermedia”, debido a que se ubica entre el grupo tratado con diclofenaco y el control. Finalmente el grupo tratado con crema base es estadísticamente similar al control por lo que como vehículo no presenta actividad antiinflamatoria que influya en la actividad del extracto de suelda con suelda presente en la crema.



## ABSTRACT

The present research has as main objective to determine whether the extract and cream with extract from the leaves of *Ligaria cuneifolia* (welds with solder) has anti-inflammatory effect in rats with topical experimentally induced inflammation.

To initiate the process first experimental drug to extraction by Soxhlet was conditioned three solvents were used: ethyl alcohol, ethyl acetate and benzene. The extracts of these three solvents were evaluated by an initial pilot test carried out on 12 experimental animals divided into four groups (ethyl alcohol, ethyl acetate, benzene and control) it was determined that the extract-treated with ethyl alcohol group has greater anti-inflammatory activity, that by performing a Tukey procedure at a critical level of 0.05.

Phytochemical preliminary analysis of the ethanol extract was performed by TLC, after the detection of terpenic substances, flavonoids and tannins detected. Subsequently, the ethanolic extract was taken to dryness and was incorporated into a pharmaceutical form type emulsion (cream) at a concentration of 2%.

The final evaluation included five groups: ethanol extract of soldering with solder, more extract 2% cream, foundation cream, cream and 1% diclofenac controls. When comparing the results of these experimental groups treated with cream 1% DICLOFENAC group was determined by the method of Tukey to a critical level of 0.05, only the cream more extract having statistically similar to that of diclofenac

activity meanwhile the extract-treated group presents "intermediate" anti-inflammatory activity due to its location between the diclofenac-treated and control groups. Finally the base cream-treated group is statistically similar to the control as a vehicle so no anti-inflammatory activity which influences the activity of the extract solder with solder present in the cream.



## INTRODUCCIÓN

Los procesos inflamatorios articulares – como la artritis y artrosis – son muy frecuentes en nuestra población, y a medida que avanza la edad en el hombre se hacen más frecuentes, y pese a su incidencia las causas específicas se desconocen. Para ello la población recurre a diversos tratamientos paliativos que pueden ir desde acupuntura hasta la administración de fármacos biológicos para el caso de la artritis reumatoide.

Por otra parte el Perú es un país megadiverso, pues posee innumerables variedades y especies de plantas entre las que destacan aquellas con propiedades medicinales, muchas de las cuales han sido empleadas con fines terapéuticos desde tiempos muy antiguos.

El poblador recurre muchas veces a tratamientos naturales y sobre todo a los que se encuentran presentes en su flora local, uno de estos vegetales que crece en nuestro medio y que la población acude para el tratamiento de sus procesos inflamatorios que le generan dolor es la suelda con suelda cuyo nombre científico es *Ligaria cuneifolia*, arbusto que crece en forma parásita en muchos sembríos y que los campesinos atribuyen efectos antiinflamatorios y analgésicos al cocimientos de sus hojas, así como a la aplicación local de sus ramas. Sin embargo, revisando la bibliografía sobre plantas medicinales y en particular la suelda con suelda, no se encuentran disponibles estudios recientes que validen esta actividad farmacológica, siendo precisamente el objetivo principal de esta investigación evaluar dicho efecto antiinflamatorio. Para ello se ha utilizado un modelo experimental con animales de laboratorio, a los que se les indujo inflamación mediante la administración de

carragenina en la apófisis plantar, en comparación de un grupo control. Todos los resultados se recogen en el capítulo tercero de este trabajo. Estos resultados se presentan en cuadros que recogen la estadística descriptiva, luego un análisis de varianza y una prueba de Tukey. Luego de las conclusiones y sugerencias se presentan los anexos de la investigación, en donde se presentan todas las lecturas realizadas del volumen inflamatorio mediante pletismómetro digital.

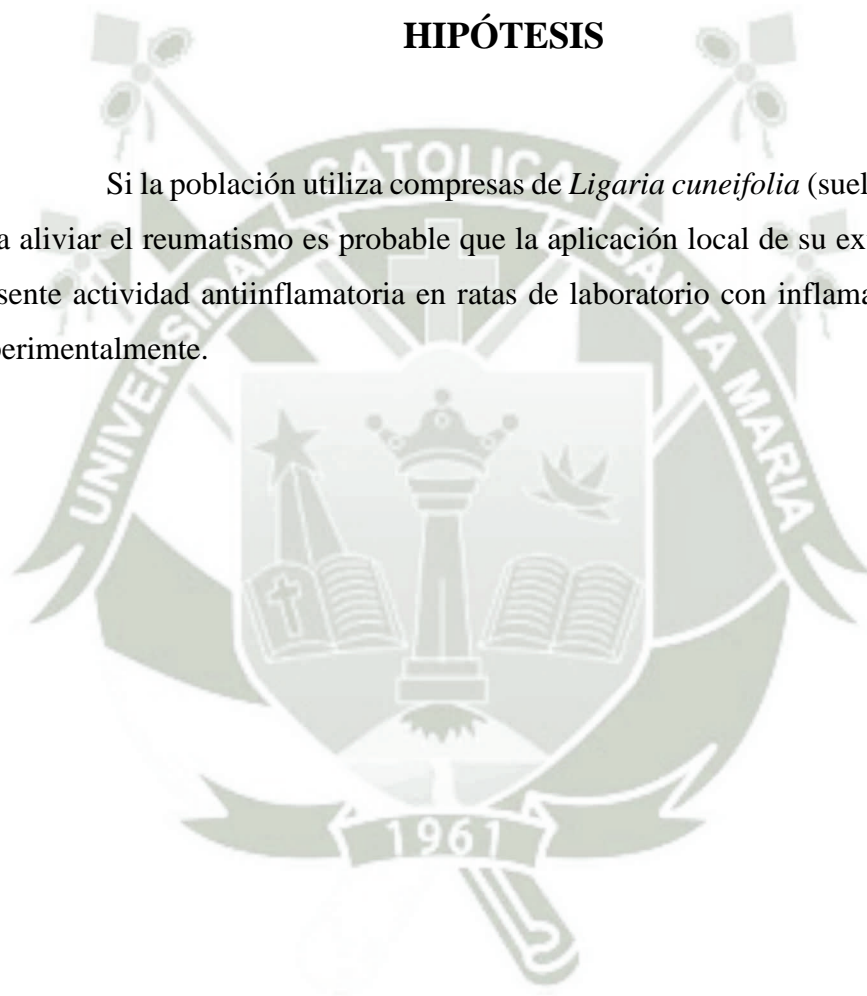


## OBJETIVOS

1. Procesar las hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) según un método extractivo adecuado que permita obtener extractos con disolventes de diferente polaridad.
2. Determinar qué tipo de disolvente permite obtener un extracto de hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) que presente mayor eficacia antiinflamatoria tras la realización de una prueba piloto preliminar.
3. Determinar los metabolitos secundarios (terpenos, taninos, flavonoides) presentes tras el análisis fitoquímico preliminar mediante cromatografía en capa fina del extracto de las hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda).
4. Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto y la crema de hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) aplicados localmente a ratas de laboratorio con inflamación inducida experimentalmente.
5. Comparar la actividad antiinflamatoria del extracto y las cremas de hojas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) aplicados localmente a ratas de laboratorio con inflamación inducida experimentalmente con una crema que contenga un principio activo en crema como el diclofenaco al 1%.

## HIPÓTESIS

Si la población utiliza compresas de *Ligaria cuneifolia* (suelda con suelda) para aliviar el reumatismo es probable que la aplicación local de su extracto y crema presente actividad antiinflamatoria en ratas de laboratorio con inflamación inducida experimentalmente.





## 1.1. SUELDA CON SUELDA

### 1.1.1.NOMBRES COMUNES

“Pupa”, “suelda suelda”, “liga”. <sup>(1,2)</sup>

### 1.1.2.DESCRIPCIÓN

Planta que crece parasitando árboles o arbustos altos por medio de raíces modificadas, densamente ramificada, ramas cortas tendidas. Hojas oblonga-cuneadas o estrechamente obovadas de 6 cm de longitud, coriáceas con tres nervaduras poco perceptibles. Inflorescencias en racimos axilares. Perigonio 6 tépalos rojos alargados más o menos espatulados. Fruto en baya, semillas solitarias con endosperma desarrollado, carnosos, embrión pequeño con 2 cotiledones. <sup>(1,2)</sup>

### 1.1.3.DISTRIBUCIÓN

Planta que crece parasitando a árboles o arbustos de porte alto mediante los haustorios como “chilco” *Baccharis sp.* “wahari” *Dunalia spinosa*, “capa” *Ageratina pentlandiana*, “kestina” *Adesmia verrucosa*, *Adesmia verrucosa*, y “molle” *Schinus molle*. Distribuidas en las vertientes occidentales de los valles interandinos entre los 1800 y 3250 de altitud. <sup>(1,2)</sup>

### 1.1.4.TAXONOMÍA

**Tipo:** Fanerógama

**Clase:** Dicotiledónea

**Orden:** Santales

**Familia:** Loranthaceae

**Género:** *Ligaria*

**Especie:** *cuneifolia* <sup>(2)</sup>

### 1.1.5.NOMBRE CIENTÍFICO

*Ligaria cuneifolia* (R&P) Van Tiegham. <sup>(2)</sup>

### 1.1.6.PARTE UTILIZADA

Hojas. <sup>(2)</sup>



**Figura 1: Suelda con suelda**

### 1.1.7.COMPOSICIÓN

Saponinas 1.83%, taninos 2.1% en toda la planta, pero principalmente en la corteza. Presencia de alcaloides 1.2%. <sup>(1)</sup>

Otros estudios señalan que el tamizaje fitoquímico reporta la presencia de azúcares, taninos y fenoles, flavonoides, cardenólicos, aminoácidos, lactonas y cumarinas; tanto en hojas como en flores; en las flores se encuentran pequeñas cantidades de alcaloides. <sup>(3)</sup>

### 1.1.8.USO MEDICINAL

Para la inflamación moler las hojas y aplicarse como emplasto. Dolor de estómago, calentar las hojas y colocarlas en el vientre. Tos macerar las hojas en pisco por 24 horas y tomar. <sup>(2)</sup>

Los campesinos atribuyen propiedades analgésicas y emenagogas al cocimiento de sus ramas. <sup>(1)</sup>

### 1.1.9.CULTIVO

No se practica su cultivo, pero se sabe que la semilla de la planta es diseminada por las aves que las comen y dejan sus heces en otras plantas, donde germina fácilmente. <sup>(1)</sup>

## 1.2. INFLAMACIÓN, REACCIÓN INFLAMATORIA

### 1.2.1.CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA INFLAMACIÓN

La inflamación es la reacción de los tejidos vascularizados ante la lesión o la muerte celulares. Se caracteriza por la producción de mediadores inflamatorios y el desplazamiento de líquido y leucocitos del sistema vascular a los tejidos extravasculares. Los trastornos inflamatorios se denominan a menudo con la adición del sufijo *-itis* al órgano o sistema afectados. Por ejemplo, *apendicitis* se refiere a la inflamación del apéndice, *pericarditis* a la inflamación del pericardio y *neuritis* a la de un nervio. <sup>(4,5)</sup>

La inflamación puede ser aguda o crónica. La inflamación aguda es la respuesta de adaptación desencadenada por estímulos y situaciones nocivas, como la infección y la lesión tisular, y es relativamente corta, desde unos cuantos minutos hasta varios días. Se caracteriza por la exudación de líquido y proteínas plasmáticas, y por la emigración de leucocitos, sobre neutrófilos. La *inflamación crónica* es más prolongada con duración de días a años, y se acompaña con la proliferación de vasos sanguíneos, necrosis tisular y fibrosis (cicatrización). La inflamación aguda y crónica pueden coexistir, con episodios de inflamación aguda intercalados con la crónica. <sup>(5)</sup>

## 1.2.2. CÉLULAS DE LA INFLAMACIÓN

Muchas células y componentes tisulares participan en el proceso inflamatorio, entre otras células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos, plaquetas y leucocitos circulantes, las células del tejido conectivo (mastocitos, fibroblastos, macrófagos tisulares) y los componentes de la matriz extracelular. Los principales leucocitos en la inflamación aguda son los neutrófilos, mientras que en la inflamación crónica predominan los macrófagos, los linfocitos, las células plasmáticas, los eosinófilos y los mastocitos. <sup>(4,6)</sup>

### 1.2.2.1 Células endoteliales

Las células endoteliales forman el recubrimiento epitelial de una sola célula de espesor, de los vasos sanguíneos. Producen agentes antiplaquetarios y antitrombóticos que mantienen la permeabilidad vascular, además de vasodilatadores y vasoconstrictores que regulan el flujo sanguíneo. Estas células también son componentes clave de la reacción inflamatoria. En consecuencia, mantienen una barrera con permeabilidad selectiva ante estímulos inflamatorios exógenos (microbianos) y endógenos, regulan la extravasación de los leucocitos mediante la expresión de moléculas de adhesión y receptores; contribuyen a la regulación y modulación de las respuestas inmunitarias mediante la síntesis y liberación de mediadores inflamatorios, y regulan la proliferación de células inmunitarias mediante la secreción de factores estimulantes de colonias hematopoyéticas. Las células endoteliales también participan en el proceso de reparación que acompaña a la inflamación mediante la producción de factores de crecimiento que estimulan la angiogénesis (formación de vasos sanguíneos nuevos) y la síntesis de matriz extracelular. <sup>(5,7)</sup>

### 1.2.2.2 Plaquetas

Las plaquetas o trombocitos son pequeños discos con envoltura membranosa que circulan en la sangre y tienen un papel activo en la hemostasia normal. Las plaquetas activadas también liberan varios mediadores inflamatorios

potentes, lo que aumenta la permeabilidad vascular y altera las propiedades quimiotácticas, adhesivas y proteolíticas de las células endoteliales. Cuando una plaqueta se activa se liberan más de 300 proteínas. Aunque solo se han identificado un pequeño porcentaje de estas, una cantidad significativa corresponden al parecer a mediadores inflamatorios. La relación entre las plaquetas y las enfermedades inflamatorias destaca por la cantidad de procesos patológicos inflamatorios (p.ej., aterosclerosis, migraña, lupus eritematoso sistémico) que tienen una relación demostrada con la activación plaquetaria. <sup>(5, 8)</sup>

### 1.2.2.3 Leucocitos

Los leucocitos o glóbulos blancos son los principales componentes celulares de la reacción inflamatoria. Se clasifican en granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), que contienen gránulos citoplasmáticos específicos y núcleo multilobulado, y agranulocitos (monocitos/macrófagos y linfocitos), que carecen de gránulos citoplasmáticos y tienen un núcleo único. <sup>(5,8)</sup>

#### 1.2.2.3.1 Neutrófilos

Los neutrófilos son los leucocitos más numerosos en la sangre circulante y representan del 60 al 70% de todos los glóbulos blancos. Estas células tienen núcleos divididos en tres a cinco lóbulos, por lo que a menudo se denominan *neutrófilos polimorfonucleares*. Debido a su capacidad para formar pseudópodos que emplean para el movimiento ameboideo, los neutrófilos tienen gran movilidad y por tanto son las primeras células en llegar al sitio de la inflamación aguda, casi siempre en los 90 min siguientes a la lesión. Los neutrófilos son células eliminadoras capaces de englobar bacterias y otros detritos celulares mediante fagocitosis. Sus gránulos citoplasmáticos, que resisten la tinción y conservan un color neutro, contienen enzimas y otras sustancias antibacterianas que se usan para destruir y degradar a los microbios y el tejido muerto fagocitado. Los neutrófilos también tienen vías metabólicas dependientes de oxígeno que generan productos tóxicos de oxígeno (p.ej., peróxido de hidrógeno) y nitrógeno (p.ej., óxido nítrico) que ayudan a la destrucción de los patógenos atrapados. Los neutrófilos tienen una vida corta. Mueren por apoptosis y desaparecen 24h a 48h después de llegar al punto de inflamación. <sup>(5,8)</sup>

### **1.2.2.3.2 Eosinófilos**

Los eosinófilos representan del 2% al 3% de los leucocitos circulantes y se movilizan hacia los tejidos de forma similar a los neutrófilos. Aparecen en el sitio de inflamación 2h o 3h después que los neutrófilos. En parte, esto se debe a su menor movilidad y su reacción comparativamente más lenta a los estímulos quimiotácticos.

Los eosinófilos también tienen un papel importante en las reacciones alérgicas, ya que controlan la liberación de mediadores químicos específicos. Interactúan con los basófilos y tienen una función prominente en las reacciones alérgicas, como la fiebre del heno y el asma bronquial. Los eosinófilos poseen una vida más prolongada que los neutrófilos, por lo que se encuentran en la inflamación crónica. <sup>(5,8)</sup>

### **1.2.2.3.3 Basófilos y mastocitos**

Aunque representan menos del 1% de los leucocitos circulantes, tienen una participación importante en las reacciones inflamatorias y destacan en las reacciones alérgicas mediadas por inmunoglobulina E (IgE). La unión con IgE libera histamina y agentes vasoactivos de los gránulos basófilos. Los leucocitos basófilos con precursores de los mastocitos. <sup>(5,8)</sup>

Los mastocitos provienen de las mismas células madre hematopoyéticas que los basófilos, pero no se desarrollan hasta que salen de la circulación y se alojan en los tejidos. Son muy abundantes en las superficies mucosas de los pulmones, tubo digestivo y dermis. Esta distribución sitúa a los mastocitos en una posición de centinela entre los antígenos ambientales y el hospedador en diversos trastornos inflamatorios agudos y crónicos. La activación de los mastocitos induce la liberación del contenido ya formado de sus gránulos (p.ej., histamina, proteasas y citosinas como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  [TNF- $\alpha$ ] y la interleucina 16 [IL-16]); síntesis de mediadores lipídicos derivados de los precursores en la membrana celular (metabolitos del ácido araquidónico, como las prostaglandinas y el factor activador de plaquetas), y estimulación de la síntesis de citosina y quimiocina en otras células inflamatorias, como los monocitos y los macrófagos. <sup>(5)</sup>

#### **1.2.2.3.4 *Monocitos y macrófagos***

Los monocitos constituyen del 3 al 8% del total de leucocitos. Tienen un solo núcleo con forma de riñón y son los leucocitos circulantes más grandes. La semivida de los monocitos circulantes se aproxima a un día, después de lo cual migran a la zona de lesión y se transforman en macrófagos más grandes, los cuales tienen una semivida más prolongada y mayor capacidad fagocítica que los monocitos sanguíneos. Los monocitos circulantes se han vinculado con varios trastornos inflamatorios, en especial la aterosclerosis, en la que los monocitos se transforman en macrófagos que se acumulan en placas ateroscleróticas y se convierten en células espumosas cargadas de lípidos. <sup>(5,8)</sup>

Los monocitos/macrófagos producen potentes mediadores vasoactivos, como prostaglandinas y leucotrienos, factor activador de plaquetas (PAF), citosinas inflamatorias y factores de crecimiento que fomentan la regeneración de los tejidos. Como su nombre indica, los macrófagos tienen capacidad fagocítica y son muy activos en la destrucción de bacterias. Atrapan mayores cantidades de material extraño que los neutrófilos. La vida de los macrófagos en la circulación es tres o cuatro veces mayor que la de los granulocitos. Estos fagocitos de vida más prolongada ayudan a destruir el agente causal, participan en los procesos de señalización inmunitaria, sirven para resolver un proceso inflamatorio y contribuyen al inicio de los procesos de curación. Los macrófagos tienen una importancia especial para mantener un proceso inflamatorio crónico. <sup>(5,8)</sup>

#### **1.2.2.3.5 *Linfocitos y células plasmáticas***

Los linfocitos son los más pequeños de los leucocitos y tienen un borde delgado de citoplasma alrededor de un núcleo con tinción intensa. Participan en la inflamación mediada por mecanismos inmunitarios causada por agentes infecciosos y también en la inflamación no inmunitaria relacionada con lesión y muerte celulares. Tanto los linfocitos T como los B (células T y B) migran hacia zonas de inflamación mediante algunas de las mismas moléculas de adhesión y los quimiocinas que atraen a los neutrófilos y otros leucocitos. Los linfocitos y los macrófagos interactúan en

forma bidireccional y estas interacciones tienen una función importante en la inflamación crónica.

Las células plasmáticas se desarrollan a partir de linfocitos B activados y producen anticuerpos dirigidos contra antígenos persistentes en el sitio inflamado y contra componentes alterados del tejido. En algunas reacciones inflamatorias crónicas intensas, la acumulación de linfocitos y células plasmáticas adopta la apariencia de órganos linfoides, como los nódulos linfáticos. Este patrón de acumulación de linfocitos se observa a menudo en la membrana sinovial inflamada de personas con artritis reumatoide de larga evolución. <sup>(5,8)</sup>

### 1.2.3. INFLAMACIÓN AGUDA

La inflamación aguda es la reacción temprana (casi inmediata) de los tejidos locales y sus vasos sanguíneos a la lesión. Casi siempre ocurre antes que se establezca la respuesta inmunitaria adaptativa; su finalidad principal es eliminar el agente nocivo y limitar la extensión del daño tisular. La inflamación aguda puede desencadenarse por diversos estímulos, como infecciones, reacciones inmunitarias, traumatismos contusos o penetrantes, agentes físicos o químicos (p.ej., quemaduras, congelamiento, radiación, productos cáusticos) y necrosis tisular por cualquier causa.

La descripción típica de la inflamación ha persistido a través de los siglos. En el siglo I d.C., el médico romano Celso describió la reacción local de la lesión en los términos que ahora se conocen como signos cardinales de la inflamación. Estos signos son rubor (enrojecimiento), tumor (hinchazón) calor y dolor. En el siglo II d.C., el médico griego Galeno agregó un quinto signo, *functio laesa* (pérdida de la función). Además de los signos cardinales que aparecen en el lugar de la lesión, puede haber manifestaciones sistémicas (p.ej., fiebre) cuando los mediadores químicos (p.ej., citocinas) producidos en el sitio de la inflamación llegan al sistema circulatorio. El conjunto de manifestaciones sistémicas que puede aparecer durante la inflamación aguda se conoce como respuesta de fase aguda. <sup>(5,7)</sup>

### 1.2.3.1 Etapa vascular y celular

La inflamación aguda tiene dos etapas: la etapa vascular, caracterizada por aumento del flujo sanguíneo (vasodilatación) y cambios estructurales (aumento de la permeabilidad vascular) que hacen posible la salida de proteínas plasmáticas de la circulación, y la etapa celular, que implica la migración de leucocitos (sobre todo neutrófilos) de la microcirculación y su acumulación en la zona lesionada o infectada. (5, 9)

#### 1.2.3.1.1 Etapa vascular

Los cambios vasculares de la inflamación afectan a las arteriolas, capilares y vénulas de la microcirculación. Estos cambios comienzan casi de inmediato después de la lesión y se caracterizan por vasodilatación y cambios en el flujo sanguíneo, seguidos por aumento de la permeabilidad vascular y fuga de líquido rico en proteínas a los tejidos extravasculares. (5,9)

La vasodilatación, que es una de las primeras manifestaciones de la inflamación, sigue a una constricción transitoria de las arteriolas que dura unos cuantos segundos. Al principio la vasodilatación afecta a las arteriolas y luego produce la apertura de los lechos capilares de la región. Como resultado, la zona se congestiona y se producen el enrojecimiento (eritema) y el calor relacionados con la inflamación aguda. La vasodilatación se induce por efecto de varios mediadores, en particular la histamina y el óxido nítrico. (5,8)

Poco después de la vasodilatación, aumenta la permeabilidad de la microvasculatura, con salida de un líquido rico en proteínas (exudado) hacia los espacios extravasculares. La pérdida de líquido incrementa la concentración de los componentes sanguíneos (eritrocitos, leucocitos, plaquetas y factores de coagulación), estasis del flujo y coagulación sanguínea en el punto de lesión. Esto ayuda a contener la diseminación de los microorganismos infectantes. La pérdida de las proteínas plasmáticas reduce la presión osmótica capilar y eleva la presión osmótica del líquido intersticial, lo que hace que el líquido se desplace del compartimento vascular a los tejidos; esto da lugar al aumento de volumen (hinchazón), dolor y alteración funcional que son los signos cardinales de la inflamación aguda. El exudado del líquido hacia los espacios tisulares también sirve para diluir al agente agresor.

El incremento de la permeabilidad propio de la inflamación conduce a la formación de espacios endoteliales en las vénulas de la microcirculación. La unión de mediadores químicos con receptores endoteliales produce contracción de las células endoteliales y separación de las uniones intercelulares. Éste es el mecanismo más frecuente de la fuga vascular y se produce por histamina, bradicinina, leucotrienos y muchas otras clases de mediadores químicos. <sup>(5,8)</sup>

Según la gravedad de la lesión, los cambios vasculares en la inflamación siguen uno de tres patrones de respuestas. El primer patrón es la *respuesta transitoria inmediata*, que ocurre en caso de lesiones menores. Aparece poco después de la lesión, casi siempre es reversible y de corta duración (15 a 30 min). Por lo general, este tipo de fuga afecta a las vénulas de 20µm a 60µm de diámetro y deja intactos los capilares y las arteriolas. El segundo patrón es una *respuesta inmediata sostenida*, que ocurre en lesiones más graves y continúa durante varios días. Afecta a todos los niveles de la microcirculación (arteriolas, capilares y vénulas) y se debe al daño directo del endotelio por los estímulos nocivos, por ejemplo por quemaduras o por los productos de las infecciones bacterianas. Los neutrófilos que se adhieren al endotelio también pueden dañar las células endoteliales. <sup>(5,8)</sup>

El tercer patrón es una *respuesta hemodinámica tardía* en la que el aumento de la permeabilidad comienza después de un retraso de 2h a 12h, dura varias horas o días y afecta a las vénulas y capilares. La respuesta tardía acompaña a menudo a lesiones por radiación, como la quemadura solar.

#### **1.2.3.1.2 Etapa celular**

La etapa celular de la inflamación está marcada por cambios en las células endoteliales que recubren la vasculatura y por el desplazamiento de los leucocitos fagocíticos al área de lesión o infección. Aunque la atención se ha centrado en la atracción de los leucocitos desde la corriente sanguínea, una respuesta rápida también requiere liberación de mediadores químicos de las células tisulares (mastocitos y macrófagos) que se situaron antes en los tejidos. La secuencia de fenómenos en la respuesta celular a la inflamación incluye: 1) marginación y adhesión, 2) transmigración, 3) quimiotaxis y 4) activación y fagocitosis leucocíticas. <sup>(5,9)</sup>

Durante las etapas tempranas de la reacción inflamatoria, la comunicación cruzada entre los leucocitos sanguíneos y el endotelio vascular establece un fenómeno inflamatorio definitivo y asegura la adhesión firme y detención de los leucocitos sobre el endotelio. Como consecuencia los leucocitos disminuyen su migración, se adhieren con firmeza al endotelio y comienzan a moverse por la periferia de los vasos sanguíneos. Este proceso de acumulación leucocítica se llama *marginación*. La liberación subsiguiente de moléculas de comunicación intercelular llamadas *citocinas* hace que las células endoteliales que se unen con los hidratos de carbono de los leucocitos. Esta interacción que se conoce como *fijación*, reduce la velocidad de su flujo y da lugar a que los leucocitos se muevan sobre la superficie endotelial mediante rodamiento, para detenerse al final y adherirse con fuerza a las moléculas de adhesión intercelular del endotelio. La adhesión provoca que las células endoteliales se separen, lo que posibilita que los leucocitos extiendan sus pseudópodos y *transmigren* por la pared vascular y, bajo la influencia de los factores quimiotácticos, migren luego a los espacios tisulares. <sup>(5,8)</sup>

La *quimiotaxis* es un proceso dinámico y dirigido por energía de la migración celular. Una vez que los leucocitos salen del capilar, se mueven por el tejido guiados por un gradiente de factores quimiotácticos secretados, como las quimiocinas, detritos bacterianos y celulares, y fragmentos generados por la activación del sistema del complemento. Las quimiocinas, un subgrupo importante de citocinas quimiotácticas, son pequeñas proteínas que dirigen el tránsito de leucocitos durante las etapas iniciales de la inflamación o lesión. Varias células inmunitarias (p.ej., macrófagos) o no inmunitarias secretan estos agentes quimiotácticos para asegurar el movimiento dirigido de los leucocitos al punto de infección. <sup>(5,8)</sup>

Durante la etapa siguiente y final de la respuesta celular, los neutrófilos, monocitos y macrófagos tisulares se activan para englobar y degradar las bacterias y detritos celulares en un proceso llamado *fagocitosis*. La fagocitosis consta de tres pasos: reconocimiento y adherencia, englobamiento y destrucción intracelular. Se inicia con la identificación y unión de las partículas con receptores específicos en la superficie de las células fagocíticas. Esta unión es esencial para atrapar al agente, iniciar el englobamiento y producir la destrucción intracelular de los microbios. Éstos pueden unirse de forma directa con la membrana de las células fagocíticas mediante

varios tipos de receptores que reconocen un patrón (p.ej., receptores de tipo toll y receptores para manosa), o de manera indirecta por receptores que reconocen a los microbios cubiertos con lectinas para unión de hidratos de carbono, anticuerpo o complemento. La unión intensificada de un antígeno con un anticuerpo o el complemento se llama *opsonización*. Tras identificar a un agente como ajeno, sigue el englobamiento. Durante este proceso, extensiones del citoplasma se mueven alrededor y al final encierran la partícula en una vesícula fagocítica rodeada por membrana, o *fagosoma*. Una vez en el citoplasma celular, el fagosoma se fusiona con un lisosoma citoplasmático que contienen moléculas antibacterianas y enzimas que matan y digieren al microbio. <sup>(5,8)</sup>

La destrucción intracelular de patógenos se logra mediante varios mecanismos, como productos tóxicos de oxígeno y nitrógeno, lisozimas, proteasas y defensinas.

### 1.3. FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

Los fármacos con actividad antiinflamatoria están constituidos por dos grandes grupos: <sup>(10,11)</sup>

- Antiinflamatorios no esteroides (AINES): cuyo mecanismo de acción está ligado a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, específicamente por la inactivación de la ciclooxigenasa, a su vez se clasifican por la diferente afinidad hacia las isoformas de la COX. <sup>(10,11)</sup>
- Antiinflamatorios esteroides (AIES): el efecto antiinflamatorio de estos fármacos más bien está íntimamente vinculado a la acción inmunosupresora. <sup>(10,11)</sup>

#### 1.3.1. DICLOFENACO

Este fármaco es de frecuente prescripción y automedicación, siendo su eficacia comparable a los arilpropiónicos o profenos. <sup>(10,11)</sup>

##### 1.3.1.1 Presentaciones

- Tabletas de 50 a 100 mg
- Suspensión oral en gotas 15mg/ml
- Solución inyectable en ampollas de 75mg/3ml
- Solución oftálmica al 0.1%
- En aerosol farmacéutico tópico (diclofenaco dietilamida).
- Gel tópico al 1%.
- Crema al 1%
- Parches dérmicos.

### 1.3.1.2 Farmacocinética

Después de la ingestión el diclofenaco se absorbe de manera rápida y casi completa, y en plasma se alcanzan concentraciones máximas en 1 a 2 y por vía IM en 20 minutos. Su  $t_{1/2}$  es de 1 hora, pasa al líquido sinovial donde alcanza una concentración menor a la del plasma pero más sostenida, de donde se deduce la duración de sus efectos más prolongados a los que abría de esperarse por su tiempo de vida media. La administración con alimentos retrasa pero no disminuye su absorción, sufre notable efecto de primer paso que disminuye su biodisponibilidad en un 50%, se une ampliamente a las proteínas plasmáticas (99%), se metaboliza en el hígado sufriendo reacciones de hidroxilación, metoxilación y conjugación; y es excretado en la orina (65%) y bilis (35%).<sup>(10,11,12)</sup>

### 1.3.1.3 Farmacodinamia

El diclofenaco posee actividad antiinflamatoria, antipirética, analgésica potente, es uricosúrico y es débilmente antiagregante plaquetario. Es un inhibidor de la ciclooxigenasa y su potencia es mayor que la de la indometacina, el naproxeno y otros fármacos. Además, disminuye las concentraciones intracelulares de ácido araquidónico libre, en leucocitos, tal vez al modificar la liberación o captación de dicho ácido graso.

#### 1.3.1.4 Indicaciones

Está indicado para tratamientos de dolor agudo y dolor crónico en artritis reumatoide, osteoartritis y espondilitis anquilosante.

Puede ser útil también por breves lapsos en lesiones musculoesqueléticas agudas, hombro con dolor agudo, dolor postoperatorio, cólico renal y dismenorrea. En los niños (a partir de un año) solo se puede utilizar las soluciones orales y los comprimidos de 50mg. A nivel ocular está indicado en la inflamación postoperatoria.

#### 1.3.1.5 Posología

Enfermedades articulares:

- De 100-200mg cada 6 o cada 12 horas, para luego disminuir la dosis paulatinamente.

Procesos dolorosos o inflamatorios no reumáticos, fiebre y dismenorrea.

- Dosis de 50 mg cada 8 horas (también se puede administrar como dosis inicial 100mg). El periodo de tratamiento del dolor no debe superar los 5 días y para la fiebre 3 días.

Dolor intenso, Cólico renal

- Una ampolla diaria (no más de dos días). Puede combinarse con la vía oral, pero no más de 150mg diarios.

Inflamación postoperatoria ocular

- 1 gota cada 8 horas. <sup>(10)</sup>

### 1.3.1.6 RAMS

El diclofenaco produce reacciones adversas similares a los profenos. Puede alterar temporalmente la función hepática. Se ha detectado casos de anemia aplásica. <sup>(10,11,12)</sup>

### 1.3.1.7 Interacciones

No se recomienda la administración de otro AINE con el diclofenaco, ya que se alteran los perfiles farmacocinéticos además de incrementarse el riesgo de hemorragias. <sup>(3, 12)</sup>

## 1.4. EMULSIONES

Son dispersiones heterogéneas de un líquido en otro líquido inmisible con el primero, que están constituidas por dos fases: <sup>(13)</sup>

Una *fase acuosa*, formada por agua y por las sustancias disueltas en ella (sustancias hidrosolubles). Una *fase oleosa*, formada por las grasas y las sustancias disueltas en ella (sustancias liposolubles). <sup>(13)</sup>

### 1.4.1. TIPOS DE EMULSIONES

En función de cuáles sean las fases dispersa y dispersante, distinguimos dos tipos de emulsiones: <sup>(13,14)</sup>

- Emulsiones oleo-acuosas (O/A u O/W): la fase interna (f.i.) es la grasa y la fase externa (f.e.), el agua.
- Emulsiones acuo-oleosas (A/O u W/O): la fase interna es el agua y la fase externa, el aceite.

#### 1.4.1.1 Emulsiones agua en aceite, cremas (A/O)

Una emulsión de agua en aceite, por definición, contiene menos de 25% de agua y el aceite es el medio de dispersión. Las dos fases pueden separarse a menos que sean agitadas. El emulsionante o surfactante es soluble en ambas fases y rodean

las gotas dispersas para prevenir su coalescencia. Los ejemplos de surfactantes utilizados incluyen sulfato laurílico de sodio, los compuestos de amonio cuaternario, Span® (ésteres de ácidos grasos sorbitano) y Tweens® (ésteres de ácidos grasos sorbitano de polioxietileno). A menudo se agregan conservantes para aumentar la vida útil de la emulsión. Las emulsiones de agua en aceite son menos grasosas, se extienden fácilmente sobre la piel y proporcionan una película oleosa protectora que se mantiene sobre la piel como emoliente, mientras que la evaporación lenta de la fase acuosa proporciona un efecto de enfriamiento. <sup>(13,14)</sup>

#### **1.4.1.2 Emulsiones de aceite en agua (O/A)**

Una emulsión de aceite en agua contiene más de 31% de agua. De hecho la fase acuosa puede comprender, hasta el 80% de la fórmula. Este tipo de fórmula es una de las más elegidas para administrar un agente dermatológico. Desde el punto de vista clínico, las emulsiones de aceite en agua se extienden con mucha facilidad, pueden quitarse con agua y son menos grasosas, y se eliminan fácilmente de la piel y las vestimentas. Siempre contienen conservantes como parabenos, para inhibir el crecimiento de los hongos. Además, las emulsiones de aceite en agua contienen un humectante (agente que lleva humedad a la piel), como glicerina, propilenglicol o polietilenglicol para evitar el desecamiento de la crema. La fase oleaginosa puede contener un alcohol cetílico o estearílico (alcoholes de parafina) para impartir estabilidad y un tacto aterciopelado con la aplicación cutánea. Después de la aplicación, la fase acuosa se evapora y deja tanto una pequeña capa hidratante de aceite como un depósito concentrado de fármaco. <sup>(13,14)</sup>

#### **1.4.2. INESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES**

Al ser sistemas dispersos heterogéneos, las emulsiones son inestables por naturaleza. Esta inestabilidad se debe a las fuerzas que se producen en la superficie de separación entre los dos líquidos y que tienen a disminuir esta superficie (tensión superficial), y a la gravedad que provoca el desplazamiento de las partículas dispersadas en función de su densidad, ya sea hacia arriba (cremado) o hacia abajo (sedimentación).

A todo ello se añaden fenómenos electroestáticos. Las partículas dispersadas están cargadas eléctricamente; todas tienen cargas del mismo signo y se repelen entre ellas. La neutralización de estas cargas provoca el acercamiento de las partículas que se aglomeran en *flóculos* (floculación). A la hora de estabilizar una emulsión podemos utilizar cualquiera de las siguientes técnicas: <sup>(13,14)</sup>

#### **1.4.2.1 Mediante agitación**

Fácilmente no se pueden mezclar el aceite y el agua, pero se puede obtener una dispersión de agua en aceite (A/O) o de aceite en agua (O/A) mediante una agitación intensa. Cuando cesa la agitación, las partículas dispersadas se aproximan unas a otras y van creciendo (fenómeno de coalescencia); transcurrido un tiempo, los dos líquidos terminan por separarse y es cuando se produce la rotura de la emulsión.

#### **1.4.2.2 Añadiendo sustancias viscosizantes**

Aumentan la viscosidad del medio con lo que se evita la separación de las fases. Ejemplos: bentonita, gomas naturales, alginatos, entre otros. <sup>(1, 4)</sup>

#### **1.4.2.3 Añadiendo sustancias emulgentes**

Estas sustancias tienen como función unir las dos fases de la emulsión, la fase hidrófila (o lipófila) y la fase lipófila (o hidrófoba), disminuyendo la tensión que existe en la superficie entre ellas. Así se “ligan” las dos fases inmiscibles. Los emulgentes más utilizados son los tensioactivos o tensoactivos. <sup>(13,14)</sup>



## **CAPÍTULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

## 2.1. MATERIALES

### 2.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

#### 2.1.1.1 *Ligaria cuneifolia*

El material empleado fueron las hojas de *Ligaria cuneifolia* “suelda con suelda”.

#### 2.1.1.2 *Rattus norvegicus*

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio se utilizaron 25 ratas albinas pertenecientes a la especie *Rattus norvegicus*.

### 2.1.2. MATERIAL DE LABORATORIO

#### 2.1.2.1 Material de vidrio

- Probetas de 50 y 100ml
- Pipetas graduadas
- Baquetas
- Vasos de precipitados
- Embudo de vidrio

#### 2.1.2.2 Equipos e instrumentos

- Estufa
- Balanza analítica
- Equipo para baño maría
- Cocina eléctrica
- Equipo Soxhlet

- Balanza con canastilla
- Lámpara UV

### 2.1.2.3 Reactivos y fármacos

- Agua destilada
- Etanol al 96°
- Acetato de etilo
- Ácido sulfúrico
- Tolueno
- Ácido fórmico
- Cloruro de aluminio
- Metanol
- Cloruro férrico
- Vaselina líquida
- Ácido acético
- Monoestearato de glicerilo
- Emulgin B1®
- Lanolina
- Metilparabeno
- Propilparabeno
- Esperma de ballena
- Palmitato de isopropilo
- Reactivo de Dragendorff

#### 2.1.2.4 Material anexo

- Mortero de porcelana
- Guantes
- Potes de plástico
- Frascos de vidrio color ámbar

## 2.2. MÉTODOS

### 2.2.1.OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

#### 2.2.1.1 Preparación de la droga

##### 2.2.1.1.1 *Obtención de suelda con suelda*

La planta medicinal *Ligaria cuneifolia* “suelda con suelda” fue adquirida en el centro de abastos de Arequipa conocido como Mercado San Camilo, para ello se encargó a uno de los puestos llamado “El Ekeko” para el suministro de especímenes frescos de “suelda con suelda”. Se adquirió una cantidad de 1 Kg.

##### 2.2.1.1.2 *Estabilización*

La estabilización se realizó en estufa a una temperatura de 90°C, las hojas seleccionadas de suelda con suelda se sometieron a esta temperatura durante 3 minutos.

##### 2.2.1.1.3 *Deseccación*

La desecación se llevó a cabo en estufa a una temperatura de 50°C, se necesitaron alrededor de 6 horas para desecar una cantidad aproximada de 150 gramos de hojas estabilizadas. Para determinar el carácter seco de la droga se realizaron tres

pesadas en el lapso de 30 minutos, una vez establecido un peso constante se retiró de la estufa de desecación.



**Figura 2: Desecación de suelda con suelda**

#### ***2.2.1.1.4 Trituración***

La trituración se llevó a cabo en mortero de porcelana hasta que la droga este moderadamente dividida.



**Figura 3: suelda con suelda pulverizada**

### 2.2.1.2 Extracción con disolventes

#### 2.2.1.2.1 Disolventes utilizados

Los disolventes utilizados fueron: Benceno, acetato de etilo y alcohol etílico de 96°.

#### 2.2.1.2.2 Método de extracción

El método de extracción utilizado fue mediante equipo Soxhlet, en este método el disolvente pasa repetidas veces por el sólido que se encuentra finamente dividido para favorecer el contacto con el líquido. Consta de un matraz, una cámara de extracción conectada al matraz por un sistema de sifón, y un refrigerante. En el matraz destila constantemente el disolvente, el cual cuando condensa cae a la cámara de extracción poniéndose en contacto con el sólido. Cuando dicha cámara se llenó de disolvente, este cae por el sifón lateral de nuevo al matraz vaciándose la cámara por completo. Es una extracción por recirculación pero también por etapas ya que la extracción no se hace de forma continua puesto que la operación es una secuencia de llenados y vaciados de la cámara. <sup>(15)</sup>



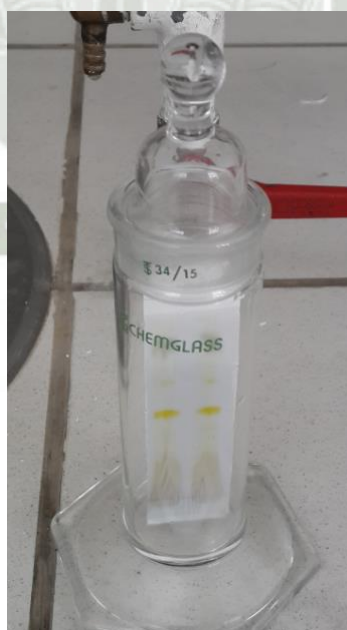
**Figura 4: Extracción con equipo Soxhlet**

En la presente investigación se utilizaron 14 gramos de suelda con suelda para cada extracción con los distintos disolventes, utilizándose 150ml de cada uno.

### 2.2.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

La técnica de separación de TLC consta de un sistema de dos fases, una sólida (fase estacionaria) que se aplica en forma de capa delgada, absorbente, usualmente entre 0.10 a 0.25mm de grueso para fines analíticos y en los casos que se desea aislar un compuesto el grosor puede variar entre 0.5 y 2.0mm. Esta capa es fijada a una placa o lámina firme de vidrio, aluminio o plástico que actúa como soporte. A través de la fase estacionaria transita un líquido o solvente (fase móvil o eluyente)

La muestra de extracto fue colocada mediante la ayuda de un capilar de vidrio, formando mediante puntos esféricos una banda a 0.5cm de la línea base de la placa. Colocando y retirando cantidades suficientes de muestra hasta alcanzar un color verde de intensidad media. Una vez sembrada la muestra la placa se colocó en una cámara cromatográfica, que consiste en un recipiente de vidrio con cierre hermético. A esta cámara se le añadió previamente los disolventes utilizados, se tapa y se deja que el vapor del solvente sature la atmósfera interna del recipiente.



**Figura 5: Desarrollo cromatográfico**

#### 2.2.2.1 Identificación de componentes generales

En una placa de cromatografía se delimitó la línea de base y el frente del disolvente. Sobre la primera línea se sembró en banda con la ayuda de un capilar de vidrio, pequeñas cantidades de nuestro extracto, dejando secar bien antes de volver a sembrar. En total se realizaron alrededor de 8 siembras.

Una vez que la placa estuvo seca se colocó en la cuba para cromatografía con su respectiva fase móvil. Luego que los disolventes llegaron a la línea superior, la placa fue retirada de la cuba, se dejó secar y se dispersó la solución reveladora. Observar bajo luz UV a 254nm.

#### **Fase móvil**

- Acetato de etilo: 97
- Metanol: 20
- Agua destilada: 10

#### **Revelador**

- Vainillina: 1g
- Etanol csp: 100ml

#### **2.2.2.2 Identificación de flavonoides**

En una placa de cromatografía se delimitó la línea de base y el frente del disolvente. Sobre la primera línea se sembró en banda con la ayuda de un capilar de vidrio, pequeñas cantidades de nuestro extracto, dejando secar bien antes de volver a sembrar. En total se realizaron alrededor de 8 siembras.

Una vez que la placa estuvo seca se colocó en la cuba para cromatografía con su respectiva fase móvil. Luego que los disolventes llegaron a la línea superior, la placa fue retirada de la cuba, se dejó secar y se dispersó la solución reveladora. Posteriormente se procedió a la observación bajo luz UV a 365nm.

#### **Fase móvil**

- Acetato de etilo: 100
- Ácido acético: 11
- Ácido fórmico: 11
- Agua destilada: 26

#### **Revelador**

- Cloruro de aluminio: 1g
- Etanol: 100ml

#### **2.2.2.3 Identificación de Taninos**

En una placa de cromatografía se delimitó la línea de base y el frente del disolvente. Sobre la primera línea se sembró en banda con la ayuda de un capilar de vidrio, pequeñas cantidades de nuestro extracto, dejando secar bien antes de volver a sembrar. En total se realizaron alrededor de 8 siembras.

Una vez que la placa estuvo seca se colocó en la cuba para cromatografía con su respectiva fase móvil. Luego que los disolventes llegaron a la línea superior, la placa fue retirada de la cuba, se dejó secar y se dispersó la solución reveladora, para observar manchas azules o verdes de fenoles. <sup>(16)</sup>

#### **Fase móvil**

- Metanol: 70
- Agua destilada: 30

#### **Revelador**

- Cloruro férrico: 1g
- Etanol csp: 100ml

#### **2.2.2.4 Identificación de alcaloides**

En una placa de cromatografía se delimitó la línea de base y el frente del disolvente. Sobre la primera línea se sembró en banda con la ayuda de un capilar de vidrio, pequeñas cantidades de nuestro extracto, dejando secar bien antes de volver a sembrar. En total se realizaron alrededor de 8 siembras.

Una vez que la placa estuvo seca se colocó en la cuba para cromatografía con su respectiva fase móvil. Luego que los disolventes llegaron a la línea superior, la placa fue retirada de la cuba, se dejó secar y se dispersó la solución reveladora, para observar manchas naranjas o cafés. <sup>(16)</sup>

#### **Fase móvil**

- Metanol: 10
- Ácido acético: 70
- Agua destilada: 20

#### **Revelador**

##### **Solución A**

- Nitrato básico de bismuto: 0.85g
- Ácido acético: 10ml
- Agua destilada tibia: 40 ml

##### **Solución B**

- Ioduro de potasio: 8g
- Agua destilada tibia: 3 ml

##### **Solución Stock (A+B)**

#### **Revelador**

- Solución stock: 1ml
- Ácido acético: 2 ml
- Agua destilada: 10 ml

### 2.3. ELABORACIÓN DE CREMA CON EXTRACTO DE SUELDA CON SUELDA

Para la elaboración de la crema se consideró en primer lugar la siguiente fórmula base:

- Fase oleosa 30-40%
- Fase acuosa 70-60%
- Emulgente cs
- Excipientes cs
- Extracto de suelda con suelda 2%

El procedimiento de elaboración a seguir fue el siguiente

- Se reúne la fase oleosa en un recipiente de capacidad suficiente que permita albergar posteriormente a la fase acuosa, y llevarlo a baño maría para que alcance una temperatura interna de 70°C.
- En recipiente aparte se coloca la fase acuosa y los excipientes que se disuelven en ella y se lleva el sistema a 70°C.
- El emulgente se disuelve de acuerdo a su naturaleza, si el hidrosoluble en la fase acuosa y si es liposoluble en la oleosa.
- Una vez que ambas fases alcanzan la temperatura de 70°C, se agrega la fase acuosa sobre la oleosa, lentamente y bajo agitación.
- Retirar la emulsión del baño maría y continuar agitando hasta completo enfriamiento.

- En la emulsión fría añadir el extracto.
- Acondicionar.

## 2.4. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

### 2.4.1.PREPARACIÓN DE LOS ANIMALES

Los animales se sometieron a condiciones uniformes de experimentación, mediante el suministro homogéneo de alimento y agua de beber. Se utilizaron 25 animales de experimentación correspondientes a la especie *Rattus norvegicus* todos macho con peso promedio comprendido entre 260 y 185 gramos.

### 2.4.2.INDUCCIÓN DE INFLAMACIÓN

Para la inducción de la inflamación experimental se requirió de una solución salina de carragenina al 1%. Se administró de esta solución 0.1ml en la región plantar de los animales, a nivel de la zona denominada aponeurosis por vía subcutánea utilizando para ello una jeringa de tuberculina.



**Figura 6: Administración de la carragenina**

### 2.4.3.MEDICIÓN DEL VOLUMEN INFLAMADO

Para la medición del volumen de la pata inflamada – y sin inflamar – de los animales de experimentación se utilizó el instrumento denominado Pletismómetro digital, que es un instrumento que permite medir los pequeños cambios de volumen de tejido inflamado generalmente en patas de roedores. La medición de volumen se realizó en los siguientes tiempos:

- Tiempo 0 (basal)
- Inflamación máxima (tras 4 horas de administrar la carragenina)
- Tiempo 30 min (30 minutos post administración de carragenina y tratamiento)
- Tiempo 1 (1 hora post administración de carragenina y tratamiento)
- Tiempo 2 (2 horas post administración de carragenina y tratamiento)
- Tiempo 4 (4 horas post administración de carragenina y tratamiento)
- Tiempo 8 (8 horas post administración de carragenina y tratamiento)

Todas estas lecturas en ml de volumen de inflamación se utilizaron para el cálculo del porcentaje de la inflamación, que describe el incremento de volumen de inflamación en cada tiempo, a partir del tiempo 0 (basal). Para este cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%Inflamación = \frac{Volumen(ml)_{tiempo} - (Volumen(ml)_{control})}{(Volumen(ml)_{control})} \times 100$$

Donde:

Volumen (ml)<sub>control</sub>: Mililitros de tejido inflamado al tiempo 0

Volumen (ml)<sub>tiempo</sub>: Mililitros de tejido inflamado en los tiempos 30 minutos, 1, 2, 4, 8 horas.

## 2.4.4.DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES

### 2.4.4.1 Para la prueba piloto

Se realizó una prueba piloto a fin de establecer que disolvente utilizado en la extracción con Soxhlet presentaba mayor actividad antiinflamatoria inicial, se realizó la distribución aleatoria de los animales estableciéndose los siguientes grupos en base a sus tratamientos.

- **GC**, Grupo control: Conformado por 3 animales a quienes no se les aplicó ningún tratamiento.
- **GAEt**, Grupo Alcohol etílico: Conformado por 3 animales a quienes se les administró mediante pinceladas extracto etanólico de suelda con suelda.
- **GAcEt**, Grupo Acetato de etilo: Conformado por 3 animales a quienes se les administró mediante pinceladas extracto de acetato de etilo de de suelda con suelda.
- **GBe**, Grupo Benceno: Conformado por 3 animales a quienes se les administró mediante pinceladas extracto bencénico de suelda con suelda.



**Figura 7: Medición en Pletismómetro Digital**

#### 2.4.4.2 Prueba final

La prueba final se utilizó el extracto de suelda con suelda cuyo disolvente permitió una mayor actividad inicial, además se precisó de una forma farmacéutica en crema con extracto seco al 2%, un grupo control y un grupo farmacológico consistente en una crema de diclofenaco al 1%. El detalle a continuación.

- **GC**, Grupo control: Conformado por 3 animales a quienes no se les aplicó ningún tratamiento.
- **GAEt**, Grupo Alcohol etílico: Conformado por 5 animales a quienes se les administró mediante pinceladas extracto etanólico de suelda con suelda.
- **GAEtCre**, Grupo con extracto etanólico en crema: Conformado por 5 animales a quienes se les administró crema con extracto etanólico seco de suelda con suelda al 2%.
- **GBasCre**, Grupo con base de la crema: Conformado por 5 animales a quienes se les administró la base de la crema.
- **GDicloCre**, Grupo con diclofenaco en crema: Conformado por 5 animales a quienes se les administró crema con diclofenaco al 1%.

#### 2.4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

##### 2.4.5.1 Promedio o media aritmética

Se obtiene sumando todos los valores individuales  $\Sigma(n)$  y dividiendo entre el número de valores (n).

$$x = \frac{\Sigma(n)}{n}$$

#### 2.4.5.2 Desviación estándar

Es una medida (cuadrática) que informa de la media de distancias que tienen los datos respecto de su media aritmética, expresada en las mismas unidades que la variable.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(\bar{x} - x)^2}{n - 1}}$$

#### 2.4.5.3 Análisis de varianza

El análisis de varianza sirve para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos.

#### 2.4.5.4 Prueba de Tukey

Es una prueba de comparación múltiple, utiliza medias graduales, se basa en el análisis de varianza y asegura que la probabilidad de una o más comparaciones que se juzgue significativa solamente por azar no sea mayor de 5%, es decir, si el análisis de varianza de los resultados obtenidos fueran significativos a los diferentes tratamientos, se procederá a indagar cuál de ellos fue más eficiente o específico.

$$Tukey = q\alpha(p, v)x \frac{s}{n}$$

Donde:

V: número de grados de libertad

s: raíz cuadrada

n: número de experimentos por grupo



### 3.1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Para la obtención de los extractos en primer lugar se procedió a la obtención de la droga para ello fue adquirida en un mercado local conocido como “Mercado San Camilo”. Se adquirieron aproximadamente 1Kg de droga de suelda con suelda fresca.

Posteriormente se procedió a la estabilización del material vegetal, este se realizó conforme al método descrito, luego se continuó con la desecación. Una vez obtenida la droga completamente seca, se procedió con la extracción.

Se realizó tres extracciones de las hojas de *Ligaria cuneifolia* “suelda con suelda” mediante el método de Soxhlet, utilizando tres disolventes: alcohol etílico, acetato de etilo y benceno. Con los tres disolventes se trabajó con 14 gramos de droga estabilizada, seca y triturada. Siendo utilizados en forma líquida (fluidos) para la evaluación preliminar.

Tras la evaluación preliminar (ver más adelante) se determinó la mayor actividad del extracto etanólico. Para la incorporación de este extracto en una crema, se concentró a sequedad siendo su rendimiento conforme se observa en el cuadro N°1. Con la finalidad de lograr extracto seco en cantidad suficiente se realizaron tres extracciones.

#### CUADRO N°1

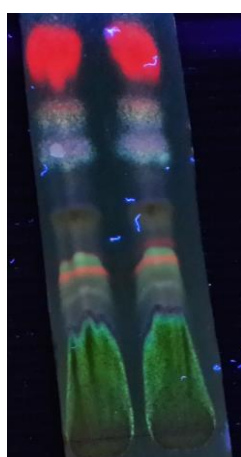
#### RENDIMIENTO PARA EL EXTRACTO ETANÓLICO DE “SUELDA CON SUELDA” OBTENIDO MEDIANTE SOXHLET

Descripción	Extracción 1	Extracción 2	Extracción 3
Droga (gramos)	14	14	14
Disolvente (mililitros)	150	150	150
Extracto seco (gramos)	2.6	2.54	2.4
Rendimiento (%)	18.6	18.1	17.1
Rendimiento promedio (%)	17.9		

Fuente: Elaboración propia

### 3.2. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

La cromatografía en capa fina practica para el extracto etanólico, realizada a través de distintos sistemas de disolventes muestra que existe presencia de sustancias terpénicas, flavonoides y taninos, siendo negativa la reacción para alcaloides y saponinas. Los resultados en imágenes se muestran a continuación.

**Fase Móvil:**

Acetato de etilo (95)

Metanol (15)

Agua (10)

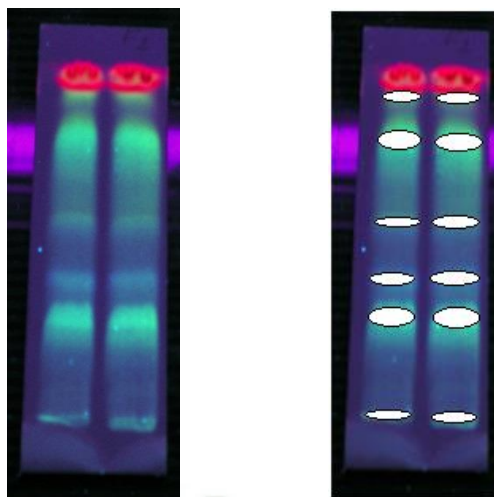
**Revelador:**

Ácido sulfúrico - Vainillina

**Cromatograma del extracto de suelda con suelda para componentes Generales**

El cromatograma para la identificación de componentes generales muestra bajo luz UV manchas rojas, azules, naranjas y verdes, lo que evidenciaría la presencia de sustancias terpénicas.

Por otra parte el cromatograma de identificación para sustancias de tipo flavonósidos, en donde se utilizó como fase móvil un sistema de disolventes compuesto por acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico y agua; teniendo como revelador el reactivo de cloruro de aluminio, muestra manchas de color amarillo intenso bajo la luz UV, muestra reacción positiva ya que se detectaron manchas fluorescentes de color amarillo.



**Fase Móvil:**

Acetato de etilo (100)

Ácido acético (11)

Ácido fórmico (10)

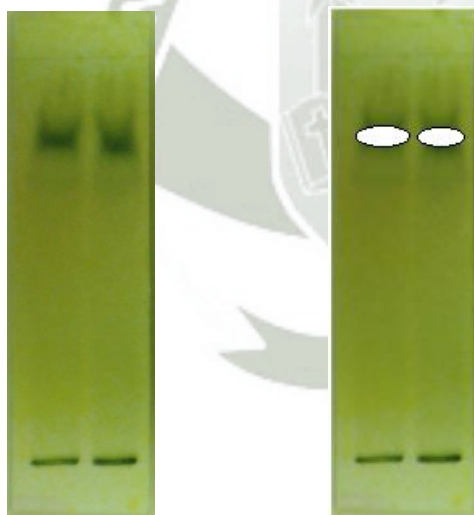
Agua (26)

**Revelador:**

Cloruro de aluminio-etanol

**Cromatograma del extracto de suelda con suelda para Flavonoides**

El cromatograma de identificación de taninos, en donde se utilizó como sistema de disolventes una mezcla de metanol y agua, utilizando como revelador cloruro férrico en solución alcohólica, muestra al visible manchas azulinas, lo que sería reacción positiva para taninos.



**Fase Móvil:**

Metanol (70)

Agua (30)

**Revelador:**

Cloruro férrico-etanol

**Cromatograma del extracto de suelda con suelda para Taninos**

### 3.3. OBTENCIÓN DE LA CREMA

Con la finalidad de obtener una crema con características organolépticas aceptables se ensayaron tres formulaciones, considerándose en primer lugar que debe ser una crema de tipo O/W, siendo la más adecuada la Fórmula N° 1, ya que ésta a

diferencia de las demás durante todo el mes que se las mantuvo no presentó ruptura de fases, cremado ni ningún cambio en su aspecto, que evidencie alguna alteración. En cambio la fórmula 2 presentó ruptura de fases, y la fórmula 3 tenía poca consistencia y sufrió un proceso de cremado.

## CUADRO N°2

### FORMULACIONES REALIZADAS PARA LA INCORPORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE “SUELDA CON SUELDA”

Composición	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3
Extracto seco de <i>Ligaria cuneifolia</i>	2	2	2
Vaselina líquida	10	12	15
Monoestearato de glicerilo	15	10	10
Palmitato de isopropilo	5	--	5
Esperma de ballena	5	3	3
Lanolina	1	1	1
Eumulgin B1	4	1	1
Propilenglicol	4	4	4
Tween 20	1	1	1
Metilparabeno	0.08	0.08	0.08
Propilparabeno	0.02	0.02	0.02
Agua destilada csp	100	100	100

Todas estas formulaciones se prepararon siguiendo el siguiente procedimiento:

- Se pesaron todos los componentes de la fórmula.
- En un vaso de precipitados se reunieron los componentes de la fase oleosa (vaselina líquida, monoestearato de glicerilo, palmitato de isopropilo, esperma de ballena y lanolina) junto al emulgente (Eumulgin B1), y se llevó a baño maría para que la mezcla alcance la temperatura de 70°.
- En otro vaso de precipitados se colocó el agua destilada junto con el propilenglicol y se añadió los conservantes (metilparabeno y

propilparabeno). Esta mezcla también se llevó a baño maría para que alcance la misma temperatura que el vaso con la fase oleosa.

- Una vez que ambas fases alcanzan la temperatura señalada, se procedió a emulsionar añadiendo la fase acuosa sobre la oleosa, poco a poco, mediante agitación constante.
- Agotada la fase acuosa se continuó agitando hasta enfriamiento.
- Una vez fría se añade a la emulsión formada el extracto de suelda con suelda previamente se disolvió este extracto con Tween 20, mediante agitación hasta que esté completamente homogénea.
- Finalmente se procedió al envasado.



**Figura 8: Crema con extracto seco de suelda con suelda**

### 3.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

#### 3.4.1. EVALUACIÓN PILOTO

Inmediatamente a la obtención de los extractos con los distintos disolventes (alcohol etílico, acetato de etilo y benceno) se realizó la prueba piloto que tuvo el objetivo de elegir cuál de estos extractos presenta mayor actividad antiinflamatoria tópica en edema plantar en ratas de laboratorio. Este ensayo se realizó en de 12 ratas divididas en cuatro grupos, tres grupos para los disolventes y el cuarto nos sirvió como grupo control negativo (no se les administró tratamiento alguno).

#### CUADRO N°3

#### EVALUACIÓN PILOTO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA PARA EL EXTRACTO ETANÓLICO

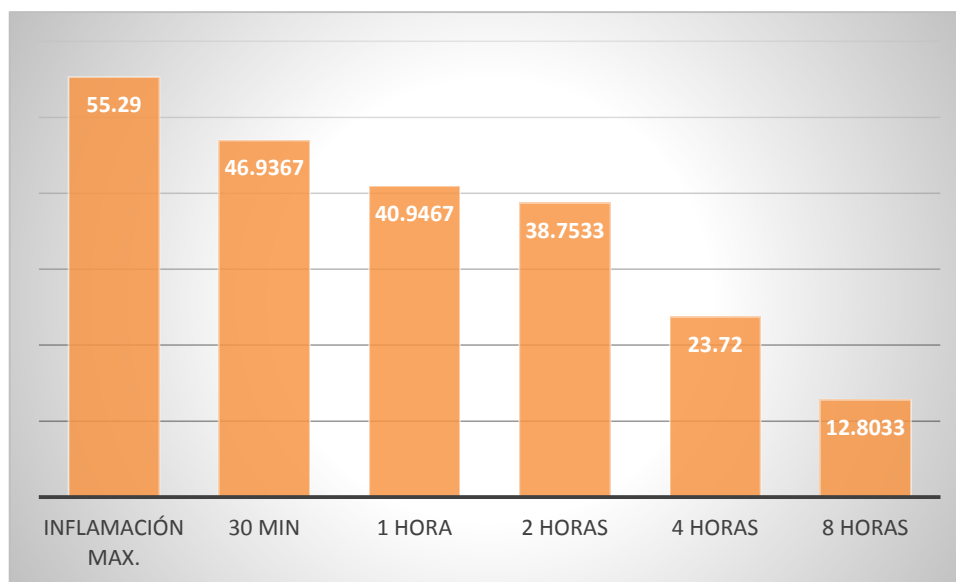
Momento de la medición	N	Media (%)	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
Inflamación max.	3	55,29	59,04	8,03093	14,69	46,07	60,76
30 min	3	46,93	44,94	8,86527	17,39	39,24	56,63
1 hora	3	40,94	39,33	8,95512	17,69	32,91	50,60
2 horas	3	38,75	37,97	5,47717	10,87	33,71	44,58
4 horas	3	23,72	20,25	13,43539	26,19	12,36	38,55
8 horas	3	12,80	13,25	1,39472	2,68	11,24	13,92
Total	18	36,40	38,89	16,28139	49,52	11,24	60,76

Fuente: Elaboración propia

El CUADRO N°3 muestra los resultados para el extracto etanólico observamos que los promedios del porcentaje de inflamación decrecen en cada momento de las mediciones. Si se observa el volumen de inflamación máxima (que fue cuatro horas tras la administración de la carragenina) y la última medición existe una disminución notable. Estos resultados se ilustran con mayor claridad en el gráfico de barras correspondiente.

**GRÁFICO N°1**

**PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN PILOTO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA  
PARA EL EXTRACTO ETANÓLICO**



Fuente: Elaboración propia

**CUADRO N°4**

**EVALUACIÓN PILOTO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA PARA EL EXTRACTO  
CON ACETATO DE ETILO**

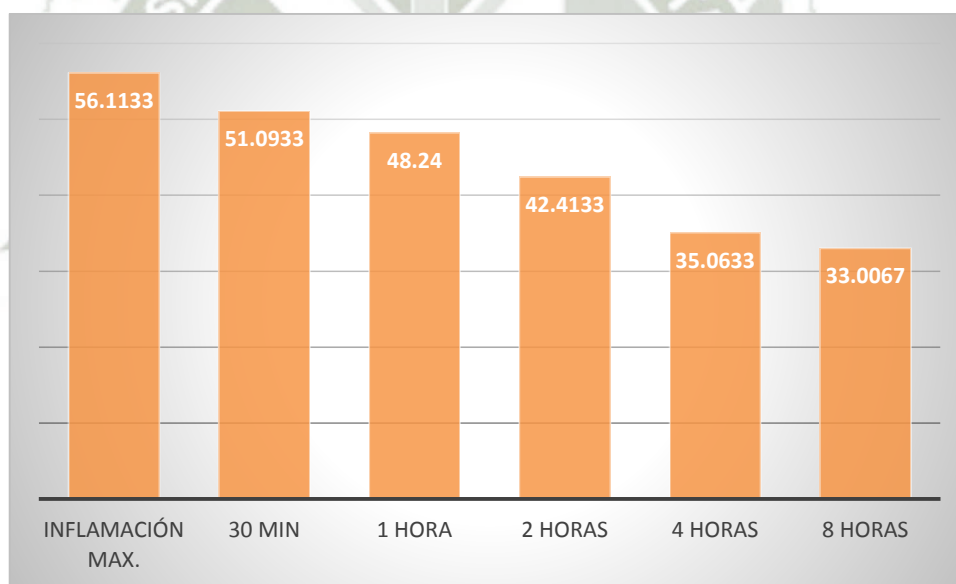
Momento de la medición	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
Inflamación max.	3	56,11	55,29	4,02860	7,93	52,56	60,49
30 min	3	51,09	51,76	9,74711	19,46	41,03	60,49
1 hora	3	48,24	48,24	9,78000	19,56	38,46	58,02
2 horas	3	42,41	44,71	13,20564	26,11	28,21	54,32
4 horas	3	35,06	35,80	6,51631	12,97	28,21	41,18
8 horas	3	33,00	29,63	7,11383	12,97	28,21	41,18
Total	18	44,32	42,94	11,38008	32,28	28,21	60,49

Fuente: Elaboración propia

El CUADRO N°4 muestra los resultados para el extracto obtenido con acetato de etilo observamos que los promedios del porcentaje de inflamación decrecen en cada momento de las mediciones. Si se observa el volumen de inflamación máxima (que fue cuatro horas tras la administración de la carragenina) y la última medición existe una disminución que si bien es cierto existe es un tanto menor en comparación al anterior cuadro. Estos resultados se ilustran con mayor claridad en el gráfico de barras correspondiente.

### GRÁFICO N°2

#### PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN PILOTO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA PARA EL EXTRACTO CON ACETATO DE ETILO



Fuente: Elaboración propia

**CUADRO N°5****EVALUACIÓN PILOTO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA PARA EL EXTRACTO  
CON BENCENO**

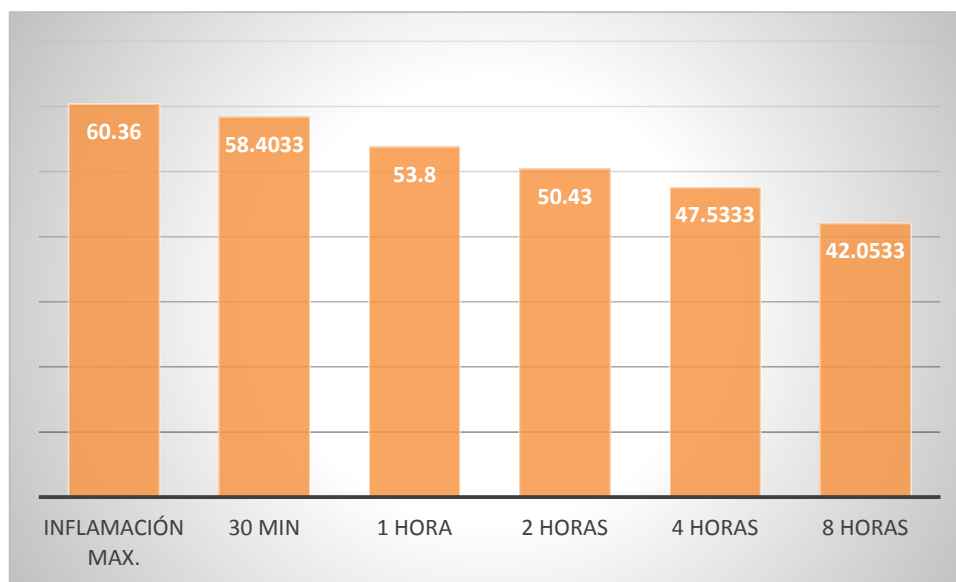
Momento de la medición	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
Inflamación max.	3	60,36	58,54	7,32167	14,30	54,12	68,42
30 min	3	58,40	54,88	10,04943	19,15	50,59	69,74
1 hora	3	53,80	50,00	8,15362	14,92	48,24	63,16
2 horas	3	50,43	47,06	6,47057	11,55	46,34	57,89
4 horas	3	47,53	45,12	5,61358	10,42	43,53	53,95
8 horas	3	42,05	41,18	2,37372	4,50	40,24	44,74
Total	18	52,09	50,29	8,76649	29,50	40,24	69,74

Fuente: Elaboración propia

El CUADRO N°5 muestra los resultados para el extracto obtenido con benceno observamos que los promedios del porcentaje de inflamación decrecen en cada momento de las mediciones. Si se observa el volumen de inflamación máxima que en este caso alcanzo el 60.36% (que fue cuatro horas tras la administración de la carragenina) y la última medición existe una disminución considerable. Estos resultados se ilustran con mayor claridad en el gráfico de barras correspondiente.

**GRÁFICO N°3**

**PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN PILOTO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA  
PARA EL EXTRACTO CON BENCENO**



Fuente: Elaboración propia

**CUADRO N°6**

**EVALUACIÓN PILOTO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA PARA EL GRUPO  
CONTROL**

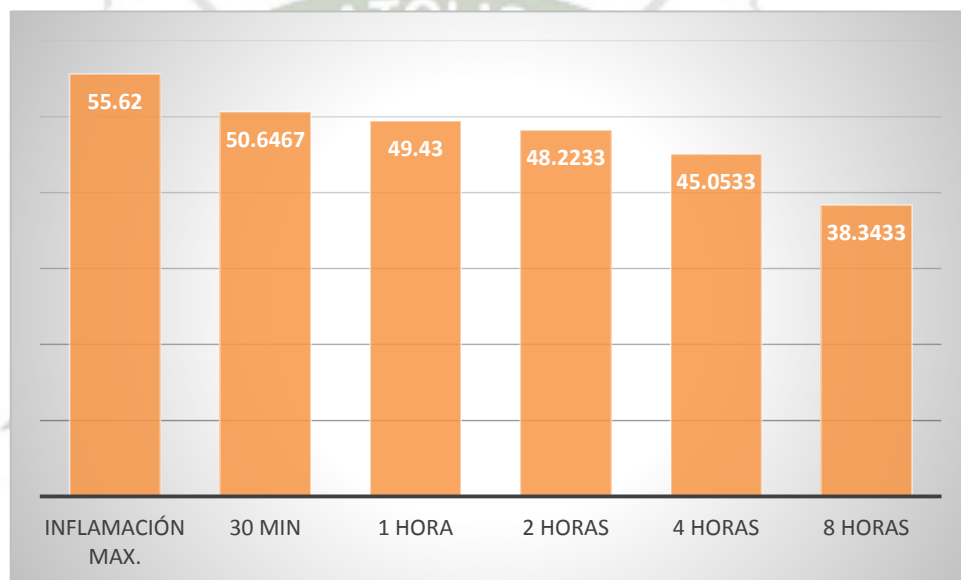
Momento de la medición	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
Inflamación max.	3	55,62	54,43	4,61163	8,99	51,72	60,71
30 min	3	50,64	49,43	10,82640	21,55	40,48	62,03
1 hora	3	49,43	49,43	11,33000	22,66	38,10	60,76
2 horas	3	48,22	48,28	11,29511	22,59	36,90	59,49
4 horas	3	45,05	43,68	11,28286	22,44	34,52	56,96
8 horas	3	38,34	32,18	11,75651	20,95	30,95	51,90
Total	18	47,88	49,43	10,36666	31,08	30,95	62,03

Fuente: Elaboración propia

El CUADRO N°6 muestra los resultados de la prueba piloto para el grupo control observamos que los promedios del porcentaje de inflamación decrecen en cada momento de las mediciones. Sin embargo, esta disminución no es tan manifiesta como en los casos anteriores. Estos resultados se ilustran con mayor claridad en el gráfico de barras correspondiente.

#### GRÁFICO N°4

##### PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN PILOTO DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA PARA EL CONTROL



Fuente: Elaboración propia

Para la diferenciación entre los grupos de tratamiento es necesario realizar pruebas de hipótesis, para ello se precisó de un Anova de dos factores con la finalidad de evaluar la medición del porcentaje de la inflamación en los distintos grupos de tratamiento (primer factor) a diferentes tiempos (segundo factor). Los resultados de esta prueba de estadística se ilustran en el CUADRO 7.

**CUADRO N°7**

**ANOVA DE DOS FACTORES PARA LA EVALUACIÓN PILOTO DE LOS TRES TIPOS DE  
EXTRACTOS DE SUELDA CON SUELDA**

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Grupo Piloto * Tiempo Piloto	968,913	15	64,594	0,829	0,642
	3740,238	48	77,922c		

Fuente: Elaboración propia

El CUADRO N° 7 muestra los resultados para el ANOVA de dos factores, a un nivel crítico de 0.05 se observa una significancia de 0.642, valor que es superior al nivel aceptado por lo que según el análisis de varianza no existen diferencias entre los distintos grupos experimentales, es por ello que se precisó realizar un análisis discriminante de comparación múltiple o procedimiento de Tukey.

**CUADRO N°8**

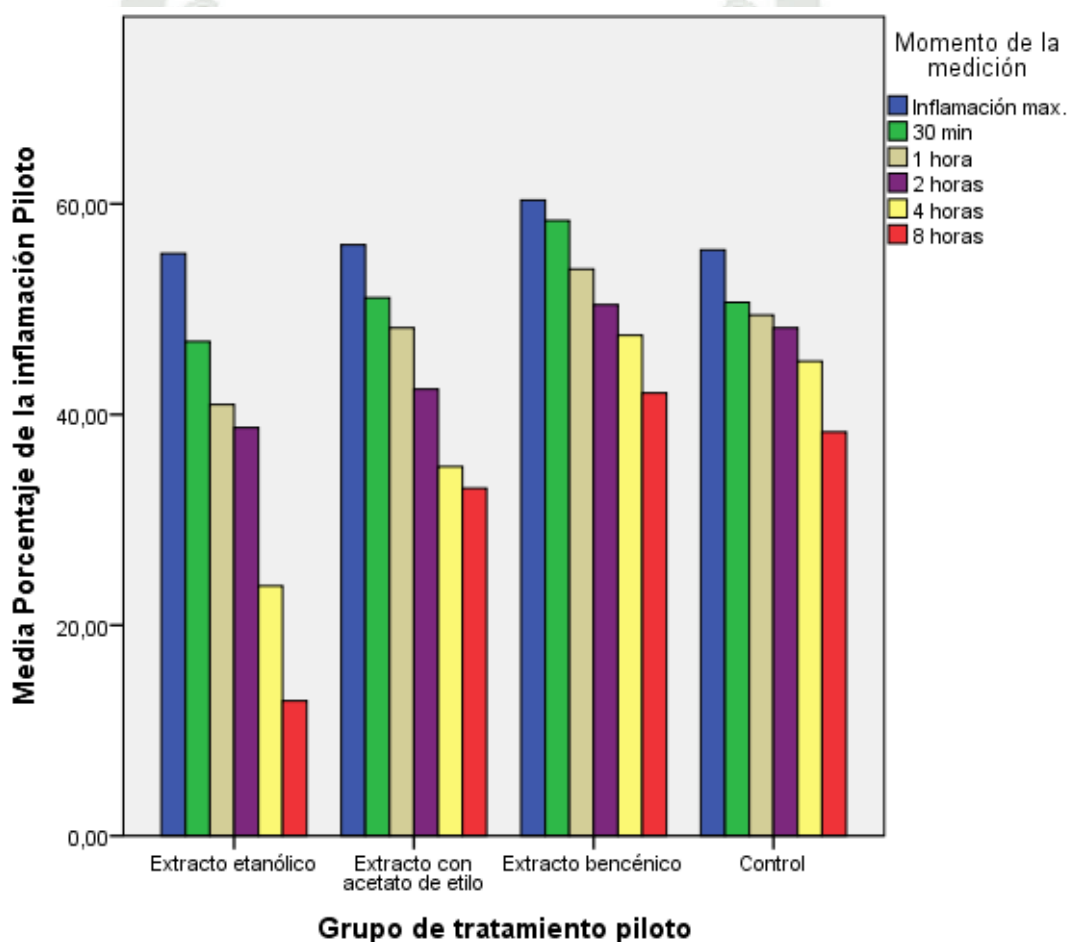
**PROCEDIMIENTO DE TUKEY PARA LA EVALUACIÓN PILOTO DE LOS TRES TIPOS DE  
EXTRACTOS DE SUELDA CON SUELDA**

Grupo de tratamiento piloto	N	Subconjunto	
		A	B
Extracto etanólico	18	36,4083	
Extracto con acetato de etilo	18		44,3217
Control	18		47,8861
Extracto bencénico	18		52,0967
Sig.		1,000	0,052

Fuente: Elaboración propia

El procedimiento de Tukey que se observa en el CUADRO N°8 muestra dos columnas la columna A y B, en cada columna se agrupan a los tratamientos que no muestran diferencias significativas. En este sentido se aprecia que en la columna B

se encuentran el grupo tratado con extracto con acetato de etilo, el tratado con extracto con benceno y el grupo control, al estar en la misma columna estos tres grupos no muestran diferencias significativas a un nivel crítico de 0.05; en la columna A se encuentra sólo al grupo tratado con extracto etanólico y al estar este grupo en una columna distinta, presenta diferencias significativas respecto a los otros grupos que en cuanto a sus medias y varianzas no son diferentes al grupo control. Por lo tanto y en conclusión el extracto con mayor eficacia inicial es el grupo tratado con extracto obtenido utilizando como disolvente al alcohol etílico.



### 3.4.2.EVALUACIÓN FINAL

Luego de evaluar los resultados hallados de la prueba piloto o preliminar se encontró el mayor efecto con el extracto etanólico, con este resultado se procedió a realizar la prueba definitiva utilizando este extracto además, se le dio una forma farmacéutica en crema, en donde se incorporó el extracto etanólico llevado a sequedad para retirar todo el disolvente y se añadió a una concentración del 2%, también se consideró un grupo tratado con la crema base, un grupo tratado con una crema de diclofenaco al 1% y un grupo control. Cada grupo requirió de 5 animales de experimentación haciendo un total de 25 ratas de laboratorio.

#### CUADRO N°9

#### PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN PARA EL GRUPO TRATADO CON EXTRACTO ETANÓLICO DE SUELDA CON SUELDA

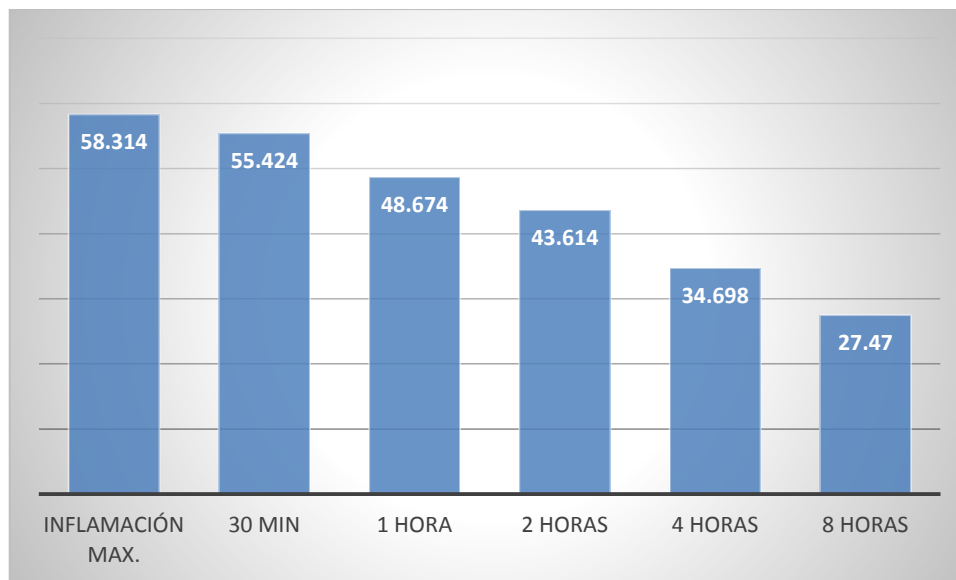
Momento de la medición	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
Inflamación max.	5	58,31	59,04	3,67443	9,64	53,01	62,65
30 min	5	55,42	55,42	1,20500	2,41	54,22	56,63
1 hora	5	48,67	48,19	1,37304	3,61	46,99	50,60
2 horas	5	43,61	43,37	2,31942	6,03	40,96	46,99
4 horas	5	34,69	34,94	2,87313	7,22	31,33	38,55
8 horas	5	27,47	26,51	6,78164	15,66	20,48	36,14
Total	30	44,69	46,99	11,56243	42,17	20,48	62,65

Fuente: Elaboración propia

El CUADRO N°9 presenta los estadísticos de los porcentajes de la inflamación para el grupo tratado con el extracto etanólico, se observa al igual que en la prueba piloto un descenso en el porcentaje inflamatorio desde una inflamación máxima que fue medida a las 4 horas de administrada la carragenina como inductor de la inflamación, hasta las 8 horas en donde se observó un 27.4% de volumen inflamatorio en porcentaje. El grafico ilustra mejor estos resultados.

**GRÁFICO N°5**

**PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN FINAL DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA  
PARA EL EXTRACTO ETANÓLICO**



**CUADRO N°10**

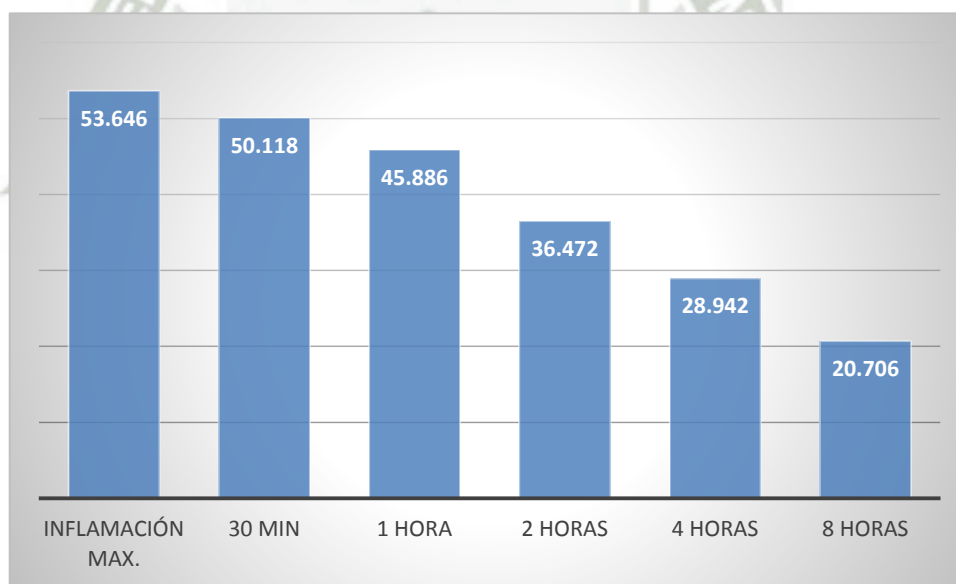
**PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN PARA EL GRUPO TRATADO CON CREMA MÁS  
EXTRACTO ETANÓLICO DE SUELDA CON SUELDA**

Momento de la medición	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
Inflamación max.	5	53,64	54,12	2,70853	7,06	49,41	56,47
30 min	5	50,11	50,59	2,43726	5,88	47,06	52,94
1 hora	5	45,88	47,06	2,99960	7,06	41,18	48,24
2 horas	5	36,47	35,29	3,00058	7,06	34,12	41,18
4 horas	5	28,94	29,41	4,74906	10,59	23,53	34,12
8 horas	5	20,70	18,82	4,04077	9,41	17,65	27,06
Total	30	39,29	41,18	12,34114	38,82	17,65	56,47

Fuente: Elaboración propia

El CUADRO N°10 presenta los estadísticos de los porcentajes de la inflamación para el grupo tratado con crema más el extracto etanólico, cabe precisar que para la realización de la forma farmacéutica se consideró llevar a sequedad (concentrar) el extracto etanólico, incorporándose a una concentración del 2%. En los resultados se observa al igual que el cuadro anterior un descenso en el porcentaje inflamatorio desde una inflamación máxima que fue de 53.64%, hasta las 8 horas en donde se observó un 27.4% de volumen inflamatorio en porcentaje. El grafico ilustra mejor estos resultados.

**GRÁFICO N°5**  
**PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN FINAL DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA**  
**PARA LA CREMA CON EXTRACTO ETANÓLICO**



**CUADRO N°11****PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN PARA EL GRUPO TRATADO CON LA CREMA BASE**

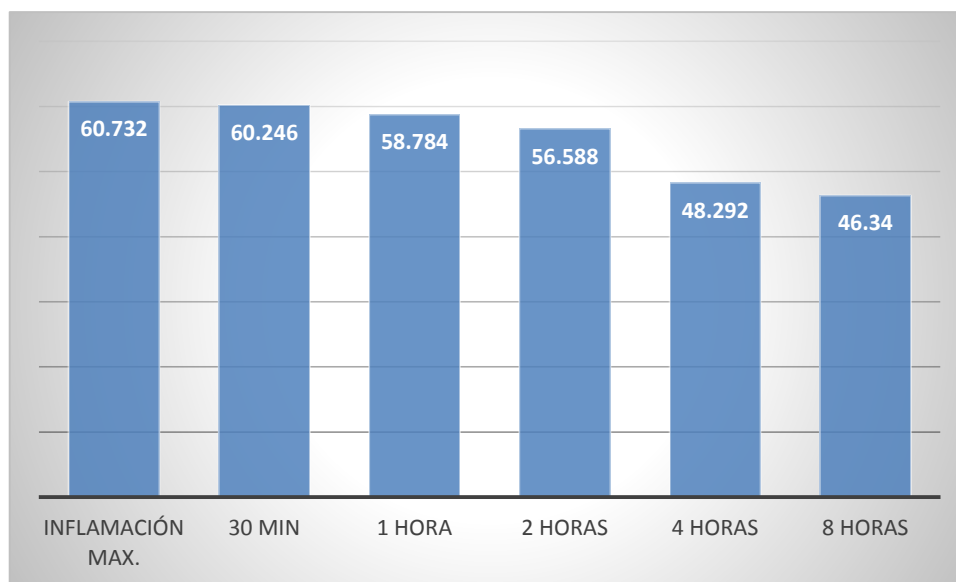
Momento de la medición	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
Inflamación max.	5	60,73	58,54	3,59306	7,31	57,32	64,63
30 min	5	60,24	59,76	3,29293	8,53	56,10	64,63
1 hora	5	58,78	58,54	2,34672	6,10	56,10	62,20
2 horas	5	56,58	56,10	1,85022	3,66	54,88	58,54
4 horas	5	48,29	48,78	3,18137	7,32	45,12	52,44
8 horas	5	46,34	45,12	3,55688	8,54	43,90	52,44
Total	30	55,16	56,71	6,45160	20,73	43,90	64,63

Fuente: Elaboración propia

Con la finalidad de descartar cualquier influencia de la crema base sobre la actividad antiinflamatoria del extracto fue necesaria evaluarla a través de un grupo experimental. El CUADRO N°11 presenta los estadísticos de los porcentajes de la inflamación para el grupo tratado con crema base se observa un descenso en el porcentaje de la inflamación aunque a primera vista dicho descenso no es tan marcado como en los grupos anteriores. Como inflamación máxima se tuvo un 60.73% y a las 8 horas se observó un 46.34% de volumen inflamatorio en porcentaje. El grafico ilustra mejor estos resultados.

**GRÁFICO N°6**

**PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN FINAL DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA  
PARA LA CREMA BASE**



**CUADRO N°12**

**PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN PARA EL GRUPO TRATADO CON CREMA DE  
DICLOFENACO AL 1%**

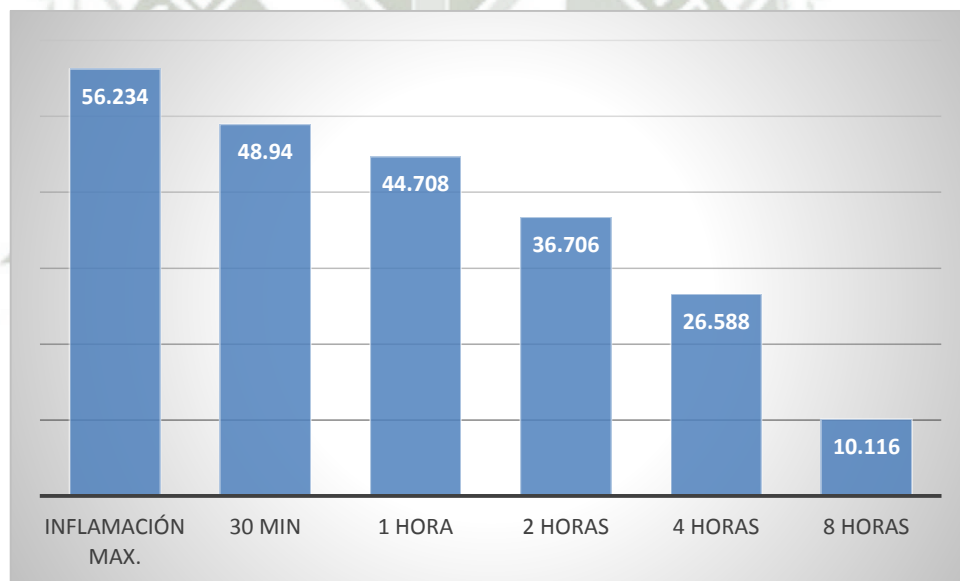
Momento de la medición	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
Inflamación max.	5	56,23	56,47	3,66305	9,41	50,59	60,00
30 min	5	48,94	47,06	3,17745	7,06	45,88	52,94
1 hora	5	44,70	44,71	2,63074	7,06	41,18	48,24
2 horas	5	36,70	36,47	2,26328	5,88	34,12	40,00
4 horas	5	26,58	29,41	6,03147	15,29	17,65	32,94
8 horas	5	10,11	9,41	4,89514	11,77	5,88	17,65
Total	30	37,21	40,59	15,97201	54,12	5,88	60,00

Fuente: Elaboración propia

Como grupo control positivo se utilizó un grupo tratado con diclofenaco en una forma farmacéutica tópica también en crema, la que se dispone en el comercio es una al 1%. El CUADRO N°12 presenta los estadísticos de los porcentajes de la inflamación para el grupo tratado con esta crema se observa un descenso en el porcentaje de la inflamación. Como inflamación máxima se tuvo un 56.23% y a las 8 horas se observó un 10.11% de volumen inflamatorio en porcentaje. Claramente existe un marcado descenso en el volumen inflamatorio. El grafico ilustra mejor estos resultados.

**GRÁFICO N°5**

**PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN FINAL DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA  
PARA LA CREMA DE DICLOFENACO AL 1%**



El CUADRO N°13 presenta los estadísticos de los porcentajes de la inflamación para el grupo control como inflamación máxima se tuvo un 59.06% y a las 8 horas se observó un 43.76% de volumen inflamatorio en porcentaje. El grafico ilustra mejor estos resultados.

**CUADRO N°13**

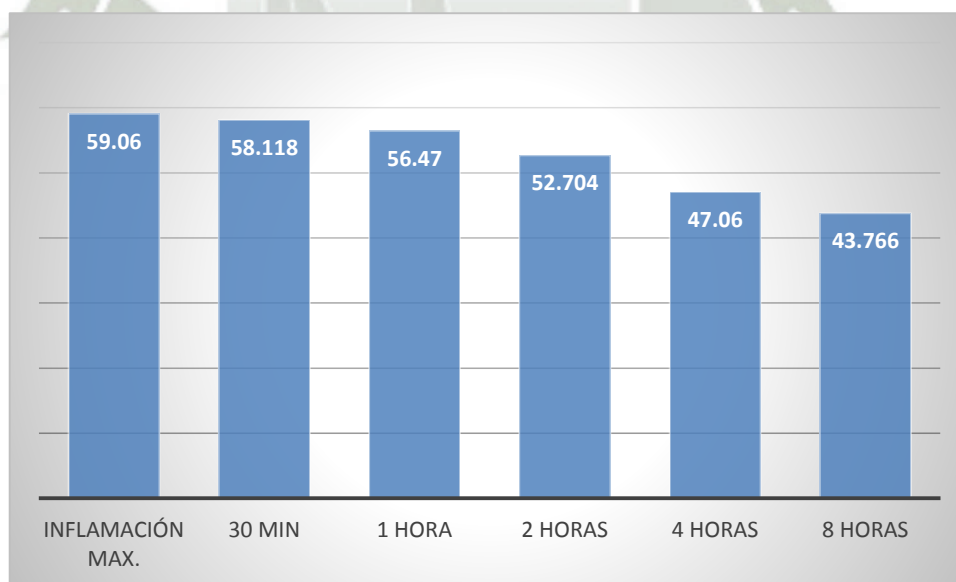
**PORCENTAJE DE LA INFLAMACIÓN PARA EL GRUPO CONTROL**

Momento de la medición	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Rango	Mínimo	Máximo
Inflamación max.	5	59,06	58,82	1,53393	3,53	57,65	61,18
30 min	5	58,11	57,65	1,96974	4,71	55,29	60,00
1 hora	5	56,47	56,47	2,99862	7,06	52,94	60,00
2 horas	5	52,70	51,76	2,26328	5,88	50,59	56,47
4 horas	5	47,06	47,06	2,20090	5,88	44,71	50,59
8 horas	5	43,76	43,53	1,74348	4,70	41,18	45,88
Total	30	52,86	53,53	6,13172	20,00	41,18	61,18

Fuente: Elaboración propia

**GRÁFICO N°7**

**PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN FINAL DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA  
PARA EL GRUPO CONTROL**



Para la diferenciación entre los grupos de tratamiento es necesario también realizar pruebas de hipótesis, para ello se precisó de un Anova de dos factores con la finalidad de evaluar la medición del porcentaje de la inflamación en los distintos grupos de tratamiento (primer factor) a diferentes tiempos (segundo factor). Los resultados de esta prueba de estadística se ilustran en el CUADRO 7.

**CUADRO N°14**

**ANOVA DE DOS FACTORES PARA LA EVALUACIÓN FINAL DE LOS CINCO GRUPOS DE TRATAMIENTO EXPERIMENTALES A LOS DISTINTOS TIEMPOS**

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Grupo Final * Tiempo Final	2241,103	20	112,055	10,305	,000
	1304,832	120	10,874 <sup>c</sup>		

Fuente: Elaboración propia

El CUADRO N° 14 presenta los resultados para el ANOVA de dos factores, a un nivel crítico de 0.05 se observa una significancia de 0.000, valor que es inferior al nivel aceptado por lo que según el análisis de varianza existen diferencias entre los distintos grupos experimentales, es por ello que se precisó realizar un análisis discriminante de comparación múltiple o procedimiento de Tukey.

El procedimiento de Tukey que se observa en el CUADRO N°15 muestra dos columnas la columna A, B y C, en cada columna se agrupan a los tratamientos que no muestran diferencias significativas, y a la vez estas columnas (y los grupos incluidos en ellas) presentan diferencias significativas entre ellas. En este sentido se aprecia que en la columna A se encuentran el grupo tratado con diclofenaco en crema al 1% y el grupo con crema más extracto de suelda con suelda al 2%, en la columna C se encuentra sólo al grupo tratado con extracto etanólico, finalmente en la columna C se encuentra al grupo tratado con la crema base y el grupo control. Se puede concluir según esta distribución que el grupo tratado con crema no tendría actividad antiinflamatoria

ya que se encuentra en la columna donde está el grupo control, que fue un grupo al que no se administró tratamiento alguno. Por otra parte el grupo experimental con extracto que presenta actividad antiinflamatoria es el grupo tratado con crema más extracto de suelda con suelda, ya que se ubica junto al grupo tratado con diclofenaco. Finalmente el grupo tratado con extracto etanólico de suelda con suelda presenta una actividad antiinflamatoria “intermedia” ya que se ubica entre las columna que contiene al grupo control y la que contiene al grupo con diclofenaco al 1%.

**CUADRO N°15**

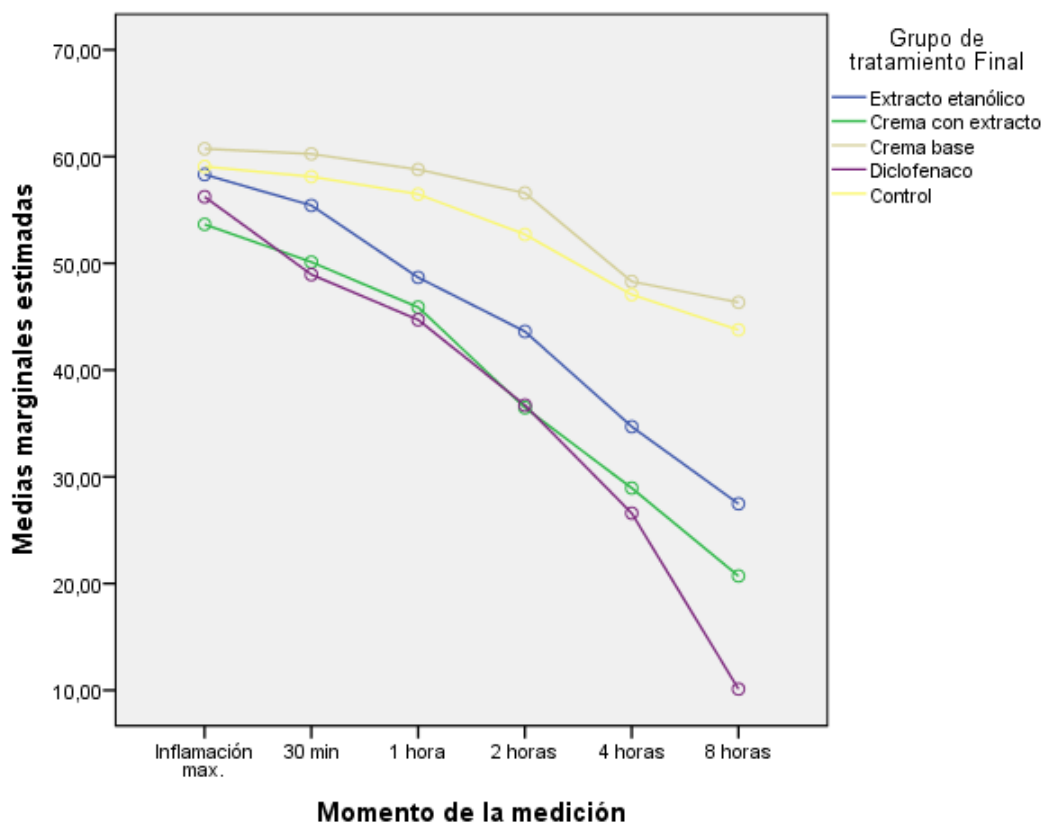
**PROCEDIMIENTO DE TUKEY PARA LA EVALUACIÓN FINAL DE LOS CINCO GRUPOS  
DE TRATAMIENTO EXPERIMENTALES A LOS DISTINTOS TIEMPOS**

Grupo de tratamiento Final	N	Subconjunto		
		A	B	C
Diclofenaco	30	37,2153		
Crema con extracto	30	39,2950		
Extracto etanólico	30		44,6990	
Control	30			52,8630
Crema base	30			55,1637
Sig.		0,111	1,000	0,060

Fuente: Elaboración propia

**GRÁFICO N°8**

**PROMEDIOS DE LA EVALUACIÓN FINAL DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE  
LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS A LOS DISTINTOS TIEMPOS**



## CONCLUSIONES

### PRIMERA

Mediante destilación con equipo Soxhlet se obtuvieron extractos de 14 gramos de hojas estabilizadas y secas de suelda con suelda, utilizando tres disolventes: Alcohol etílico, acetato de etilo y benceno.

### SEGUNDA

Mediante una prueba piloto practicada en 12 animales de experimentación distribuidos en cuatro grupos (alcohol etílico, acetato de etilo, benceno y control) se determinó que el grupo tratado con extracto con alcohol etílico presenta mayor actividad antiinflamatoria, ello al realizar un procedimiento de Tukey ya que este grupo es diferente estadísticamente – a un nivel crítico de 0.05 – del grupo con acetato de etilo, bencénico y control. Por su parte los dos últimos disolventes son estadísticamente similares al control.

### TERCERA

El análisis fitoquímico preliminar realizado mediante cromatografía en capa fina mostró como resultados la presencia de sustancias terpénicas, flavonoides y taninos.

### CUARTA

En la evaluación final del extracto y la crema más extracto seco al 2% de suelda con suelda tras el análisis mediante el procedimiento de Tukey a un nivel crítico de 0.05, se observó que esta última tiene una actividad antiinflamatoria superior en comparación con la del extracto. Sin embargo el extracto presenta actividad inflamatoria debido a que es diferente al grupo control.

### QUINTA

Comparando los resultados de los grupos experimentales con el grupo tratado con crema de diclofenaco al 1%, se determinó mediante el procedimiento de Tukey a un

nivel crítico de 0.05, que sólo la crema más extracto tiene una actividad estadísticamente similar a la del diclofenaco, por su parte el grupo tratado con extracto presenta una actividad antiinflamatoria “intermedia”, debido a que se ubica entre el grupo tratado con diclofenaco y el control. Finalmente el grupo tratado con crema base es estadísticamente similar al control por lo que como vehículo no presenta actividad antiinflamatoria que influya en la actividad del extracto de suelda con suelda presente en la crema.



## SUGERENCIAS

1. Realizar más estudios confirmatorios de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de suelda con suelda, con otras plantas medicinales recolectados de distintas localidades.
2. Determinar la seguridad (tolerancia cutánea o las reacciones adversas) de la crema más extracto seco de suelda con suelda tras la aplicación tópica en piel sana e inflamada en estudios clínicos realizados a personas sanas.
3. Realizar un control de calidad y estudio de mercado para la probable introducción al comercio farmacéutico de una crema elaborada con extracto de suelda con suelda.
4. Evaluar las otras actividades de *Ligaria cuneifolia* “suelda con suelda” que atribuye la población a esta planta medicinal presente en nuestra flora local.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Sotta Apaza Norma: PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS DE LA REGIÓN AREQUIPA. 1ª Edición 2000. Ediciones CORDAID.
2. Tejada Cano M. (Director): ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD CUENTA DEL COTAHUASI: LA UNIÓN AREQUIPA FLORA MEDICINAL. 1ª Edición. 1998. Asociación Especializada para el desarrollo.
3. Pillaca Gómez K.: EFECTO CICATRIZANTE DEL EXTRACO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES Y HOJAS DE *LIGARIA CUNEIFOLIA* "TULLMA". Universidad Nacional San Cristobal de Huamanga, Área académica de Farmacia. Ayacucho, Perú. 2008.
4. Farreras Rozman: MEDICINA INTERNA, 13ª Edición. 2003. Editorial Elsevier.
5. Mattson Porth Carol: FUNDAMENTOS DE FISIOPATOLOGÍA. 3ª Edición. 2013. Editorial Lippincott Williams & Wilkins. España.
6. Bruneton J.: FARMACOGNOSIA FITOQUÍMICA PLANTAS MEDICINALES. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.
7. Guyton Arthur: TEXBOOK OF MEDICAL PHYSIOLOGY. 11ª Edición. 2006. Editorial Elsevier.
8. Ganong William: FISIOLOGÍA MÉDICA. 19ª Edición, 2009. Editorial El Manual Moderno. México.
9. C. Rozman: COMPENDIO DE MEDICINA INTERNA, 2ª Edición. 2002. Ediciones Harcourt S.A.
10. Alvarado Alva J.: APUNTES DE FARMACOLOGÍA. 3ª Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
11. Kalant Harold & Roschlau Walter: PRINCIPIOS BÁSICOS DE FARMACOLOGÍA MÉDICA. 6ª Edición, 2002. Editorial Oxford University Press. México.

12. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C. y Moro M.A.: VELÁZQUEZ FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA, 18ª Edición. 2009. Editorial Médica Panamericana.
13. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios: FORMULARIO NACIONAL. 1ª Edición. 2003. Ministerio de Sanidad y Consumo de España.
14. Aulton M.E. (Editor): PHARMACEUTICS THE SCIENCE OF DOSAGE FORM DESIGN. 2ª Edition. 2004. Editorial Churchill Livingstone.
15. Lock de Ugaz O.: INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA MÉTODOS EN EL ESTUDIO DE PRODUCTOS NATURALES. 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
16. Aldave Pajares Augusto; Mostacero León José: BOTÁNICA FARMACÉUTICA. 1ª Edición. 1988. Editorial Libertad. Lima, Perú.
17. Brack Egg Antonio: DICCIONARIO ENCICLOPÉDICO DE PLANTAS ÚTILES DEL PERÚ. 1ª Edición. 1999.
18. Bravo Díaz Luis: FARMACOGNOSIA. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
19. Carruthers G. & Hoffman B. & Melmon K. & Nierenberg D.: CLINICAL PHARMACOLOGY. 4ª Edition, 2000. Editorial McGraw Hill.
20. Cseke Leland, Ara Kirakosyan, Peter Kaufman, James Duke, and Harry Brielmann: NATURAL PRODUCTS FROM PLANTS. Second Edition. Taylor and Francis Group. 2006.
21. Daniel Wayne: BIOESTADÍSTICA, BASE PARA EL ANÁLISIS DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD. 4ª Edición, 2007. Editorial Limusa S.A. México.
22. Flórez Jesús: FARMACOLOGÍA HUMANA, 5ª Edición. 2008. Editorial Elsevier España.
23. GARCÍA GUTIÉRREZ, ZEA CHÁVEZ: “Efecto antiinflamatorio tópico de la asociación de *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) y *Calendula officinalis* (caléndula) en el edema inducido experimentalmente en ratas”
24. Gennaro Alfonso: REMINGTON FARMACIA. 20ª Edición. Editorial Médica Panamericana. 2003. Buenos Aires, Argentina.

25. Harman J., Limbirt L. y Gilman A.: LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA, 12ª Edición. 2013. McGraw-Hill Interamericana.
26. Harvey R. & Champe P. (Editors): PHARMACOLOGY. 4ª Edición, 2009. Lippincott Edition.
27. Hernández Sampieri R., Fernández Collado C.: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN, 5ª Edición, 2010. McGRAW HILL Interamericana Editores.
28. Kukllinski C.: FARMACOGNOSIA, ESTUDIO DE LAS DROGAS Y SUSTANCIAS MEDICAMENTOSAS DE ORIGEN NATURAL, 1ª Edición, 2000. Ediciones Omega S.A.
29. Makkar H., Siddhuraju and Klaus Becker: PLANT SECONDARY METABOLITES, First Edition. Humana Press. 2007.
30. Marcano Deanna y Hasegawa Masahisa: FITOQUÍMICA ORGÁNICA. 2ª Edición. 2002. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
31. Moreno Ramirez F.: DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA IN VIVO DE UNA CREMA A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA GRINDELIA BOLLIVIANA RUSBY (CHIRI CHIRI). Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa, Perú 2010.
32. 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. Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa, Perú 2013.
33. Mostacero J.; Mejia F.; Gamarra O.: TAXONOMÍA DE LAS FANERÓGAMAS ÚTILES DEL PERÚ. 1ª Edición. 2002. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú.
34. Ocampo Rogelio y otros: CURSO PRÁCTICO DE QUÍMICA ORGÁNICA ENFOCADO A BIOLOGÍA Y ALIMENTOS. 1ª Edición. 2008. Comité Editorial Universidad de Caldas.
35. Rang H. & Dale M.: PHARMACOLOGY, 6ª Edition, 2007. Editorial Elsevier.

36. Ríos Ochochoque R., Rodríguez Amado J.: EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE UN GEL TOPICO A BASE DE GAMOCHAERA AMERICANA (QUETO QUETO) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa, Perú 2013.
37. RODES TEIXIDOR, GUARDIA MASSÓ: Medicina Interna. Editorial Masson SA. España 1997.
38. Rowe R.; Sheskey P. & Owen S. (Editores): HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS. 5ª Edición. 2006. Pharmaceutical Press.
39. Skoog D.; Leary J.: ANÁLISIS INSTRUMENTAL. 6ª Edición. 2008. Editorial Latinoamericana.
40. Swarbrick J.: ENCYCLOPEDIA OF PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY. 3ª Edición. 2007. Editorial Advisory Board.
41. Thompson Judith: PRÁCTICA CONTEMPORÁNEA EN FARMACIA, 2ª Edición. 2006. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana.
42. Vila Jato José Luis (Editor): TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA. 1ª Edición 2001. Editorial SINTESIS S.A.
43. Villar del Fresno A. (Editor): FARMACOGNOSIA GENERAL. 1ª Edición 2000. Editorial Síntesis S.A.
44. World Health Organization: QUALITY CONTROL METHODS FOR MEDICINAL PLANT MATERIALS. 1992.

## ANEXOS



## ANEXO N°1: PRUEBA PILOTO (ML VOLUMEN INFLAMACIÓN)

Tiempo de medición	N° Animales	Grupo de tratamiento			
		Etanólico	Acetato de etilo	Benceno	Control
Basal	1	0,83	0,85	0,82	0,84
	2	0,89	0,81	0,76	0,79
	3	0,79	0,78	0,85	0,87
Inflam. Max	1	1,32	1,32	1,30	1,35
	2	1,30	1,30	1,28	1,22
	3	1,27	1,19	1,31	1,32
30 min	1	1,30	1,29	1,27	1,18
	2	1,29	1,30	1,29	1,28
	3	1,10	1,10	1,28	1,30
1 hora	1	1,25	1,26	1,23	1,16
	2	1,24	1,28	1,24	1,27
	3	1,05	1,08	1,26	1,30
2 horas	1	1,20	1,23	1,20	1,15
	2	1,19	1,25	1,20	1,26
	3	1,09	1,00	1,25	1,29
4 horas	1	1,15	1,20	1,19	1,13
	2	1,00	1,10	1,17	1,24
	3	0,95	1,00	1,22	1,25
8 horas	1	0,94	1,20	1,15	1,10
	2	0,99	1,05	1,10	1,20
	3	0,90	1,00	1,20	1,15

## ANEXO N°2: PRUEBA PILOTO (PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN)

Tiempo de medición	N° Animales	Grupo de tratamiento			
		Etanólico	Acetato de etilo	Benceno	Control
Inflam. Max	1	59,04	55,29	58,54	60,71
	2	46,07	60,49	68,42	54,43
	3	60,76	52,56	54,12	51,72
30 min	1	56,63	51,76	54,88	40,48
	2	44,94	60,49	69,74	62,03
	3	39,24	41,03	50,59	49,43
1 hora	1	50,60	48,24	50,00	38,10
	2	39,33	58,02	63,16	60,76
	3	32,91	38,46	48,24	49,43
2 horas	1	44,58	44,71	46,34	36,90
	2	33,71	54,32	57,89	59,49
	3	37,97	28,21	47,06	48,28
4 horas	1	38,55	41,18	45,12	34,52
	2	12,36	35,80	53,95	56,96
	3	20,25	28,21	43,53	43,68
8 horas	1	13,25	41,18	40,24	30,95
	2	11,24	29,63	44,74	51,90
	3	13,92	28,21	41,18	32,18

### ANEXO N°3: PRUEBA FINAL (ML VOLUMEN DE INFLAMACIÓN)

Tiempo de medición	N° animales	Extracto	Crema más extracto	Crema base	Crema diclofenaco	Control
Basal	1	0,83	0,85	0,82	0,85	0,84
	2	0,89	0,81	0,87	0,84	0,82
	3	0,81	0,83	0,79	0,79	0,80
	4	0,85	0,81	0,80	0,80	0,80
	5	0,79	0,78	0,85	0,87	0,85
Inflam. Max	1	1,32	1,32	1,30	1,35	1,35
	2	1,30	1,30	1,29	1,28	1,36
	3	1,35	1,33	1,35	1,36	1,34
	4	1,33	1,31	1,35	1,32	1,34
	5	1,27	1,27	1,30	1,33	1,37
30 min	1	1,30	1,29	1,30	1,30	1,36
	2	1,29	1,30	1,31	1,25	1,34
	3	1,28	1,28	1,35	1,24	1,34
	4	1,28	1,26	1,28	1,29	1,36
	5	1,30	1,25	1,33	1,25	1,32
1 hora	1	1,23	1,26	1,28	1,22	1,36
	2	1,25	1,26	1,29	1,23	1,35
	3	1,22	1,23	1,30	1,26	1,33
	4	1,24	1,25	1,31	1,24	1,31
	5	1,23	1,20	1,33	1,20	1,30
2 horas	1	1,22	1,20	1,30	1,15	1,29
	2	1,20	1,15	1,28	1,19	1,33
	3	1,19	1,17	1,27	1,17	1,28
	4	1,18	1,14	1,30	1,16	1,30
	5	1,17	1,14	1,27	1,14	1,29
4 horas	1	1,15	1,14	1,19	1,13	1,25
	2	1,13	1,13	1,23	1,10	1,28
	3	1,12	1,05	1,25	1,05	1,23
	4	1,10	1,10	1,19	1,00	1,24
	5	1,09	1,06	1,22	1,10	1,25
8 horas	1	1,05	1,00	1,20	1,00	1,22
	2	1,10	1,08	1,18	0,95	1,23
	3	1,13	1,04	1,25	0,90	1,20
	4	1,01	1,01	1,18	0,93	1,22
	5	1,00	1,00	1,19	0,90	1,24

## ANEXO N°4: PRUEBA FINAL (PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN)

Tiempo de medición	N° animales	Extracto	Cremas más extracto	Crema base	Crema diclofenaco	Control
Inflam. Max	1	59,04	55,29	58,54	58,82	58,82
	2	56,63	52,94	57,32	50,59	60,00
	3	62,65	56,47	64,63	60,00	57,65
	4	60,24	54,12	64,63	55,29	57,65
	5	53,01	49,41	58,54	56,47	61,18
30 min	1	56,63	51,76	58,54	52,94	60,00
	2	55,42	52,94	59,76	47,06	57,65
	3	54,22	50,59	64,63	45,88	57,65
	4	54,22	48,24	56,10	51,76	60,00
	5	56,63	47,06	62,20	47,06	55,29
1 hora	1	48,19	48,24	56,10	43,53	60,00
	2	50,60	48,24	57,32	44,71	58,82
	3	46,99	44,71	58,54	48,24	56,47
	4	49,40	47,06	59,76	45,88	54,12
	5	48,19	41,18	62,20	41,18	52,94
2 horas	1	46,99	41,18	58,54	35,29	51,76
	2	44,58	35,29	56,10	40,00	56,47
	3	43,37	37,65	54,88	37,65	50,59
	4	42,17	34,12	58,54	36,47	52,94
	5	40,96	34,12	54,88	34,12	51,76
4 horas	1	38,55	34,12	45,12	32,94	47,06
	2	36,14	32,94	50,00	29,41	50,59
	3	34,94	23,53	52,44	23,53	44,71
	4	32,53	29,41	45,12	17,65	45,88
	5	31,33	24,71	48,78	29,41	47,06
8 horas	1	26,51	17,65	46,34	17,65	43,53
	2	32,53	27,06	43,90	11,76	44,71
	3	36,14	22,35	52,44	5,88	41,18
	4	21,69	18,82	43,90	9,41	43,53
	5	20,48	17,65	45,12	5,88	45,88