

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y
BIOTECNOLÓGICAS
PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE UN
GEL TÓPICO A BASE DE GAMOCHAETA AMERICANA (QUETO
QUETO) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN” AREQUIPA -
2013**

PRESENTADO POR LOS BACHILLERES:
**RÍOS OCHOCHOQUE RENZO MARTÍN
RODRIGUEZ AMADO JOSÉ LUIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

ASESOR: FERNANDO TORRES VELA

**AREQUIPA – PERÚ
2013**

AGRADECIMIENTOS

*Dr. Fernando Torres a un gran amigo,
gran persona y gran asesor.*

*Muchas gracias por todo su apoyo en
nuestra formación profesional.*

*Doctores del Programa Profesional de
Farmacia y Bioquímica*

*En especial a la Dr. Angélica Corzo
por sus enseñanzas y consejos que nos
sirvieron en toda nuestra formación
profesional.*

*Dr. Jaime Cárdenas García; Dr. José
Villanueva Salas y Mgter. María Elena
Guillen Núñez.*

*Nuestro especial agradecimiento por sus
consejos que nos sirvieron para culminar
este trabajo.*

José Luis y Renzo Martín

A Dios, al Divino Niño por estar siempre presente en todos los momentos, en mis decisiones y en los retos de mi vida.

A mi mama Luisa que amo tanto gracias a todo su amor, cariño, comprensión, paciencia y sus valiosos consejos que me dio a lo largo de mi vida.

*A Papa (+) Pepe, porque su experiencia y sabiduría han sido siempre una inspiración y por todo el amor y cariño que me brindó
A Mama Lucy por su amor, cariño, comprensión y paciencia.*

A mis Hermanos Karinita y Manuel por su apoyo y paciencia y a mi Sobrinita Anyelita con todo mi cariño.

A mi tío Guillermo por sus grandes consejos y el cariño brindado.

En especial a mi gran amigo Renzo Martín y a mis compañeros de Universidad que hicieron de está, una etapa difícil de olvidar.

Y a toda mi familia que siempre estuvo cuando más los necesite, muchas gracias

José Luis

*A Dios por esta en cada momento de
mi vida, guiar mis pasos por el buen
sendero y jamás desampararme.*

*A Martín y Rosa mis padres que amo y
que hicieron de mí un ser legítimo y
original, llenándome de amor, guiando
mis pasos, por la paciencia y en especial
por su gran esfuerzo y apoyo.*

*A mis hermanas Ivon y Lily por sus
consejos, ejemplos, cariño y
cuidados.*

*A Juan (+) mi abuelo y a Karola mi
sobrina por ser esa fortaleza que
necesité cuando todo lo veía
consumido.*

*A mi amigo y a hora como un
hermano José Luis y a todos mis
amigos por toda la vivencia en esta
etapa tal bonita de mi vida*

Renzo Martín

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS	6
HIPÓTESIS	7
CAPÍTULO I	
MARCO TEÓRICO	
1.1. <i>Gamochaeta americana</i> (Queto Queto)	8
1.1.1. Descripción	8
1.1.2. Ubicación taxonómica	10
1.1.3. Nombre científico	10
1.1.4. Nombre común	10
1.1.5. Composición química	10
1.1.6. Efectos farmacológicos y usos	10
1.2. Inflamación	11
1.2.1. Concepto	11
1.2.2. Causas	12
1.2.3. Características del proceso inflamatorio	12
1.2.3.1. Respuesta vascular	12
1.2.3.2. Respuesta leucocitaria inicial	13
1.2.3.3. Respuesta leucocitaria tardía	15
1.2.4. Mediadores químicos	15
1.2.4.1. Aminas vasoactivas	16
1.2.4.2. Metabolitos del ácido araquidónico	16
1.2.4.3. Moléculas de adherencia	17
1.2.4.4. Inflamación aguda	17
1.2.5. Fármacos antiinflamatorios	18

1.1. Geles	19
1.1.1. Definición	19
1.1.1.1. Geles hidrófobos	19
1.1.1.2. Geles hidrófilos	19
1.2. Extracción de principios vegetales	20
1.2.1. Métodos de extracción	21
1.2.1.1. Extracción mecánica	21
1.2.1.2. Destilación	22
1.2.1.3. Extracción con gases en condiciones supercríticas	23
1.2.1.4. Extracción con disolventes	23
1.2.2. Tipo de extracciones con disolventes	25
1.2.2.1. Extracción discontinua	25
1.2.2.1.1. Maceración	25
1.2.2.1.2. Digestión	26
1.2.2.1.3. Infusión	26
1.2.2.1.4. Decocción o cocimiento	26
1.2.2.2. Extracción continua	27
1.2.2.2.1. Percolación	27
1.2.2.2.2. Soxhlet	28
1.2.3. Soluciones extractivas ventajas y desventajas	29
1.2.3.1. Concentración de líquidos extractivos	30
1.2.4. Tipos de extractos	31
1.2.4.1. Extractos fluidos	31
1.2.4.2. Extractos blandos	31
1.2.4.3. Extractos secos	32
1.2.4.4. Crioextractos	32

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de la investigación	33
---------------------------------------	----

1.1. Diseño experimental	33
1.2. Materiales	34
1.2.1. Material biológico	34
1.2.1.1. Unidad vegetal	34
1.2.1.2. Unidad animal	34
1.2.2. Material de laboratorio	35
1.2.2.1. Material de vidrio	35
1.2.2.2. Equipos y aparatos	35
1.2.2.3. Otros	35
1.2.3. Reactivos	36
1.3. Métodos: diseño experimental	37
1.3.1. Preparación de las planta para su análisis	37
1.3.1.1. Recolección	37
1.3.1.2. Selección	37
1.3.1.3. Estabilización	37
1.3.1.4. Desección	38
1.3.1.5. Pulverización	38
1.3.2. Método para la obtención del extracto	38
1.3.2.1. Método	38
1.3.2.2. Fundamento	38
1.3.2.3. Procedimiento	40
1.3.3. Cromatografía en capa fina (CCF)	42

1.3.3.1.	Método	42
1.3.3.2.	Fundamento	42
1.3.3.3.	Procedimiento	42
1.3.4.	Técnica para la elaboración del gel	46
1.3.4.1.	Objetivo	46
1.3.4.2.	Responsabilidad de aplicación y alcance	46
1.3.4.3.	Definición	46
1.3.4.4.	Descripción	46



1.1.1.1.1.	Compuestos para la formulación del gel	46
1.1.1.1.2.	Fórmula patrón	47
1.1.1.1.3.	Entorno	47
1.1.1.1.4.	Método de preparación	47
1.1.1.1.5.	Acondicionamiento	48
1.1.2.	Técnica para la medición del grado de inflamación en ratas	48
1.1.2.1.	Fundamento	48
1.1.2.2.	Procedimiento	49
1.1.2.2.1.	Preparación de la solución	49
1.1.2.2.2.	Procedimiento de medición	49
1.1.3.	Técnica para la evaluación de la actividad antiinflamatoria	50
1.1.3.1.	Método	50
1.1.3.2.	Fundamento	50
1.1.3.3.	Procedimiento para la preparación de carragenina	51
1.1.4.	Grupos de estudio	52
1.1.4.1.	Procedimiento	52
1.2.	Técnicas para el análisis estadístico de los resultados	53
1.2.1.	Estadística descriptiva	53
1.2.1.1.	Media aritmética	53
1.2.1.2.	Medidas de dispersión	53
1.2.1.3.	La varianza	54
1.2.1.4.	Desviación estándar	54
1.2.2.	Estadística inferencial	55
1.2.2.1.	ANOVA	55
1.2.2.2.	Prueba HSD de Tukey	55

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1	Tratamiento previo y obtención del extracto	57
3.2	Determinación del porcentaje de rendimiento del extracto de la planta	58

3.1	Cromatografía de capa fina	59
3.2	Preparación del gel con extracto de <i>Gamochaeta americana</i> (Queto Queto)	62
3.3	Efecto antiinflamatorio del gel a base de extracto de <i>Gamochaeta americana</i> (Queto Queto) y gel base sin extracto	63
3.4	Análisis estadístico inferencial de ANOVA y Tukey	69
CONCLUSIONES		85
SUGERENCIAS		86
BIBLIOGRAFÍA		87
ANEXOS		



RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María, con el objetivo principal de evaluar el efecto antiinflamatorio de las partes aéreas de la *Gamochaeta americana* (Queto Queto) a través de un gel elaborado a base del extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto), a las concentraciones de 5 %, 10 % y 20 % en animales de experimentación, mediante un modelo experimental de inducción a la inflamación plantar en base al uso de carragenina.

Para iniciar el trabajo de campo, en primer lugar se procedió a la recolección de la droga, que se llevó a cabo por los alrededores de la localidad de Lampa en el departamento de Puno, siguiendo a ser identificado taxonómicamente en la Universidad de San Agustín, Arequipa. Procediendo a la selección del material colectado, posteriormente se estabilizó y desecó la droga mediante calor seco en estufa; el procedimiento siguiente fue la trituración. Con la droga triturada se logró la obtención del extracto fluido mediante el método de percolación, el producto obtenido del método de percolación fue concentrado hasta obtener un extracto fluido.

El extracto etanólico fue sembrado en placas de sílica gel para realizar la cromatografía en capa fina a través de sistemas de disolventes y reactivos reveladores; obteniéndose una huella digital de la planta con sustancias alta polaridad y otras de baja polaridad permitiendo caracterizar nuestra droga; además de encontrar flavonoides y taninos.

El mismo extracto fue empleado para la formulación de un medicamento herbario, en forma de gel conteniendo el extracto a una concentración de 5 %, 10 % y 20 % de buen aspecto y características organolépticas aceptables.

El gel elaborado a base del extracto fluido *Gamochaeta americana* (Queto Queto) a las respectivas concentraciones fue sometido a una evaluación del probable efecto antiinflamatorio de las partes aéreas de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) en animales de experimentación. La inflamación se indujo mediante la administración de carragenina en la zona plantar del animal. El volumen de la inflamación se midió en

mililitros a través del equipo pletismómetro digital. Este valor fue fundamental para hallar el porcentaje de inhibición de la inflamación a distintos tiempos de medición. Luego de aplicar los análisis estadísticos (análisis de varianza y prueba de Tukey), se concluyó que el gel a base de extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) al 20 % obtuvo un porcentaje de inhibición de la inflamación estadísticamente igual al gel a base de extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) al 10 % ,concluyendo que el gel 10 % es más eficiente ya que tiene un efecto igual a una menor concentración, probablemente se deba a que la acción antiinflamatoria de la planta haya llegado al umbral máximo.



ABSTRACT

The present research was conducted in the laboratories of the Catholic University of Santa Maria, with the primary objective to assess the anti-inflammatory effect of the aerial parts of the *Gamochaeta american* (Queto Queto) through a gel made from the fluid extract of *Gamochaeta american* (Queto Queto), at concentrations of 5 %, 10 % and 20% in experimental animals, by an experimental model of inflammation induction plant based on the use of carrageenan.

To start the field work, first proceeded to the drug collection, which took place in the vicinity of the town of Lampa in the department of Puno, following to be identified taxonomically at the University of San Agustín, Arequipa. Proceeding to the selection of the material collected, dried and subsequently the drug stabilized by dry heat oven, the following procedure was grinding. With the drug was achieved crushed obtaining fluid extract by percolation method, the product obtained from the percolation method was concentrated to obtain a fluid extract.

The ethanol extract was spotted on plates of silica gel for chromatography thin layer through solvent systems and revealing reagents; obtaining a fingerprint of the plant with high substances polarity and other low polarity allowing characterize our drug, in addition to find flavonoids and tannins.

The same extract was used for the formulation of a herbal medicine in the form of gel containing the extract at a concentration of 5%, 10 % and 20% of good appearance and acceptable organoleptic properties.

The gel made from *Gamochaeta american* (Queto Queto) fluid extract to the respective concentrations was subjected to an assessment of the likely anti-inflammatory effect of the aerial parts of *Gamochaeta american* (Queto Queto) in experimental animals. Inflammation was induced by administration of carrageenan into the plantar of the animal. Swelling volume was measured in milliliters through digital plethysmometer equipment. This value was crucial for the percent of inhibition of inflammation at various measurement times. After applying statistical analysis (analysis of variance and Tukey's

test) , it was concluded that the gel based extract *Gamochaeta american* (Queto Queto) at 20% was a percentage of inhibition of inflammation equal to extract based gel of *Gamochaeta american* (Queto Queto) 10% , concluding that the gel is 10% more efficient as it has an effect equal to a lower concentration , probably due to the anti-inflammatory action of the plant have reached the maximum threshold.



INTRODUCCIÓN

La inflamación es uno de los trastornos más comunes que se presenta en el hombre por lo cual en la actualidad se presenta una corriente dentro de la comunidad científica que se basa en el uso de plantas con propiedades terapéuticas para aliviar distintas enfermedades. Nuestro país posee una flora impresionante lo que nos convierte en un país potencial para la manufacturación de productos a base de plantas medicinales.

La *Gamochaeta americana* (Queto Queto) es una planta curativa conocida como tal desde hace décadas, los pobladores de la zona de Puno refieren que tiene fama de ser un excelente cicatrizante en las heridas, desinflamante y purificador de la sangre. Actualmente esta planta se expende comercialmente en forma empírica, en establecimientos informales, por lo que consideramos conveniente evaluar experimentalmente sus propiedades y así aportar una nueva alternativa de preparado farmacéutico para la comunidad.

Por esta razón y motivados por el impulso que hoy en día se da al empleo de recursos naturales en la terapia de diversas enfermedades, es que nos propusimos estudiar en forma científica el efecto antiinflamatorio de la *Gamochaeta americana* (Queto Queto).

OBJETIVOS

1. Obtener los extractos de la *Gamochaeta americana* (Queto Queto).
2. Identificación preliminar de metabolitos secundarios mediante cromatografía en capa fina del extracto de la *Gamochaeta americana* (Queto Queto).
3. Preparar un gel tópico a base de *Gamochaeta americana* (Queto Queto).
4. Evaluar el efecto antiinflamatorio del gel a base del extracto *Gamochaeta americana* (Queto Queto) por el método de edema plantar inducido por carragenina y medido con el equipo pletismómetro digital.



HIPÓTESIS

Dado que la medicina tradicional le atribuye al extracto de hojas de la *Gamochaeta americana* (Queto Queto) propiedades curativas en golpes y contusiones, es probable que el gel elaborado a base de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) presente efecto antiinflamatorio en animales de experimentación.



CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO

1.1. Gamochaeta americana (QUETO QUETO)

1.1.1. DESCRIPCIÓN

Planta herbácea anual de hasta 25 cm de alto, tallos simples poco decumbentes o erectos ligeramente piloso con un diámetro de 2 mm aproximadamente. Hojas basales, oblongo espatuladas de 3-8 cm de largo por 0.8-2 cm de ancho marcescentes, sésiles, obtusa o algo redondeada en el ápice, casi glabras en el haz y tomentosa en el envés, enteras de base obtusa. ⁽²⁾

- a. **Flores:** Flores del disco de 1-4, hermafroditas, con corola estrechamente tubular. Aquenios oblongos, 2.5 mm de longitud. Papús blanco ⁽²⁾.
(Figura N°1)

- b. **Hábitat:** Esta planta es originaria de Sudamérica abarca desde el norte de Argentina a Uruguay, Paraguay, Bolivia y Perú es conocida en nuestro medio con el nombre de Queto Queto o Lengua de perro. Se ha reportado que la *Gamochaeta americana* por referencia de pobladores de zona alto-andinas (comunicación personal de yerberos del distrito de Lampa, Puno 2006) se tiene conocimiento que la *Gamochaeta americana* se desarrolla cerca de los cultivos, matorrales, canales de regadio, de preferencia en suelos húmedos. (arenosos húmedos) es una hierba de los andes distribuida altitudinalmente entre los 1000 – 4000 metros sobre el nivel del mar.^(2,3)



Figura N°1.- *Gamochaeta americana*

Fuente: The university of west Alabama & Alabama Herbarium Consortium

1.1.2. UBICACIÓN TAXONÓMICA

Reino	:	Plantae
Clase	:	Equisetopsida
Subclase	:	Magnoliidae
Superorden	:	Asteranae
Orden	:	Asterales
Familia	:	Asteraceae
Género	:	Gamochaeta
Especie	:	<i>Gamochaeta americana</i> (Mill.) Wedd.

1.1.3. NOMBRE CIENTÍFICO

Gamochaeta americana, *Gnaphalium americano*, *Gnaphalim consanguineum*, *Gnaphalium purpureum*, *Gnaphalium spicatum*.^(2,4,5)

1.1.4. NOMBRE COMÚN

“cketo cketo”, “queto queto”, “alckopa.chalúm”, “alqopa-qqualum”, “jeto-jeto”, “lenguay perro”, “llinlli llinlli”, “lengua de perro”.^(2,4,5)

1.1.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Principio activos: flavonoides, taninos.^(3,4)

1.1.6. EFECTOS FARMACOLÓGICOS Y USOS

Farmacológicos:

- Los extractos etanólicos de las hojas poseen actividad antiinflamatoria y hemostática.

Usos:

- Antimicrobianas
- Antiinflamatorio
- Expectorante
- Hepatoprotector
- Anticancerígeno
- Afecciones urinaria
- Úlceras estomacales
- Afecciones respiratorias y neumonía
- Acaricida (sarna)^(3,5)

1.2.INFLAMACIÓN

1.2.1. CONCEPTO

Se llama así a la reacción local del organismo frente a una agresión de etiología variada, producida en un sitio determinado, que tiene por finalidad su eliminación y reparación de los tejidos dañados. Se la debe considerar como un dispositivo de defensa inespecífico, eficaz y beneficioso pese a lo cual en ciertos casos, como en las reacciones inflamatoria de la autoinmunidad o de alergia, puede perjudicar al individuo. En los últimos años se sabe que aunque el campo de batalla de la inflamación se limita generalmente al lugar de la agresión, esta pone en marcha mecanismos nerviosos y hormonales que comprometen al organismo como un todo para eliminar el ataque. Esta intervención del organismo en conjunto ha permitido a Heilmeyer y Kahler hablar del síndrome general de la inflamación. Aunque más restringidos en su uso, hay dos términos que se emplea como sinónimos de la inflamación: uno de

ellos es flogosis que proviene del griego llama o inflamado, asiendo así referencia al enrojecimiento y calor que la caracteriza; el otro es flegmasía también de origen griego que significa inflamación o fiebre. ⁽⁶⁾

1.2.2. CAUSAS

- **Agentes biológicos:** bacterias, virus, parásitos, hongos.
- **Agentes físicos:** radiaciones, frío, calor, ultravioletas.
- **Agentes químicos:** venenos, toxinas.
- **Traumatismos y cuerpos extraños.**
- **Alteraciones inmunitarias:** como por ejemplo las respuestas de hipersensibilidad. ^(6,12)

1.2.3. CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO INFLAMATORIO

La inflamación es una reacción estereotipada desde el punto de vista morfológico. Aunque algunas reacciones inflamatorias crónicas pueden cursar inicialmente con una infiltración por células mononucleares, por lo común la respuesta inflamatoria se desarrolla en tres fases consecutivas. ⁽¹³⁾

1.2.3.1. RESPUESTA VASCULAR

En los momentos inmediatos a la acción de un agente lesionar, e independientemente de su naturaleza, se produce una respuesta vasoconstrictora de breve duración. A continuación sobreviene una dilatación arteriolar, con apertura de los esfínteres precapilares, lo que origina dos fenómenos simultáneos: un incremento de flujo en los capilares previamente funcionales y la apertura de lechos capilares que se encontraban cerrados antes del inicio del proceso inflamatorio.

El efecto común de ambos fenómenos es el desarrollo progresivo de hiperemia, a la que se asocia un aumento de la permeabilidad de los capilares y de las vénulas. Como consecuencia del escape de líquido rico en proteínas aumenta la viscosidad de la sangre, lo que ocasiona un retraso de su flujo.

La suma de los fenómenos mencionados incremento del aporte sanguíneo y disminución de la evacuación produce un aumento de la presión hidrostática, lo que también contribuye a la exudación de líquido al espacio extravascular.

Por lo tanto se desarrollan tres fenómenos:

- Hiperemia.
- Exudación proteica (como consecuencia de la alteración de la permeabilidad y el aumento de la presión hidrostática).
- Alteración de la relación espacial de las células sanguíneas ya que, al enlentecerse el flujo sanguíneo, los eritrocitos adoptan una posición central en el vaso, mientras que los leucocitos se disponen en la periferia. ⁽¹³⁾

1.2.3.2. RESPUESTA LEUCOCITARIA INICIAL

Los leucocitos (principalmente los polimorfonucleares neutrófilos y los monocitos), confinados a la periferia del vaso por los fenómenos vasculares, se adhieren rápidamente a las superficies endoteliales. En una segunda fase (migración), estas células atraviesan las uniones intercelulares endoteliales, sobrepasando la membrana basal por un proceso activo. Una vez en el tejido, los

leucocitos polimorfonucleares y los macrófagos se dirigen hacia el lugar donde se ha producido la lesión, a favor de un gradiente de concentración de sustancias con capacidad para inducir la migración (atractantes). Este proceso se denomina *quimiotaxis* y su base es la interacción de atractantes específicos con receptores celulares.

Una vez en el foco inflamatorio, estas células se adhieren a los agentes patógenos y reconocen tanto a algunos elementos de éstos (ej. monosacáridos de la pared bacteriana) como a determinadas proteínas del individuo lesionado (receptor Fc de las inmunoglobulinas, fracciones del sistema de complemento) que actúan como «detectores» de la inflamación, haciendo más apto al agente causal para ser reconocido. Este último proceso se denomina opsonización y, en general, requiere un contacto previo del agente inflamatorio con el individuo, ya que precisa una reacción inmunológica frente al agente que genere moléculas detectoras. Además de estos mecanismos «específicos» o del receptor, los leucocitos pueden ingerir los agentes causales de forma inespecífica. Esta fase, es decir la ingestión de los agentes causales en el foco inflamatorio, se denomina fagocitosis.

Una vez fagocitado el agente lesivo por los leucocitos, se producen el vertido de enzimas lisosómicas sistema independiente del oxígeno y la activación del complejo enzimático generador de radicales de oxígeno sistema dependiente del oxígeno en el seno de la vacuola de fagocitosis, lo que produce, en la mayoría de los casos, la destrucción del agente causal de la inflamación. ⁽¹²⁾

1.2.3.3. RESPUESTA LEUCOCITARIA TARDÍA

Los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos sucumben en el foco inflamatorio, liberando sus componentes al medio extracelular. Muchos de estos productos poseen capacidad para lesionar el propio organismo, circunstancia que amplifica la respuesta inflamatoria. En términos mercantiles sería el precio que se ha de pagar para destruir al agente causal. Los macrófagos, sin embargo, no son destruidos y amplifican el proceso inflamatorio gracias a su participación en la respuesta inmunológica. Así, tras la fragmentación del agente causal («antígeno»), generan epítopos que, una vez situados fuera de la membrana, se ponen en contacto con los antígenos de histocompatibilidad de clase II. En términos inmunológicos, a estos procesos se los denomina procesamiento y presentación antigénica. El reconocimiento por los receptores para el antígeno de las células T de estos epítopos, unido a la producción de citocinas por los macrófagos, pone en marcha la respuesta inmunológica, una de cuyas finalidades es la producción de inmunoglobulinas específicas y células activadas que, por sí mismas o por favorecer la acción de los macrófagos (opsonización), ocasionan la destrucción total del agente causal. Estos fenómenos producen, en el supuesto más favorable, la eliminación del agente productor de la inflamación ⁽¹²⁾

1.2.4. MEDIADORES QUÍMICOS

Pueden estar presentes en el plasma y deben ser activadas para ejercer su función. También puede estar en las células donde permanecen almacenadas siendo secretadas o sintetizadas de nuevo en respuesta a un estímulo. Estas células son principalmente las plaquetas, los polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y mastocitos. ⁽¹³⁾

Estas sustancias pueden tener efectos autocrinos, paracrinos o endocrinos. Una vez liberados y activados tienen muy poca vida media debido a su efecto tóxico, la mayoría tienen efectos secundarios perjudiciales como son la destrucción de tejidos, convirtiéndose así la inflamación en una autoagresión. ⁽¹²⁾

1.2.4.1. AMINAS VASOACTIVAS

Histamina y serotonina son las dos principales aminas vasoactivas, llamadas así por su importante acción sobre los vasos

Histamina: se encuentra en mastocitos, basófilos y plaquetas. La histamina es el gran mediador de la fase aguda, sus efectos son:

- Vasodilatación de arteriolas y vénulas.
- Alteración de la permeabilidad en las vénulas. ⁽¹³⁾

Serotonina: almacenada en plaquetas y en células neuroendocrinas, Su liberación se produce gracias al factor activador de plaquetas (PAF). Sus acciones son muy semejantes a las de la histamina. ⁽¹³⁾

1.2.4.2. METABOLITOS DEL ÁCIDO ARAQUIDÓNICO

- **Prostaglandinas:** PGE₂, PGI₂, PGD₂ que producen vasodilatación, fiebre y dolor. ⁽¹³⁾
- **Tromboxanos:** A₂ (TXA₂) producen agregación plaquetaria y vasoconstricción. ⁽¹³⁾

- **Leucotrienos:** LTC₄, LTD₂ y LTE₄ producen vasoconstricción, aumento de la permeabilidad y broncoespasmos.⁽¹³⁾
- **Leucotrieno:** B₄ que promueve adherencia leucocitaria y quimiotaxis.⁽¹³⁾

1.2.4.3.MOLÉCULAS DE ADHERENCIA

- Selectinas.
- Inmunoglobulinas.
- Integrinas.

Los mediadores inflamatorios activan a las selectinas, que se encuentran almacenados en gránulos de Weibel-Palade de las células endoteliales y se redistribuye rápidamente hacia la superficie celular. La adhesión firme de los leucocitos al endotelio se produce gracias al cambio conformacional de las integrinas⁽¹³⁾

1.2.4.4.INFLAMACIÓN AGUDA

Esta inflamación es de duración relativamente corta (minutos, horas o unos pocos días), se inicia muy rápidamente y se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de leucocitos predominantemente neutrófilos. Es la respuesta inmediata que se produce frente al agente lesivo, tiene una evolución relativamente breve.

En la inflamación aguda distinguimos tres puntos clave: cambios hemodinámicos, alteración de la permeabilidad vascular y modificaciones leucocitarias.⁽¹⁴⁾

Los cambios que se producen tras la lesión tisular se deben a tres procesos:

- Cambios en el flujo y calibre vascular, que hacen que aumente el flujo sanguíneo.
- Cambios estructurales en los vasos sanguíneos que aumentan la permeabilidad vascular e inducen la formación de exudado inflamatorio.
- Paso de los leucocitos del espacio vascular al extravascular alcanzando así el foco de las lesiones.

El resultado de todo ello es la acumulación de un fluido rico en proteínas, fibrina y leucocitos.

En los primeros 10-15 minutos se produce una hiperemia por dilatación de arteriolas y vénulas y apertura de los vasos de pequeño calibre. Tras esta fase aumenta la viscosidad de la sangre, lo que reduce la velocidad del flujo sanguíneo. Al disminuir la presión hidrostática en los capilares, la presión osmótica del plasma aumenta, y en consecuencia un líquido rico en proteínas sale de los vasos sanguíneos originando el exudado inflamatorio.^(12,14)

1.2.5. FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS

Los fármacos con actividad antiinflamatoria están constituidos por dos grandes grupos:

- Antiinflamatorios no esteroideos (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 ciclooxigenasa.⁽⁷⁾

- Antiinflamatorios esteroides (AIES): el efecto antiinflamatorio de estos fármacos más bien está íntimamente vinculado a la acción inmunosupresora. ⁽⁷⁾

1.3.GELES

1.3.1. DEFINICIÓN

La Farmacopea Británica define que los geles consiste en líquidos gelificados mediante agentes gelificantes adecuados, e indican que existen dos clases, a saber: ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾

1.3.1.1. Geles Hidrófobos:

La base de los geles hidrófobos (oleogeles) por lo general consisten en parafina líquida con polietileno o aceites grasos gelificados con silica coloidal o jabones de aluminio o zinc. ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾

1.3.1.2. Geles Hidrófilos:

Las bases de los geles hidrófilos (hidrogeles) por lo general consisten en agua, glicerol o propilenglicol gelificado con agentes gelificantes como tragacanto, almidón, carbómero, derivados de la celulosa, polímero de carboxivinilo y silicatos de magnesio y aluminio. ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾

En un gel hidroalcohólico interviene el alcohol y agua, el agente gelificante seleccionado, a la concentración conveniente para tener la consistencia adecuada; además, se requiere la adición de una sustancia higroscópica como la glicerina, el propilenglicol o el sorbitol, que impida la desecación rápida una vez que la preparación se aplica sobre la piel. Estas sustancias actúan, así mismo,

mejorando la elasticidad y hace más fácil la extensión del preparado sobre la superficie cutánea.⁽¹¹⁾

Los geles pueden prepararse con una cantidad de agentes farmacéuticos, como tragacanto al 2 – 5 %, alginato de sodio al 2 – 10 %, gelatina 2 – 15 %, metilcelulosa 450 3 – 5 %, carboximetilcelulosa sódica 2 – 5 %, carbomero 0.3 – 5 %, o alcoholes polivinílicos al 10 – 20 %.⁽¹⁰⁾

Otros agentes gelificantes son la metilhidroxietilcelulosa, el polioxietileno-polioxipropileno, la hidroximetilcelulosa y la gelatina.⁽¹⁰⁾

Deben incorporarse conservadores a los geles, en especial los preparados a partir de fuentes naturales. Los conservadores apropiados, según el uso y el agente gelificante, incluye los parabenos en un 0.2%, el ácido benzoico 0.2 % (si el producto es ácido) y el clorocresol al 0.1 %.⁽¹⁰⁾

1.4. EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS VEGETALES

Se parte de la planta y se realiza un proceso extractivo para aislar los distintos principios activos que tenga dicha planta. Hay varios métodos extractivos, como podemos observar en el (**Cuadro N°1**).⁽¹⁵⁾

1.4.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

1.4.1.1. EXTRACCIÓN MECÁNICA

Es una técnica que permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. La extracción mecánica se puede realizar:

- A. Por Expresión: Consiste en ejercer una presión sobre la droga.
- B. Por Calor.
- C. Por Incisiones: Mediante la cual fluyen los fluidos de la planta.⁽¹⁵⁾

Cuadro N°1

Métodos extractivos



Fuente: Claudia Kuklinski "1ª Edición, 2000"

1.4.1.2.DESTILACIÓN

Es una técnica que se basa en la diferente volatilidad de los componentes de la droga, lo cual permite la separación de componentes volátiles de otros que son menos o nada volátiles. Se suelen hacer destilaciones por arrastre de vapor (**Figura N°2**) o

hidrodestilaciones que facilitan la extracción de principios activos volátiles. La destilación permite obtener, por ejemplo, la esencias de las drogas. Es un método en el que se utiliza una fuente de calor por lo que solo es aplicable a principios activos termoestables, a continuación se observa un equipo de destilación.⁽¹⁵⁾

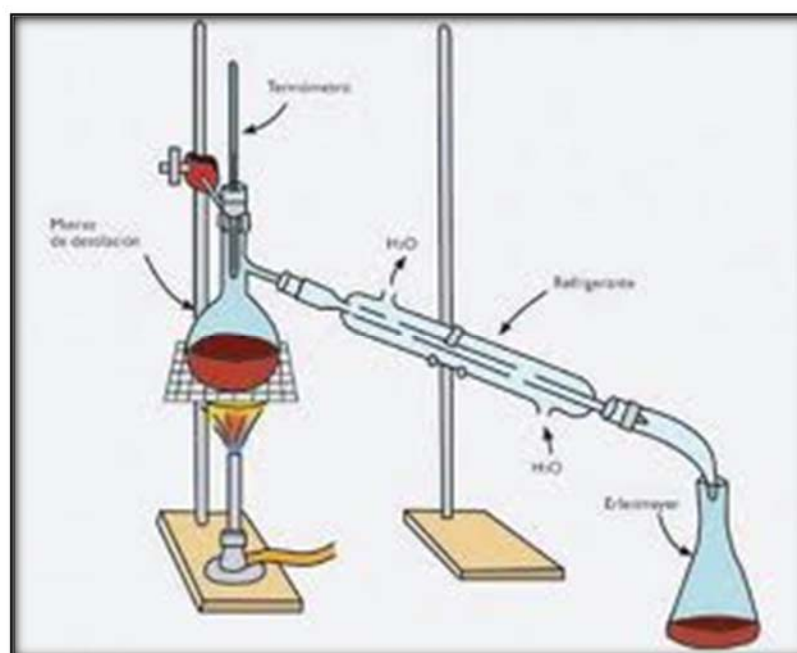


Figura N° 2.- Equipo destilador

Fuente: www.panreac.es

1.4.1.3. EXTRACCIÓN CON GASES EN CONDICIONES SUPERCRÍTICAS

Se trabaja con dispositivos especiales donde es posible controlar la presión y la temperatura y se trabaja a presión y temperaturas superiores a la presión y temperaturas críticas. Los gases más usados son el dióxido de carbono y el butano, si bien la extracción

con butano es bastante peligrosa ya que es un gas muy inflamable. La extracción con gases suele ser muy selectiva y posteriormente es relativamente sencillo eliminar el gas extractor, pero resulta muy cara y es difícil encontrar las condiciones óptimas de presión y temperatura. ⁽¹⁵⁾

1.4.1.4. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES

Consiste en poner en contacto la droga con un disolvente capaz de solubilizar los principios activos. Los principios activos deben pasar de la droga al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido. Posteriormente dicho extracto se puede concentrar eliminando mayor o menos cantidad de disolvente. La extracción con disolventes es uno de los métodos que se emplea con frecuencia para la obtención de principios activos.

Para que la extracción con disolventes se lleve a cabo correctamente hay que tener en cuenta diversos factores:

- **Características de la droga:** Se puede trabajar con drogas desecadas y con un grado de división adecuado (mayor en drogas duras como las cortezas y menor en drogas más blandas como flores y hojas), para facilitar el máximo contacto entre los principios activos y el disolvente. ⁽¹⁵⁾
- **Naturaleza del disolvente:** Principalmente se utilizan el agua y las mezclas hidroalcohólicas (agua y alcohol etílico) en proporción variable. También es posible utilizar otros disolventes orgánicos como acetona, éter etílico (poco usado actualmente), hexano, propilenglicol. El agua es un buen disolvente de muchos principios activos de las drogas pero por

esta misma razón resulta generalmente poco selectivo. Además muchos principios activos se hidrolizan en agua.⁽¹⁵⁾

Por otra parte los extractos acuosos tienen una estabilidad poco duradera una vez preparados y deben ser obtenidos para su utilización en un periodo de tiempo relativamente corto. Utilizar mezclas variables de agua y alcohol permite seleccionar las sustancias que se desea extraer. Se pueden hacer extracciones sucesivas variando los disolventes y con ellos se consigue separar los principios activos de las sustancias sin interés farmacológico, así como separar los principios activos entre sí.⁽¹⁵⁾

- **Temperatura:** El aumento de la temperatura favorece la extracción de principios activos de las drogas porque aumenta su solubilidad en los disolventes utilizados, pero a su vez puede favorecer la degradación de dichos principios activos, por lo que es necesario controlarla para conseguir una máxima extracción sin consecuencias indeseables para los principios activos. En ningún caso se puede utilizar temperaturas elevadas para extraer principios activos termolábiles.⁽¹⁵⁾
- **Tiempo de contacto entre la droga y el disolvente:** Depende de las características de la droga (dureza, grado de división, etc.), y de la naturaleza de los principios activos (volátiles, hidrolizables, oxidables).⁽¹⁵⁾

1.4.2. TIPO DE EXTRACCIONES CON DISOLVENTES

1.4.2.1. EXTRACCIÓN DISCONTINUA

También llamados simultánea, se sumerge la droga en el disolvente, por lo que la totalidad de la droga contacta con el disolvente utilizado para extracción y la difusión de los principios activos se producirá en todas las direcciones hasta alcanzar el equilibrio.^(15,16) La extracción discontinua incluye varios procedimientos de extracción:

1.4.2.1.1. MACERACIÓN

Consiste en poner en contacto la droga seca triturada con el disolvente utilizado para la extracción a temperatura ambiente, manteniéndolo todo en agitación durante un tiempo determinado que depende de las características de la droga y de la naturaleza de los principios activos.⁽¹⁵⁾

Se utiliza generalmente agua glicerina o mezclas hidroalcohólicas. A continuación se decanta el conjunto obteniéndose por una parte el extracto líquido con los principios activos y por otra un residuo de la droga denominado marco. Para mejorar el rendimiento de la extracción es habitual volver a realizar otra maceración con el marco.

La maceración se utiliza cuando los principios activos son muy solubles y la estructura de la droga es muy permeable al disolvente (hojas, flores poco compactas).^(15,16)

1.4.2.1.2. DIGESTIÓN

Es un método extractivo similar a la maceración, pero en el que se trabaja a temperaturas más elevadas.^(15,16)

1.4.2.1.3. INFUSIÓN

Se trabaja con un disolvente (agua) a temperatura próxima a la ebullición, en el que se introduce la droga que se quiere extraer y a continuación se deja enfriar el conjunto hasta temperatura ambiente.^(15,16)

1.4.2.1.4. DECOCCIÓN O COCIMIENTO

Se pone en contacto la droga con el disolvente (agua) y el conjunto se lleva hasta la temperatura de ebullición, manteniendo dicha ebullición durante 15 a 30 min. Una vez enfriado se filtra y se exprime el residuo, el tiempo de decocción depende de las características de la droga, es menor para drogas vegetales blandas (hojas y flores) y mayor para drogas vegetales duras (corteza y semillas).

Tanto en las infusiones como decocciones se utiliza como disolvente siempre el agua, por lo que no resultan ser métodos adecuados para extraer principios activos hidrolizables.^(15,16)

1.4.2.2. EXTRACCIÓN CONTINUA

También llamado progresiva, el disolvente utilizado para la extracción se va renovando y actúa en una sola dirección. Son métodos que consisten en poner en contacto la droga con el disolvente adecuado y mantener en todo momento el desequilibrio entre la concentración de principio activo en la droga y en el disolvente para que se produzca la difusión celular. Mediante estos

procedimientos se puede llegar a la extracción prácticamente completa de los principios activos de la droga.⁽¹⁵⁾

Podemos observar un resumen de las condiciones de los distintos tipos de extracciones (**Cuadro N°2**)

1.4.2.2.1. PERCOLACIÓN

Es un procedimiento que se realiza a temperatura ambiente. La droga se coloca en una columna y está en contacto permanente con el disolvente que gotea por la parte superior de la columna, atraviesa toda la zona donde se encuentra la droga con los principios activos, los va extrayendo y, por la parte inferior, se recogen los líquidos extractivos que contienen los principios activos, la percolación puede llegar a conseguir extracción prácticamente completa de la droga, pero con un elevado consumo de disolvente.^(15,16)

1.4.2.2.2. SOXHLET

Es un sistema de extracción sólido-líquido en el que la extracción se realiza en un aparato que consta de un matraz (A), un cuerpo extractor (B) y un refrigerante (C). En el cuerpo extractor se coloca la droga, generalmente envuelta en un material poroso que permita el contacto con el disolvente. En el matraz se coloca el disolvente orgánico, se lleva a ebullición y los vapores del disolvente ascienden por el tubo lateral (D) y llegan al refrigerante donde condensan y caen sobre la droga situada en el cuerpo extractor cuando el cuerpo extractor se llena de líquido extractivo, este se

vacía por el sifón lateral interno (E) y desemboca en el matraz inferior (A) como se observa a continuación. (Figura N°3).

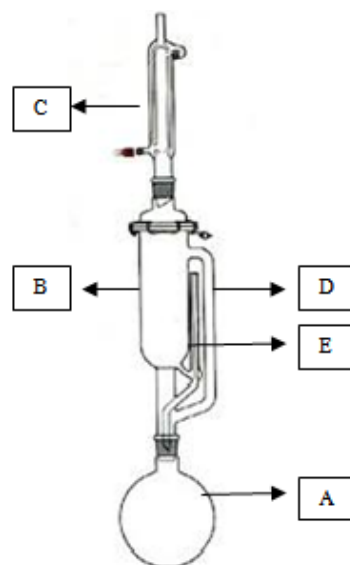


Figura N°3.- Equipo Soxhlet

El disolvente orgánico se va reciclando durante el proceso mientras que los principios activos se van concentrando en el matraz inferior. ^(15,16)

1.4.3. SOLUCIONES EXTRACTIVAS VENTAJAS Y DESVENTAJAS

Ventajas:

- Buena conservación sobre todo aquellas soluciones extractivas en las que el disolvente es antiséptico (alcohol, glicerina, propilenglicol)
- Fácil utilización y prescripción
- Posibilidad de estandarizar los productos obtenidos, es decir posibilidad de ajustar el contenido de principio activo.
- Posibilidad de eliminar los componentes indeseables de las drogas

- Aumento de la biodisponibilidad de sustancias activas, ya que se hayan disueltas.
- Posibilidad de concentrar el contenido por eliminación de los disolventes.

Desventajas:

- Baja estabilidad de las soluciones extractivas acuosas.
- Dilución de los principios activos que en ocasiones pueden disminuir su eficacia.
- Variación del "contexto natural": en la droga natural hay asociaciones de componentes que pueden alterarse al hacer una extracción, (lo cual puede ser un inconveniente o una ventaja).
- Presencia de disolventes indeseables: ej. El alcohol u otros tipos de disolventes orgánicos.

Cuadro N °2

Extracciones discontinuas y continuas

Extracción Discontinua	Temperatura	Tiempo	Disolventes
Maceración	T. Ambiente	Horas- días	Agua, mezclas hidroalcohólicas, glicerina
Digestión	T. > ambiente	Horas- días	Agua, mezclas hidroalcohólicas, glicerina
Infusión	T. Próxima a ebullición T. Menor	1 -2 min. Hasta 30 min.	Agua
Decocción	T. De ebullición	15- 30 min.	Agua
Extracción Continuas	Temperatura	Tiempo	Disolventes
Percolación	T. Ambiente	Variable	Varios

Soxhlet	T. de ebullición	Variable	Disolventes orgánicos
---------	------------------	----------	-----------------------

Fuente: Claudia Kuklinski "1ª Edición, 2000"

1.4.3.1. CONCENTRACIÓN DE LÍQUIDOS EXTRACTIVOS.

Los líquidos extractivos que se obtiene en la mayoría de los casos se concentran eliminando parcial o totalmente los disolventes mediante los dos métodos siguientes:

- A. **Al vacío:** utilizando un rotavapor. Se trabaja a temperaturas inferiores de 40 °C y en ausencia de oxígeno ya que se practica al vacío. Se aplica para concentrar líquidos extractivos obtenidos con disolventes orgánicos y mezclas hidroalcohólicas.⁽¹⁵⁾
- B. **Liofilización:** consiste en eliminar el disolvente mediante una congelación muy baja, seguido de una sublimación del disolvente que pasa directamente del estado sólido a vapor. Este método se aplica principalmente en el caso de líquidos extractivos acuosos.⁽¹⁵⁾

1.4.4. TIPOS DE EXTRACTOS

Según la concentración de principio activo respecto a la droga original y según su consistencia:

1.4.4.1. EXTRACTOS FLUIDOS

El disolvente se ha evaporado en el rotavapor hasta conseguir una concentración de principio activo similar a la concentración del principio activo en la droga original. Tienen consistencia líquida y

se obtienen generalmente por maceración o percolación. El disolvente suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas. También pueden obtenerse por disolución de extractos secos. Los extractos fluidos se alteran fácilmente en contacto con la luz y el aire. Son muy usados para obtener formas líquidas ya que se manipulan y dosifican con facilidad.⁽¹⁵⁾

1.4.4.2. EXTRACTOS BLANDOS

Poseen una concentración de principio activo superior a la de la droga original y tienen consistencia semisólida. El disolvente suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas. Los extractos blandos son poco estables y resultan difíciles de manipular, por lo que prácticamente no se utilizan.⁽¹⁵⁾

1.4.4.3. EXTRACTOS SECOS

Se obtienen por evaporación total del disolvente y tienen una consistencia de polvo. Presenta una concentración muy superior de principio activo que la droga original. Son preparados bastante estables (aunque en muchas ocasiones resultan higroscópicos) y de fácil manipulación que se pueden utilizar para preparar tinturas, extractos fluidos, etc.⁽¹⁵⁾

1.4.4.4. CRIOEXTRACTOS

Se obtienen de la droga fresca congelada de los que se extraen los principios activos mediante nitrógeno líquido, luego se añade alcohol etílico. Los crioextractos resultan muy caros, pero son muy útiles para la obtención de enzimas y proteínas de ciertas especies.⁽¹⁵⁾

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La elaboración de extractos, formulación del gel, la investigación cromatográfica y el estudio en animales de experimentación fueron realizados en el laboratorio de farmacognosia (H-206) ubicados en la Universidad Católica de Santa María.

2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente trabajo se realizó con animales de experimentación, con 3 grupos de tratamiento y su respectivo control. El diseño experimental fue distribuido de la siguiente manera (**Cuadro N°3**).

Cuadro N°3
DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS

Grupo	Nominación	N° Animales	Tratamiento
GE ₁	Grupo experimental 1	8	Aplicación tópica del gel con extracto de <i>Gamochaeta americana</i> (Queto Queto) al 5 %.
GE ₂	Grupo experimental 2	8	Aplicación tópica del gel con extracto de <i>Gamochaeta americana</i> (Queto Queto) al 10 %.
GE ₃	Grupo experimental 3	8	Aplicación tópica del gel con extracto de <i>Gamochaeta americana</i> (Queto Queto) al 20 %.
GC	Grupo control	8	Aplicación tópica del gel base.

Fuente: elaboración propia

2.3. MATERIALES

2.3.1. MATERIAL BIOLÓGICO

2.3.1.1. UNIDAD VEGETAL

Las muestras fueron obtenidas en el departamento de Puno, en la localidad de Lampa. Refiriendo así el consumo de esta hierba para el uso en contusiones y golpes.

2.3.1.2. UNIDAD ANIMAL

Se utilizó 32 ratas como animales de experimentación; entre 250-300 g de raza "Holtzman", especie *rattus rattus*, variedad albina, (machos). Todas ellas con alimentación estándar.

2.3.2. MATERIAL DE LABORATORIO

2.3.2.1. MATERIAL DE VIDRIO

- ❖ Bagueta.
- ❖ Capilares sin heparina.
- ❖ Cubas de desarrollo para cromatografía en capa fina.
- ❖ Embudo de vidrio.
- ❖ Fiolas.
- ❖ Pipetas volumétricas y graduadas.
- ❖ Probetas graduadas.
- ❖ Termómetros.
- ❖ Vasos de precipitado: 50, 100, 250 mL.

2.3.2.2. EQUIPOS Y APARATOS

- ❖ Balanza analítica Ohaus Pioneer.
- ❖ Baño termostático Memmert.
- ❖ Equipo percolador (elaboración propia).
- ❖ Estufa Memmert 854 Shwabach-Germany.
- ❖ Lámpara de luz UV CAMAG.
- ❖ Pletismómetro digital LE7500.
- ❖ Rotavapor BUCHZ Switzerland R-114.

2.3.2.3. OTROS

- ❖ Algodón estéril.
- ❖ Corchos.
- ❖ Equipo venoclisis.
- ❖ Espátulas.

- ❖ Guantes quirúrgicos.
- ❖ Hilo.
- ❖ Jaulas metálicas.
- ❖ Jeringas hipodérmicas de 1 mL.
- ❖ Láminas de silica gel.
- ❖ Mortero.
- ❖ Papel filtro.
- ❖ Pissetas.
- ❖ Potes.

2.3.3. REACTIVOS

- ❖ Acetato de etilo J.T. BAKER (Q.P.)
- ❖ Acetato de plomo RIEDEL-DE HAEN (Q.P.)
- ❖ Ácido acético J.T. BAKER (Q.P.)
- ❖ Acido fórmico MERCK (Q.P.)
- ❖ Ácido sulfúrico MERCK (Q.P.)
- ❖ Agua destilada.
- ❖ Alcohol etílico comercial.
- ❖ Amoníaco MERCK (Q.P.)
- ❖ Butanol RIEDEL-DE HAEN (Q.P.)
- ❖ Carboximetilcelulosa LABOCHINI.
- ❖ Hexano J.T. BAKER (Q.P.)
- ❖ Formol PIREX (Q.P.)
- ❖ Metanol MERCK.
- ❖ Metilparabeno NEQUINSA.
- ❖ Propilenglicol MERCK.
- ❖ Propilparabeno NEQUINSA.
- ❖ Tolueno J.T. Baker (Q.P.)
- ❖ Tricloruro de aluminio 5 % RIEDEL-DE HAEN (Q.P.)

- ❖ Trietanolamina MERCK.
- ❖ Vainillina NEQUINSA.

2.4. MÉTODOS: DISEÑO EXPERIMENTAL

2.4.1. PREPARACIÓN DE LA PLANTA PARA SU ANÁLISIS

2.4.1.1. RECOLECCIÓN

La planta de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) fue recolectada en la ciudad antes mencionada (véase 2.3.1.1) y trasladada a la ciudad de Arequipa, para su identificación taxonomía en la facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín.

2.4.1.2. SELECCIÓN

Una vez recolectada e identificada taxonómicamente la planta como *Gamochaeta americana* (Queto Queto), se escogió las hojas verdes y en buen estado, dejando de lado aquellas que presentaban insectos, rupturas, manchas y material vegetal extraño.

2.4.1.3. ESTABILIZACIÓN

Mediante el método de calor seco, se atemperó la estufa a 80 °C, para lograr la inhibición de la actividad enzimática de forma irreversible, una vez obtenida esta temperatura se colocó las hojas de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) durante 5 minutos.^(15,16,25)

2.4.1.4. DESECACIÓN

Se retira el agua por el método de calor artificial mediante estufa. Las hojas de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) fueron sometidas a 50 °C durante 48 hrs.^(15,16)

2.4.1.5. PULVERIZACIÓN

Se realiza en el mortero hasta lograr un grado de trituración moderado y homogéneo.

2.4.2. MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

2.4.2.1. MÉTODO

Extracción por equipo percolador.

2.4.2.2. FUNDAMENTO

La percolación consiste en hacer pasar el solvente a través de la planta, hasta su extracción completa, esta se realiza en aparatos, denominados percoladores, de cuerpo cilíndrico o cónico, provistos de un grifo en la parte inferior, para regular el flujo del solvente.

La percolación comprende una etapa preliminar de humedecimiento de la planta, fuera del cuerpo del percolador. Este procedimiento tiene como objetivo aumentar el contacto, facilitando el paso del solvente y no permitiendo la formación de falsas vías, que perjudican la eficiencia del proceso. El humedecimiento de la planta aumenta la porosidad de la pared celular y facilita la difusión de las sustancias extraíbles hacia el exterior de las células, el humedecimiento debe ser realizado fuera del percolador, ya que la droga puede hincharse excesivamente,

principalmente cuando el solvente es acuoso, y comprimirse contra las paredes del percolador, no permitiendo el paso del solvente. La percolación simple presenta, como desventaja, el alto consumo de solvente.⁽¹⁴⁾

En la percolación ocurren procesos de lavado celular y de difusión celular, además intervienen otros factores como son la relación de células machacadas y células enteras (dependiendo del grado de finura de la planta); la velocidad de difusión de las sustancias activas de la droga al disolvente y la velocidad de acción del disolvente. Renovando constantemente el líquido, se consigue una extracción progresiva, pudiendo teóricamente lograr la extracción total (se obtiene hasta el 95 % de sustancias extraíbles) gracias al aporte constante del solvente nuevo y al continuo descenso de concentración que ello implica.

Es decisivo el periodo de tiempo en el que la droga permanece en contacto con el líquido extractivo y la relación existente entre la droga y el líquido extractivo (cantidad de disolvente). Regulando la velocidad de goteo se compensan las diferencias debidas a las formas de los percoladores.⁽¹⁴⁾

Luego de llenar el percolador con la planta humedecida se abre la llave del recipiente que contiene el líquido extractivo, procediendo a cerrar la llave de salida del percolador, hasta que el líquido extractivo alcance un centímetro por encima del borde superior de la droga. A partir de este momento se inicia la percolación, cuya velocidad de goteo se regula en dependencia con la cantidad de droga, de forma que en la unidad de tiempo se igualen los goteos de entrada y salida (**Figura N°4**).

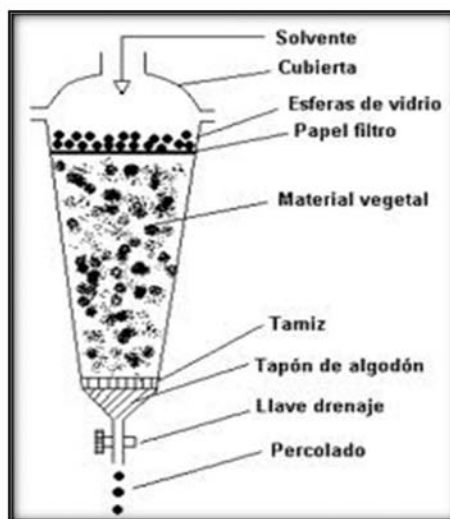


Figura N°4.-Equipo percolador

Fuente: www.gestionforestal.cl

2.4.2.3. PROCEDIMIENTO

- Verificar la limpieza de los enseres y materiales necesarios para la fabricación del percolador casero.
- Se cortó la base de una botella de vidrio.
- Sellamos la boca de la botella con corcho previamente perforado y atravesado por un venoclisis.
- Colocamos una torunda de algodón en el pico.
- Procedemos a colocar papel filtro por encima del algodón.
- Humedecer la planta con el solvente en un recipiente aparte, se colocó 20 g de la planta previamente tratada y pulverizada con ligera presión en el equipo.
- Colocamos el segundo papel filtro por encima de la droga con canicas de vidrio, que ejercían un ligero peso.
- Luego se sella con un guante de látex el cual impide la rápida evaporación del solvente.

- En el recipiente superior se colocó una cantidad de 1000 mL del solvente.
- Se abrió la llave superior y se soltó la cantidad suficiente de solvente hasta un centímetro por encima de la planta (aprox. 100 mL).
- Se dejó macerar durante 24 hrs.
- Se abre la llave inferior y superior, se continuó con el goteo a una velocidad de 60 gotas por minuto, renovando constantemente el disolvente hasta el cambio de coloración.
- Se consiguió 920 mL. del percolado de color verde intenso, el cual se envaso en una botella de color caramelo, conservándose en un lugar fresco y seco, hasta su respectivo análisis, elaboración de gel y su evaluación pre clínica en animales de experimentación (**Figura N° 5**).



Figura N° 5.- Equipo percolador casero

2.4.3. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (CCF)

2.4.3.1. MÉTODO

Cromatografía en capa fina, o también llamada “Thin Layer Chromathography (TLC)”, es una de las técnicas más utilizadas para la separación y purificación de sustancias químicas.

2.4.3.2. FUNDAMENTO

En la cromatografía de capa fina, la muestra se desplaza con una fase móvil que es un líquido. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria de gel de sílice o albumina con la que es inmisible, y que se fija a una superficie sólida como una lámina de vidrio, plástico o aluminio. Las dos fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto. Entre la fase móvil y la fase estacionario se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil, la cual sube a lo largo de la fase solida por capilaridad, por el contrario los componentes que se unen débilmente a la fase estacionario, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativamente. ^(18,25)

2.4.3.3. PROCEDIMIENTO

- Se utilizó como fase estacionaria placas de silica gel con soporte de aluminio, en tamaños iguales 10 x 3 cm, trazando una línea horizontal en ambos extremos a 1 cm. del borde superior e inferior.

- La fase móvil a utilizar fue de acuerdo al metabolito a estudiar, la cual fue depositada en cantidad adecuada en la cámara cromatografía pero sin que esta llegue a la línea de sembrado en la fase estacionaria.
- Posteriormente fue tapada y se dejó en reposo por unos 15 min, con el fin de saturar el interior de la cuba con los vapores de la solución.
- Se procedió al sembrado de la placa cromatográfica o fase estacionaria con la muestra concentrada del extracto obtenido de la planta, en la línea horizontal inferior trazada anteriormente, se utilizó tubos capilares para el sembrado (**Figura N°6**).
- Luego se introdujo la placa cromatográfica de forma vertical con una ligera inclinación dentro de la cuba cromatográfica.
- Se desarrolló el cromatograma poniendo en contacto la fase móvil con la fase estacionaria hasta la línea trazada en el borde superior de la placa (**Figura N°7**).
- Se retiró la placa para dejarla secar en medio ambiente entre 15 a 20 min, para posteriormente realizar los procedimientos de revelado para cada metabolito a estudiar.



Figura N°6.- Sembrado en placa cromatográfica



Figura N°7.- Cuba cromatográfica (fase móvil-fase estacionaria)

LOCALIZACIÓN DE LOS ANALITOS EN LA PLACA

Los métodos para localizar los analitos, consisten en nebulizar sobre la placa una disolución de reactivos reveladores (véase cuadro N°4), que reaccionan con los compuestos orgánicos para dar puntos oscuros. Otro método de detección se basa en el examen de la placa bajo la luz UV, ya que al contener la placa material fluorescente, esta fluorescencia es eliminada por los componentes de la muestra de forma tal que, toda la placa exhibe fluorescencia excepto los lugares donde se encuentran los componentes de la muestra no fluorescentes. ^(19,20)

FACTOR DE RETRASO

El parámetro característico para cada soluto está dado por el R_f :

$$R_f = \frac{\text{Distancia desde el origen al centro de la mancha (a)}}{\text{Distancia desde el origen al frente del eluyente (b)}}$$

La distancia recorrida por el compuesto se mide generalmente desde el centro de la mancha, los cálculos se simplifican si el denominador es 10. Para que los R_f sean reproducibles deben ser fijadas una serie de condiciones (Espesor de la placa, fase móvil, fase estacionaria, cantidad de muestra). El máximo valor de R_f que se puede alcanzar es de 1, lo ideal es un R_f entre 0.55 y 0.7. Téngase en cuenta que si las manchas no son simétricas, la medición se basa en la posición de intensidad máxima. ^(19,20)

En el siguiente cuadro se observa un resumen de las fases móviles y reveladores utilizados para el análisis cromatográfico en capa fina (**Cuadro N°4**).

Cuadro N° 4
Fases móviles y reveladores

Metabolito secundario	Fase móvil	Revelador	Colores característicos
Flavonoides	Acetato de etilo, metanol, ácido acético. (70,30,1)	Tricloruro de aluminio en etanol 3%. <i>UV 366 nm</i>	Flavonoides: fluorescencia amarilla
Taninos	Metanol, agua, ácido acético. (90,10,10)	Reactivo de cloruro férrico (cloruro férrico en etanol al 10%) <i>Visible</i>	Taninos: manchas verde oscuro
Varios	Tolueno, acetato de etilo. (50,50)	Reactivo de vainillina sulfúrica A T° 100°C <i>Visible</i>	Violetas, verdes, azules.

Fuente: Elaboración Propia (Olga Lock, Kulinski, Villar del Fresno)

2.4.4. TÉCNICA PARA LA ELABORACIÓN DEL GEL

2.4.4.1. OBJETIVO

Definir el procedimiento para la elaboración de geles.

2.4.4.2. RESPONSABILIDAD DE APLICACIÓN Y ALCANCE

La responsabilidad de aplicación y alcance de este procedimiento recae sobre todo el personal (tesistas y/o auxiliar) que proceda a la elaboración de geles.

2.4.4.3. DEFINICIÓN

Los geles son utilizados con más frecuencia en farmacia y en cosméticos por varias propiedades importantes, como su estado semisólido su alto grado de claridad, facilidad de aplicación, remoción y uso. Los geles a menudo proveen una liberación más rápida de la droga, independientemente de la hidrosolubilidad de la droga en comparación con las cremas y pomadas.

2.4.4.4. DESCRIPCIÓN

2.4.4.4.1. COMPUESTOS PARA LA FORMULACIÓN DEL GEL

- Agua destilada.
- Alcohol Comercial de 70°.
- Carbopol 940.
- Extracto fluido de Queto Queto.
- Metilparabeno.

- Propilparabeno.
- Propilenglicol.
- Trietanolamina.

2.4.4.4.2. FÓRMULA PATRÓN

Extracto fluido de Queto Queto	20 mL
Base de gel o excipiente	c.s. 100 mL

2.4.4.4.3. ENTORNO

Recomendado por la USP

- Humedad relativa: $\leq 60\%$
- Temperatura: $25 \pm 5^\circ\text{C}$
- Excepto los casos en que las especificaciones de la formulación requieran otras condiciones. ⁽²¹⁾

2.4.4.4.4. MÉTODO DE PREPARACIÓN

- Verificar la limpieza de los enseres y materiales necesarios para la fabricación.
- Identificar los componentes a usar.
- Pesar los componentes y rotularlos.
- Disolver el carbopol 940 en alcohol comercial de 70° 40 mL, agitando constantemente. (Solución A)
- Disolver los parabenos en 10 mL de agua junto con el propilenglicol y el extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto). (Solución B)
- Mezclar las dos soluciones A y B en un vaso de precipitado en agitación constante.

- Adicionar el alcohol comercial de 70° hasta completar un volumen de 100 mL y lograr la uniformidad del gel.
- Adicionar al gel la trietanolamina hasta que el pH sea de 6.5.

2.4.4.4.5. ACONDICIONAMIENTO

Se procedió al acondicionamiento del gel, según las especificaciones particulares de cada formulación. El tipo de envase utilizado debe ser adecuado y compatible con el gel que contiene.⁽²¹⁾

2.4.5. TÉCNICA PARA LA MEDICIÓN DEL GRADO DE INFLAMACIÓN EN RATAS

Para esta técnica se utiliza el equipo pletismómetro. (véase figura N°8)

2.4.5.1. FUNDAMENTO

El pletismómetro digital LE7500 (**Figura N°8**) es un instrumento para determinar la variación de volumen de las extremidades de roedores, midiendo la variación de nivel de líquido al introducir la extremidad en un depósito.

La introducción de un tejido (u objeto) en el recipiente cambia el nivel de líquido y la conductividad entre dos electrodos de platino previamente introducidos en el recipiente. Este cambio se expresa en mililitros con una resolución de 0.01 mL.⁽²⁴⁾

2.4.5.2. PROCEDIMIENTO

2.4.5.2.1. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN

La solución tendrá una concentración 0.1 % peso/volumen de NaCl, Es decir 1 g de NaCl por litro de H₂O destilada no desionizada. Añadir 15 gotas de tritón por cada litro de solución.⁽²⁴⁾

2.4.5.2.2. PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN

- Al encender la unidad de control, se encenderá el LED HOLD y tras unos instantes el “Display” quedará a 0.00 mL.
- Gire la válvula para que entre la solución en la vasija volumétrica, hasta que ésta llegue a la marca de dicha vasija. Pulse el botón cero para indicar el punto de partida (0.00 mL de volumen).
- calibre el instrumento (véase el botón “Calibration”).
- Retire el calibre de la vasija volumétrica y pulse “Zero” para indicar el nivel que equivale a volumen cero.
- Introduzca el calibre de 3.00 mL y pulse “Calibration”, el “Display” marcará 3.00 mL.
- Retire el calibre de la vasija volumétrica, el “Display” debe indicar 0.00 mL.
- Estando el “Display” en 0.00 mL introduzca la extremidad cuyo volumen desea determinar en la vasija volumétrica.⁽²⁴⁾ **(Figura N°8).**



Figura N°8.-Pletismómetro digital.

2.4.6. TÉCNICA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

2.4.6.1. MÉTODO

Método de edema plantar inducido por carragenina (creado por Winter *et al*, modificado por Sugishita).^(22,23,26)

2.4.6.2. FUNDAMENTO

El método del edema plantar inducido por carragenina fue descrito por primera vez por Winter *et al*. Y posteriormente modificado por Sughisita (1981). Consiste en la administración subcutánea o subplantar de una seudolución de λ (Lambda)-carragenina, un mucopolisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondrus crispus*, a nivel subplantar de la rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (serotonina, histamina, bradicinina, prostaglandinas, etc.); además, diversos factores del complemento están implicados en la amplificación de la respuesta. La sustancia a evaluar se puede

administrar por diferentes vías: Intraperitoneal, oral. La inflamación se cuantifica mediante medición del volumen desplazado por la pata, usando el pletismómetro. ^(22,23)

2.4.6.3. PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE CARRAGENINA

- Verificar la limpieza de los enseres y materiales necesarios para la fabricación.
- Identificar los componentes a usar.
- Se pesaron 0.9 g de cloruro de sodio.
- Se diluye en 100 mL de agua destilada.
- Se pesa 0.05 g de carragenina.
- Se diluye 5 mL de solución fisiológica anteriormente preparada (c.c. 1 %).
- Preparada la solución se inyectó 0.1 mL del agente inflamatorio en la región suplantar de la rata. (**Figura N° 9**)



Figura N° 9.- Proceso de inflamación de la parte plantar de la rata

2.4.7. GRUPOS DE ESTUDIO

En el presente trabajo se emplearon 32 ratas. Los animales de experimentación se dividieron en 4 grupos de 8 ratas cada uno como se describe a continuación:

- Grupo control: Se le aplicó tópicamente gel base tres horas después de producir la inflamación, para medir la intensidad de la misma.
- GE1 Grupo experimental 1: Aplicación tópica del gel con extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) al 5 %, tres horas después de producir la inflamación.
- GE2 Grupo experimental 2: Aplicación tópica del gel con extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) al 10 %, tres horas después de producir la inflamación.
- GE3 Grupo experimental 3: Aplicación tópica del gel con extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) al 20 %, tres horas después de producir la inflamación.

2.4.7.1. PROCEDIMIENTO

- Aclimatar las ratas y distribuir las de forma aleatoria.
- Se procede a marcar la pata de la rata a nivel de la aponeurosis para saber hasta dónde se va a introducir la pata en el recipiente del equipo pletismómetro digital.
- Medir el volumen inicial de la pata (T'0).
- Administrar 0.1mL de carragenina a través de una aguja hipodérmica de 21 x 1½ pulgada.

- Para evaluar la inflamación producida por la carragenina se espera un tiempo de 3 horas (previo ensayo) en el cual se logra la inflamación máxima (constante).
- Medir el volumen de la pata en tiempo antes mencionado (T'1).
- Seguidamente se le aplica los geles a estudiar de *Gamochaeta americana* (Queto Queto), tomando en cuenta la distribución de grupos a trabajar (**Cuadro N°3**).
- Se procede a medir el volumen de la pata cada dos horas en el equipo antes mencionado (**Anexo N°2 en el Cuadro N°5**).

2.5. TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

2.5.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

2.5.1.1. MEDIA ARITMÉTICA

Es la medida de tendencia central más conocida. La media se obtiene sumando todos los valores en una población o muestra y dividiendo entre los valores sumados:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

2.5.1.2. MEDIDAS DE DISPERSIÓN

La dispersión de un conjunto de observaciones se refiere a la variedad que muestran éstas. Una medida de dispersión conlleva información respecto de la cantidad total de variabilidad presente

en el conjunto de datos. Si todos los valores son iguales no hay dispersión, pero si no todos son iguales, entonces existe dispersión en los datos. La magnitud de la dispersión es pequeña cuando los valores, aunque diferentes, son cercanos entre sí.

2.5.1.3. LA VARIANZA

Cuando los valores de un conjunto de observaciones se encuentran ubicados cerca de su media, la dispersión es menor que cuando están esparcidos. En consecuencia, se puede pensar intuitivamente que es posible medir la dispersión en función del esparcimiento de los valores alrededor de su media. Esta medición se efectúa mediante lo que se conoce como *varianza*. Para calcular la varianza de una muestra de valores, se resta la media de cada uno de los valores individuales, las diferencias se elevan al cuadrado y después se suman entre sí. Esta suma de desviaciones elevadas al cuadrado de los valores con respecto a la media se divide entre el tamaño de la muestra, menos 1, para obtener la varianza de la muestra. Si se asigna la letra s^2 para simbolizar la varianza de la muestra, el procedimiento descrito se expresa como sigue:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

2.5.1.4. DESVIACIÓN ESTÁNDAR

La varianza representa unidades al cuadrado, por lo que no es una medida adecuada de dispersión si se pretende expresar este concepto en términos de las unidades originales. Para obtener la medida de dispersión en unidades originales, simplemente se

obtiene la raíz cuadrada de la varianza.⁽¹¹⁾

$$s = \sqrt{s^2}$$

2.5.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL

2.5.2.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

El análisis de varianza de un tratamiento se aplica a los test estadísticos sobre más de dos grupos. Se crea una suma de cuadrados que represente las diferencias entre las medias de cada uno de los grupos y una segunda suma que represente la variación en cada uno de ellos.

ANOVA es una técnica estadística eficiente; si la hipótesis nula está fundamentada (es decir, si no se encuentra evidencia para rechazarla), normalmente uno no continúa con las siguientes comparaciones estadísticas que permiten analizar datos empíricos para determinar si hay diferencia significativa entre el conjunto de medias, en cambio si encontramos evidencia suficiente para rechazarla se aceptara la hipótesis alternativa a lo cual se podría aplicar un test de comparación múltiple que nos señale en forma precisa y específica que grupos son similares o diferentes. Esta prueba es la prueba de Tukey.

2.5.2.2. PRUEBA HSD DE TUKEY

La prueba de Tukey, que generalmente se conoce como prueba de HSD (*diferencia verdaderamente significativa*), es una prueba de comparación múltiple, utiliza medias graduadas, se basa en el análisis de varianza y asegura que la probabilidad de que una o más

comparaciones que se juzgue significativa solamente por azar no sea mayor de 5%.



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. TRATAMIENTO PREVIO Y OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

Luego de triturar las partes aéreas de la *Gamochaeta americana*, (Queto Queto) se procedió a la extracción con disolvente mediante el equipo de percolación, utilizando como solvente alcohol etílico. Para tal fin de la extracción se pesaron 20 g material vegetal.

El extracto obtenido presentó las siguientes características.

- Color: verde intenso.
- Aspecto: límpido.
- Olor: característico a la droga.

Este extracto fue concentrado hasta obtener un extracto fluido 20 mL (**Cuadro N°5**), almacenado en un frasco de vidrio color ámbar con cerradura hermética; para la posterior marcha fitoquímica preliminar mediante cromatografía en capa fina, formulación del gel y evaluación antiinflamatoria.

Cuadro N° 5

Concentración final del extracto fluido de *Gamochaeta americana*, "Queto Queto"

Peso de la droga	Cantidad de solución extractiva	Cantidad de extracto concentrado
20 g	920 mL	20 mL
Producto:	Extracto fluido	

Fuente: elaboración propia

3.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL EXTRACTO DE LA PLANTA

Para lograr la determinación del porcentaje de rendimiento se toma una cantidad de planta de *Gamochaeta americana* (Queto Queto), triturando las partes aéreas (hojas) de la planta, luego se procedió extraer por el método de extracción con disolventes (continuo) en el equipo Soxhlet con solventes de distinta polaridad (**Cuadro N°6**).

En el (**cuadro N° 6**) Se puede observar que el extracto con solvente etanol presenta mayor porcentaje de rendimiento de sólidos extraídos: probablemente por la polaridad de las sustancias presentes en la planta.

Cuadros N° 6

Porcentaje de rendimiento de los extractos de la planta *Gamochaeta americana*, "Queto Queto"

Solvente	Peso de muestra en gramos	Cantidad de solvente en mililitros	Peso de extracto seco en gramos	Porcentaje de rendimientos
Acetato de etilo	10.00 g	100.00 mL	0.22 g	2.20 %
Hexano	10.00 g	100.00 mL	0.15 g	1.50 %
Etanol	10.00 g	100.00 mL	1.59 g	15.90 %

Fuente: Elaboración propia

3.3. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Este método analítico fue utilizado para identificar las principales metabolitos secundarios presentes en la droga, sin la presencia de estándares. Se trató el extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) en diferentes fases móviles y reveladores, específicos para metabolitos secundarios.

- **CROMATOGRAFÍA**

La determinación de la denominada huella digital de la *Gamochaeta americana* (Queto Queto) se utilizó como fase móvil: tolueno: acetato de etilo (50:50), respectivamente y se empleó como revelador: ácido sulfúrico 5 % y vainillina 1 % siendo esparciendo por un atomizador, luego se procedió llevar a la estufa previamente acondicionada a una temperatura de 110 °C poniendo la placa durante un tiempo de 5 min.

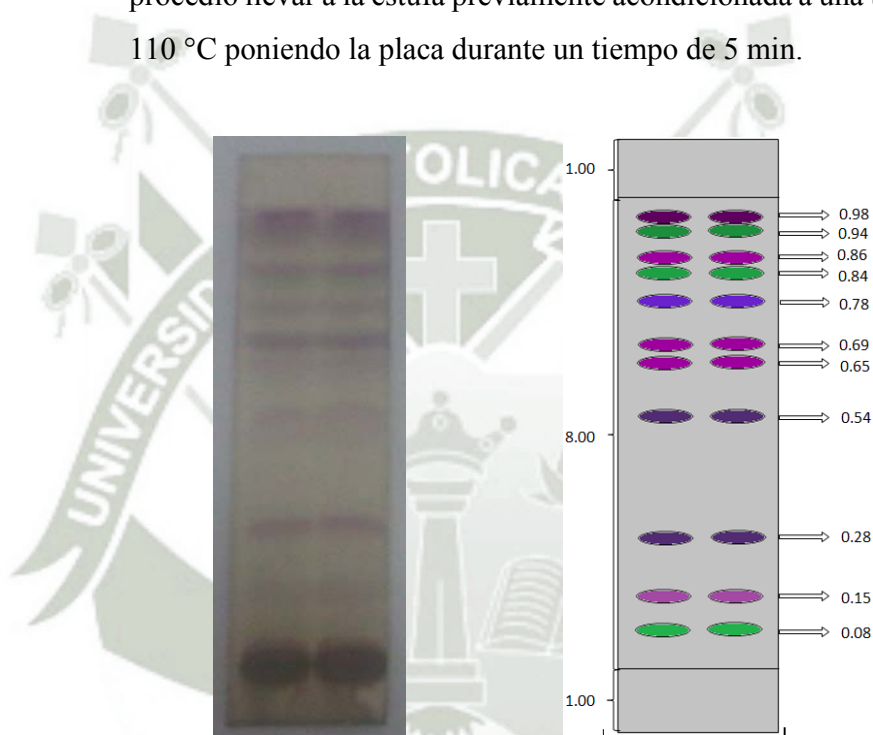


Figura N° 10.- Corrida cromatográfica

Visualizamos el análisis cromatográfico, observándose la huella digital del extracto *Gamochaeta americana* (Queto Queto), en la cual se observan sustancias con alta polaridad que vemos de colores verde, violeta, morado con R_f bajos y otras teniendo baja polaridad con R_f muy altos todas estas manchas nos van a permitir caracterizar a nuestra droga y para que posteriormente pueda ser comparados con otros trabajos.

- **FLAVONOIDES:**

Para la determinación de flavonoides se utilizó como fase móvil: acetato de etilo: metanol: ácido acético (70:30:1) respectivamente y como revelador se utilizó: tricloruro de aluminio 5 % en etanol, observándose en luz UV 365 nm (**Figura N°11**).

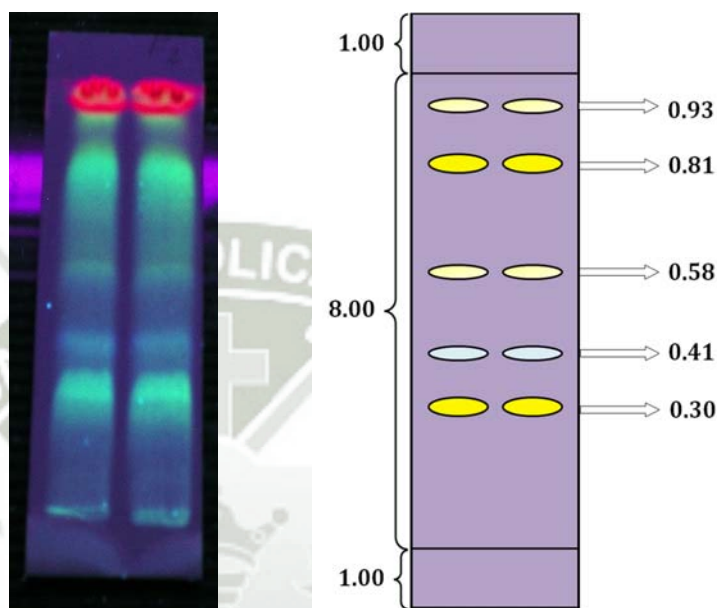


Figura N° 11.- Corrida cromatográfica (flavonoides)

Observamos la cromatografía del extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto), en el cual, el resultado del análisis se evidenció la presencia de manchas de color amarillo algunas más intensa que otras bajo la luz UV a una longitud de 366 nm. Pudiendo indicar la presencia de flavonoides según la bibliografía revisada (Olga Luck, Claudia Kuklinski).

- **TANINOS:**

Para la determinación de taninos se utilizó como fase móvil: metanol: agua: ácido acético (90:10:10) respectivamente y como revelador se empleó: cloruro férrico 10% en etanol. Observándose a luz visible (**Figura N°12**).

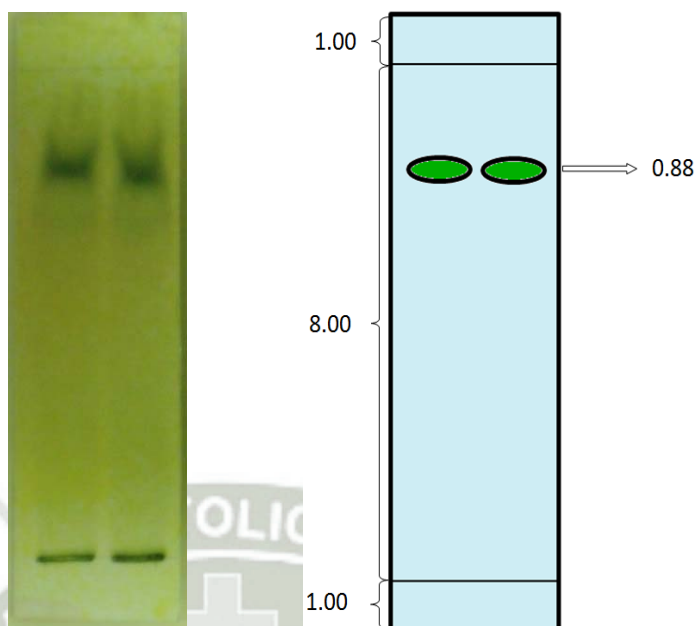


Figura N° 12.- Análisis cromatográfico de taninos del extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto)

Evidenciamos en la cromatografía del extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) la presencia de la mancha de un color verde intenso bajo la luz visible pudiendo indicar la presencia de taninos según la bibliografía revisada (Olga Luck, villar del Fresno)

3.4. PREPARACIÓN DEL GEL CON EXTRACTO FLUIDO DE *Gamochaeta americana* (Queto Queto)

Una vez obtenido el extracto de *Gamochaeta americana*, (Queto Queto), se elaboró el gel de acuerdo al método ya descrito, realizando los cálculos correspondientes para obtener 4 potes de 100 g c/u, a las concentraciones de 5 %, 10 %, 20 % y gel base respectivamente (**Cuadro N° 7**), con las características organolépticas del gel (**Cuadro N° 8**).

Cuadro N° 7

Formulación de gel

COMPONENTES	Gel Base	Gel 5%	Gel 10%	Gel 20%
Extracto fluido de Queto Queto	0.00 mL	5.00 mL	10.00 mL	20.00 mL
Carbopol 940	2.00 g	2.00 g	2.00 g	2.00 g
Propilenglicol	5.00 mL	5.00 mL	5.00 mL	5.00 mL
Metilparabeno	0.10 g	0.10 g	0.10 g	0.10 g
Propilparabeno	0.05 g	0.05 g	0.05 g	0.05 g
Alcohol comercial de 70° c.s.	100.00 mL	100.00 mL	100.00 mL	100.00 mL
Trietanolamina c.s.	pH 6.5	pH 6.5	pH 6.5	pH 6.5

Fuente: elaboración propia

Cuadro N° 8

Caracteres organolépticos del gel con extracto de *Gamochaeta americana* (Queto Queto)

ORGANOLÉPTICO	DESCRIPCIÓN
Sabor	Característico a planta
Color	Verde intenso
Olor	Característico de la planta
Aspecto externo	Uniforme, con cámaras de aire
Consistencia	Semisólido

Fuente: elaboración propia

3.5.EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL GEL A BASE DE EXTRACTO DE *Gamochaeta americana* (Queto Queto) Y GEL BASE SIN EXTRACTO

Luego de la aclimatación de las ratas se procedió a la distribución de las mismas en forma aleatoria, procediendo al marcado para su identificación; se procedió a la medición del volumen de las patas de los animales en el equipo pletismómetro digital. Seguidamente se administró 0.1 mL de la solución constituida por carragenina al 1 %, luego de 3 horas en el cual se logra la máxima inflamación (**Figura N°13**) se procede a su medición, inmediatamente se administró los geles respectivos según los grupos de estudio y el procedimiento antes mencionado (**Figura N°14**). Los porcentajes de inflamación se presentan a continuación.



Figura N°13.- Comparación de la pata inflamada con la pata normal.

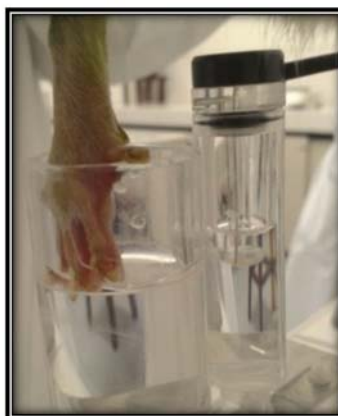


Figura N°14.- Medición de pata mediante pletismómetro digital.

El (**Cuadro N° 9**) se observa los resultados en porcentaje de inhibición de la inflamación calculados a partir de las unidades en mililitros dados por el pletismómetro (ver **Anexo N° 2**), planteando formula (ver **Anexo N°3**).

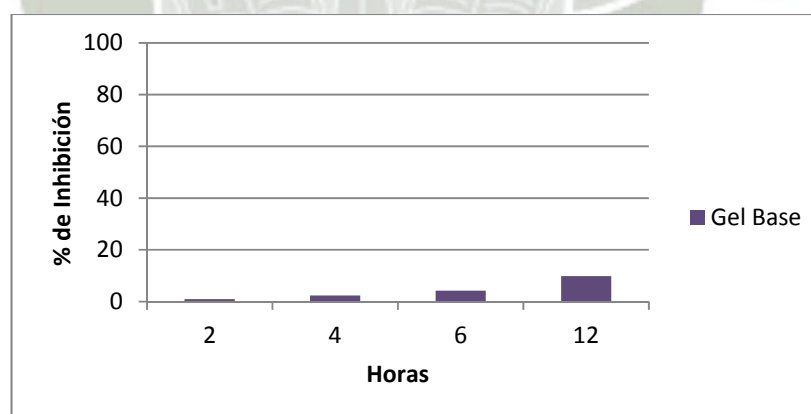
Cuadro N°9

Resultado en porcentaje de inhibición de la inflamación del grupo control “gel base”

N° RATA	2h (%)	4h (%)	6h (%)	12h (%)
1	1.22	2.44	4.88	10.98
2	0.00	2.67	4.00	9.33
3	1.32	1.32	3.95	9.21
4	1.20	2.41	4.82	10.84
5	0.00	2.38	3.57	8.33
6	1.23	2.47	4.94	9.88
7	1.33	1.33	4.00	10.67
8	1.19	3.57	3.57	9.52
Promedio	0.94	2.32	4.22	9.85
Desviación estándar	0.58	0.73	0.58	0.93

Fuente: elaboración propia (Microsoft Excel 2010)

Podemos afirmar que el gel base no presenta un efecto antiinflamatorio significativo en comparación con la inflamación máxima y la inflamación a las 12 horas (**Gráfica N°1**), dando un efecto antiinflamatorio promedio de 9.85% a las 12 horas probablemente se deba a que el alcohol tiene un ligero efecto antiinflamatorio.



Gráfica N°1.- Medias de los porcentajes de inhibición de inflamación a los distintos tiempos recolectados.

En el (**Cuadro N° 10**) se observa los resultados en porcentaje de inhibición de la inflamación calculados a partir de las unidades en mililitros dados por el pletismómetro (ver **Anexo N° 2**), planteando la formula (ver **Anexo N° 3**).

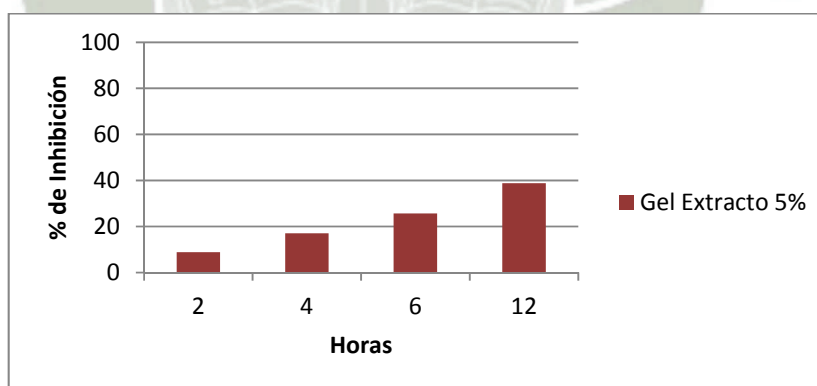
Cuadro N°10

Resultado en porcentaje de inhibición de la inflamación del grupo experimental N°1

N° RATA	2h (%)	4h (%)	6h (%)	12h (%)
1	8.75	18.75	25.00	38.75
2	10.00	18.75	27.50	40.00
3	9.64	16.87	25.30	36.14
4	7.32	15.85	26.83	40.24
5	8.86	16.46	25.32	37.97
6	7.50	15.00	26.25	40.00
7	11.11	17.28	24.69	38.27
8	7.32	17.07	24.39	39.02
Promedio	8.81	17.00	25.66	38.80
Desviación estándar	1.39	1.30	1.09	1.37

Fuente: Elaboración propia (Microsoft Excel 2010)

Podemos afirmar que el gel con extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) al 5 % presento un porcentaje de inhibición de la inflamación promedio de 25.66 % a las 6 horas (**Gráfica N°2**), no teniendo el resultado deseado para dicha formulación, quedando descartado por su baja efectividad.



Gráfica N°2.- Medias de los porcentajes de inhibición de inflamación a los distintos tiempos recolectados.

En el (**Cuadro N° 11**) se observa los resultados en porcentaje de inhibición de la inflamación calculados a partir de las unidades en mililitros dados por el pletismómetro (ver **Anexo N° 2**), planteando la formula (ver **Anexo N° 3**).

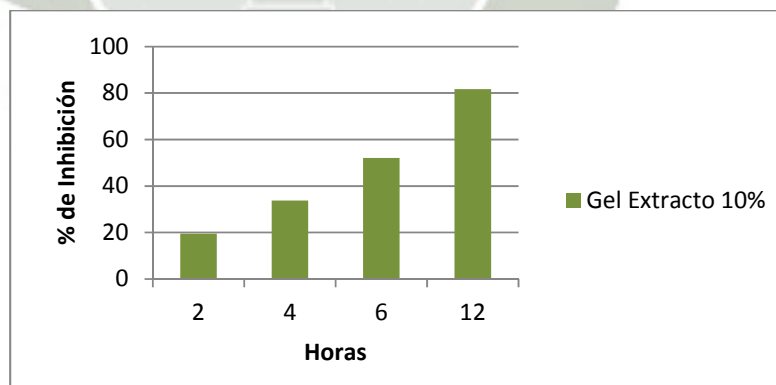
Cuadro N°11

Resultado en porcentaje de inhibición de la inflamación del grupo experimental N°2

N° RATA	2h (%)	4h (%)	6h (%)	12h (%)
1	18.42	32.89	52.63	82.89
2	22.39	32.84	50.75	82.09
3	19.75	34.57	54.32	81.48
4	17.81	35.62	52.05	78.08
5	20.25	32.91	50.63	83.54
6	18.75	32.50	52.50	81.25
7	18.57	34.29	51.43	82.86
8	19.74	34.21	52.63	81.58
Promedio	19.46	33.73	52.12	81.72
Desviación estándar	1.44	1.10	1.20	1.68

Fuente: Elaboración propia (Microsoft Excel 2010)

Podemos afirmar que el gel con extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) 10 % presento un porcentaje de inhibición de la inflamación promedio de 52.12 % a las 6 horas (**GráficaN°3**). Dando un resultado apto para satisfacción de dicho efecto. Quedando óptimo por su buena efectividad.



Gráfica N°3.- Medias de los porcentajes de inhibición de inflamación a los distintos tiempos recolectados.

En el (**Cuadro N° 12**) se observa los resultados en porcentaje de inhibición de la inflamación calculados a partir de las unidades en mililitros dados por el pletismómetro (ver **Anexo N° 2**), planteando la formula (ver **Anexo N° 3**).

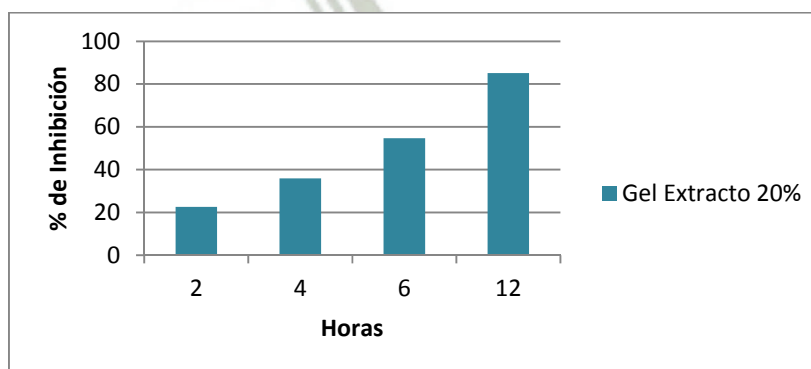
Cuadro N°12

Resultado en porcentaje de inhibición de la inflamación del grupo experimental N°3

N° RATA	2h (%)	4h (%)	6h (%)	12h (%)
1	23.46	37.04	54.32	85.19
2	21.52	36.71	53.16	87.34
3	22.22	35.80	53.09	85.19
4	23.29	34.25	56.16	87.67
5	20.73	34.15	54.88	84.15
6	22.78	35.44	55.70	83.54
7	24.05	36.71	54.43	81.01
8	22.67	37.33	56.00	86.67
Promedio	22.59	35.93	54.72	85.10
Desviación estándar	1.11	1.23	1.20	2.21

Fuente: elaboración propia (Microsoft Excel 2010)

Podemos afirmar que el gel con extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) 20 % presento un porcentaje de inhibición de la inflamación promedio de 54.72 % a las 6 horas (**Gráfica N°4**). Dando un resultado apto para satisfacción de dicho efecto. Quedando óptimo por su buena efectividad.



Gráfica N°4.-Medias de los porcentajes de inhibición de inflamación a los distintos tiempos recolectados.

En el (Cuadro N° 13) se observa el resultado promedio en porcentajes de inhibición de la inflamación de los diferentes grupos experimentados calculados a partir de las unidades en mililitros dados por el pletismómetro (ver Anexo N° 2), planteando la formula (ver Anexo N° 3).

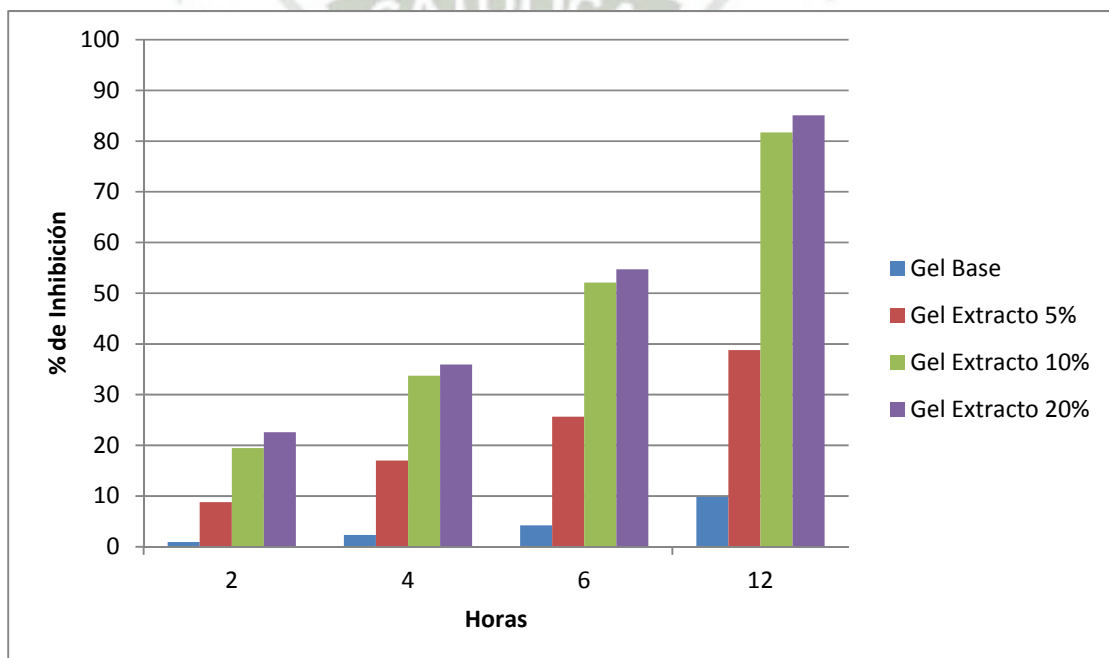
Cuadro N°13

Resumen en porcentaje de inhibición de la inflamación de los grupos control y experimentales

	N° RATA	2h (%)	4h (%)	6h (%)	12h (%)
GEL BASE	1	1.22	2.44	4.88	10.98
	2	0.00	2.67	4.00	9.33
	3	1.32	1.32	3.95	9.21
	4	1.20	2.41	4.82	10.84
	5	0.00	2.38	3.57	8.33
	6	1.23	2.47	4.94	9.88
	7	1.33	1.33	4.00	10.67
	8	1.19	3.57	3.57	9.52
GEL EXTRACTO 5 %	1	8.75	18.75	25.00	38.75
	2	10.00	18.75	27.50	40.00
	3	9.64	16.87	25.30	36.14
	4	7.32	15.85	26.83	40.24
	5	8.86	16.46	25.32	37.97
	6	7.50	15.00	26.25	40.00
	7	11.11	17.28	24.69	38.27
	8	7.32	17.07	24.39	39.02
GEL EXTRACTO 10 %	1	18.42	32.89	52.63	82.89
	2	22.39	32.84	50.75	82.09
	3	19.75	34.57	54.32	81.48
	4	17.81	35.62	52.05	78.08
	5	20.25	32.91	50.63	83.54
	6	18.75	32.50	52.50	81.25
	7	18.57	34.29	51.43	82.86
	8	19.74	34.21	52.63	81.58
GEL EXTRACTO 20 %	1	23.46	37.04	54.32	85.19
	2	21.52	36.71	53.16	87.34
	3	22.22	35.80	53.09	85.19
	4	23.29	34.25	56.16	87.67
	5	20.73	34.15	54.88	84.15
	6	22.78	35.44	55.70	83.54
	7	24.05	36.71	54.43	81.01
	8	22.67	37.33	56.00	86.67

Fuente: elaboración propia (Microsoft Excel 2010)

Observamos que existe un mayor efecto antiinflamatorio en los grupos experimentales N°2 y N°3 a comparación del grupo experimental N°1 y el gel base, por lo expuesto los grupos experimentales N°2 y N°3 no son significativamente diferentes entre ellos a pesar de que se duplico la concentración del extracto del grupo experimental N°3, probablemente se deba a que el extracto llego al umbral máximo del efecto antiinflamatorio, siendo los dos grupos eficaces pero el grupo experimental N°2 es más eficiente ya que tiene menos concentración del extracto (véase **Gráfico N°5**).



Gráfica N°5.-Medias de los porcentajes de inhibición en inflamación a los distintos tiempos recolectados en los grupos control y experimental.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL DE ANOVA Y TUKEY

En el presente trabajo los datos son continuos y se tiene más de dos tratamientos. La prueba estadística recomendada en este caso es el análisis de varianza (ANOVA). Este análisis nos permite determinar si existe una

diferencia estadísticamente significativa entre la media de % inhibición entre un nivel de tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Debido a que el ANOVA solo nos informa sobre la similitud o diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; vimos la necesidad de aplicar una prueba estadística de comparación múltiple que nos señale en forma precisa y específica que grupos (de los cuatro) son similares o diferentes. Esta prueba es la prueba de Tukey.

- **ANOVA PARA EL GEL BASE**

Variable dependiente: % inhibición

Factor: Tiempo

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 4

Nivel de confianza: 95%

$H_0 : T_2 = T_3 = T_4 = T_5$

$H_1 : T_2 \neq T_3 \neq T_4 \neq T_5$

El (**Cuadro N° 17**) nos muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA) realizado mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurión; este estadístico fue calculado con la finalidad de observar si los grupos experimentales difieren entre sí con relación a sus medias y varianzas. En este sentido apreciamos que los cuatro grupos experimentales difieren entre sí. Llegamos a esta conclusión debido a que el valor de $P \ll 0.05$. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos si son estadísticamente diferentes.

Cuadro N° 17

Análisis de varianza (ANOVA) para porcentaje de inhibición

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	367.8	3	122.6	237.91	0.0000
Intra grupos	14.43	28	0.5153		
Total (Corr.)	382.2	31			

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) que nos señala en forma precisa y específica que grupos (de los cuatro) son similares o diferentes.

En el (**Cuadro N°18**), (**Cuadro N°19**) y (**Grafico N°7**) evidenciamos que hay una diferencia entre grupos

Cuadro N° 18

Pruebas de múltiple rangos para % inhibición por tiempo método: 95.0 % Tukey HSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos homogéneos
2 hrs	8	0.936	X
4 hrs	8	2.324	X
6 hrs	8	4.216	X
12 hrs	8	9.845	X

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Cuadro N° 19

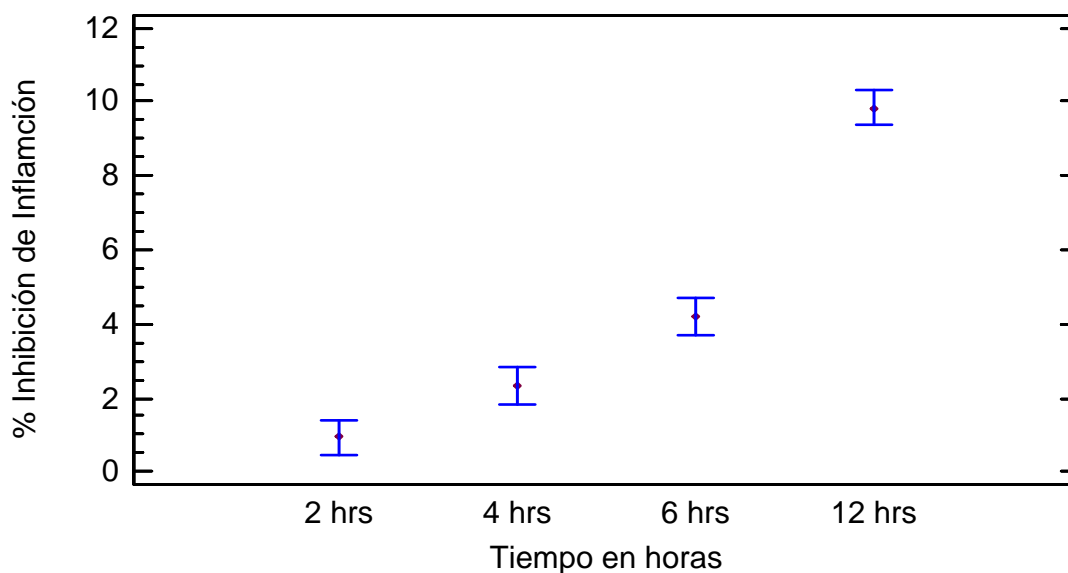
Diferencia entre grupos

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
12 hrs – 2 hrs	*	8.909	0.9801
12 hrs – 4 hrs	*	7.521	0.9801
12 hrs – 6 hrs	*	5.629	0.9801
2 hrs – 4 hrs	*	-1.388	0.9801
2 hrs – 6 hrs	*	-3.280	0.9801
4 hrs – 6 hrs	*	-1.893	0.9801

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

* indica una diferencia significativa.

La (**Gráfica N°7**) muestra la media de % de inhibición para cada uno de los niveles de tiempo. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Todos los intervalos se traslaparán 95,0%. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente corresponden a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa.



Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Gráfica N°7.- Medias de los grupos para intervalos HSD de Tukey para % de Inhibición de la inflamación por niveles de los tiempos en horas.

- **ANOVA PARA EL EXTRACTO AL 5 %**

Variable dependiente: % Inhibición

Factor: Tiempo

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 4

Nivel de confianza: 95%

$H_0 : T_2 = T_3 = T_4 = T_5$

$H_1 : T_2 \neq T_3 \neq T_4 \neq T_5$

El cuadro N° 20 nos muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA) realizado mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurion; este estadístico fue calculado con la finalidad de observar si los grupos experimentales difieren entre sí con relación a sus medias y varianzas. En este sentido apreciamos que los cuatro grupos experimentales difieren entre sí. Llegamos a esta conclusión debido a que el valor de $P \ll 0.05$. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos si son estadísticamente diferentes.

Cuadro N° 20

Análisis de varianza (ANOVA) para porcentaje de inhibición

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3945.0	3	1315.0	787.10	0.0000
Intra grupos	46.78	28	1.671		
Total (Corr.)	3992.0	31			

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de

comparación múltiple (Tukey) que nos señala en forma precisa y específica que grupos (de los cuatro) son similares o diferentes.

En el (**Cuadro N°21**), (**Cuadro N°22**) y (**Grafico N°8**) evidenciamos que hay una diferencia entre grupos

Cuadro N° 21

Pruebas de múltiple rangos para % inhibición por tiempo método: 95.0 % Tukey HSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos homogéneos
2 hrs	8	8.81	X
4 hrs	8	17.00	X
6 hrs	8	25.66	X
12 hrs	8	38.80	X

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Cuadro N° 22

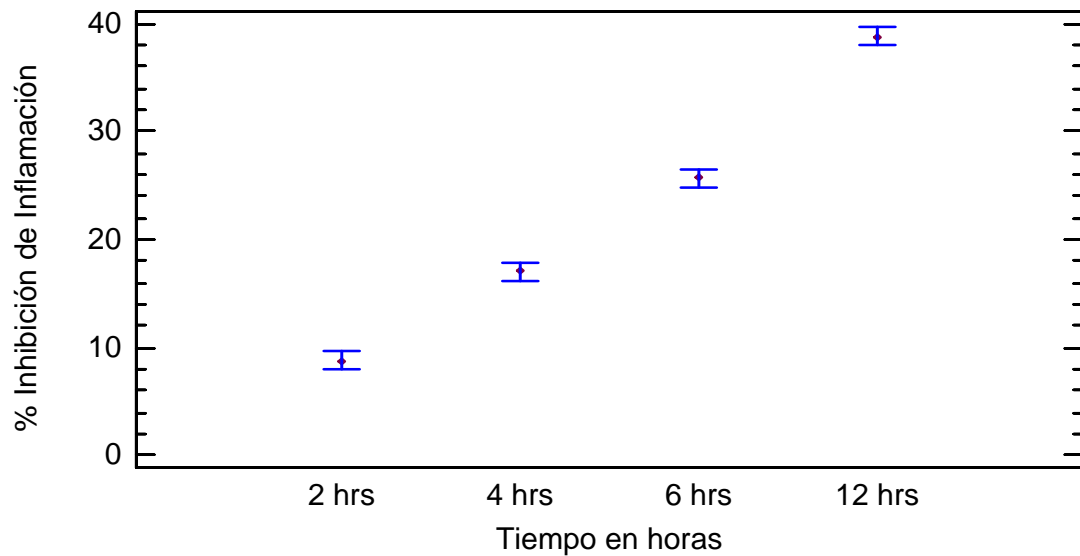
Diferencia entre grupos

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
2 hrs – 4 hrs	*	-8.19	1.765
2 hrs – 6 hrs	*	-16.85	1.765
2 hrs – 12 hrs	*	-29.99	1.765
4 hrs – 6 hrs	*	-8.65	1.765
4 hrs – 12 hrs	*	-21.79	1.765
6 hrs – 12 hrs	*	-13.14	1.765

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

* indica una diferencia significativa.

La (**Gráfica N°8**) muestra la media de % de inhibición para cada uno de los niveles de tiempo. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Todos los intervalos se traslaparán 95,0%. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente corresponden a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa.



Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Gráfica N°8.- Medias de los grupos para intervalos HSD de Tukey para % de Inhibición de la inflamación por niveles de los tiempos en horas.

- **ANOVA PARA EL GEL CON EXTRACTO AL 10%**

Variable dependiente: % Inhibición

Factor: Tiempo

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 4

Nivel de confianza: 95%

$H_0 : T_2 = T_3 = T_4 = T_5$

$H_1 : T_2 \neq T_3 \neq T_4 \neq T_5$

El (**Cuadro N° 22**) nos muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA) realizado mediante el paquete estadístico Statgraphics; este estadístico fue calculado con la finalidad de observar si los grupos experimentales difieren entre sí con relación a sus medias y varianzas. En este sentido apreciamos que los cuatro grupos experimentales difieren entre sí. Llegamos a esta conclusión debido a que el valor de $P \ll 0.05$. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos si son estadísticamente diferentes.

Cuadro N° 22

Análisis de varianza (ANOVA) para porcentaje de inhibición

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.733E4	3	5776.	3067.55	0.0000
Intra grupos	52.72	28	1.883		
Total (Corr.)	1.738E4	31			

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) que nos señala en forma precisa y específica que grupos (de los cuatro) son similares o diferentes.

En el (**Cuadro N°23**), (**Cuadro N°24**) y (**Grafico N°9**) evidenciamos que hay una diferencia entre grupos

Cuadro N° 23

Pruebas de múltiple rangos para % inhibición por tiempo método: 95.0 % Tukey HSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos homogéneos
2 hrs	8	19.46	X
4 hrs	8	33.73	X
6 hrs	8	52.12	X
12 hrs	8	81.72	X

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Cuadro N° 24

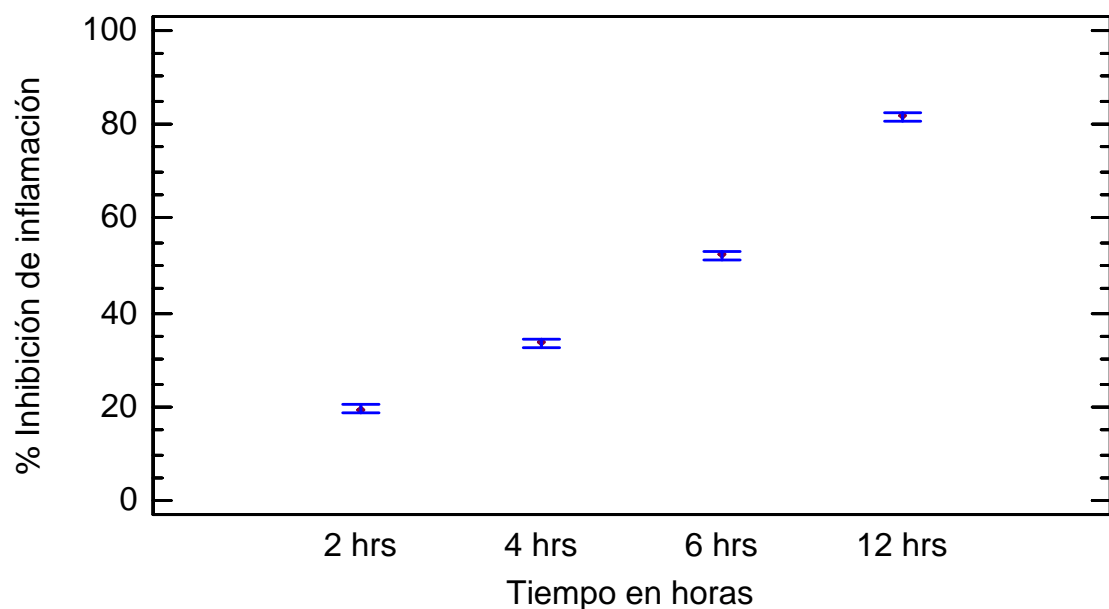
Diferencia entre grupos

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
12 hrs – 2 hrs	*	62.26	1.874
12 hrs – 4 hrs	*	47.99	1.874
12 hrs – 6 hrs	*	29.60	1.874
2 hrs – 4 hrs	*	-14.27	1.874
2 hrs – 6 hrs	*	-32.66	1.874
4 hrs – 6 hrs	*	-18.39	1.874

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

* indica una diferencia significativa.

La (**Gráfica N°9**) muestra la media de % de inhibición para cada uno de los niveles de tiempo. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Todos los intervalos se traslaparán 95,0%. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente corresponden a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa.



Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Gráfica N°9.- Medias de los grupos para intervalos HSD de Tukey para % de Inhibición de la inflamación por niveles de los tiempos en horas.

- **ANOVA PARA EL GEL CON EXTRACTO AL 20%**

Variable dependiente: % inhibición

Factor: tiempo

Número de observaciones: 32

Número de niveles: 4

Nivel de confianza: 95%

$H_0 : T_2 = T_3 = T_4 = T_5$

$H_1 : T_2 \neq T_3 \neq T_4 \neq T_5$

El (**Cuadro N° 25**) nos muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA) realizado mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurion; este estadístico fue calculado con la finalidad de observar si los grupos experimentales difieren entre sí con relación a sus medias y varianzas. En este sentido apreciamos que los cuatro grupos experimentales difieren entre sí. Llegamos a esta conclusión debido a que el valor de $P \ll 0.05$. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos si son estadísticamente diferentes.

Cuadro N° 25

Análisis de varianza (ANOVA) para porcentaje de inhibición

Fuente	Suma de uadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.762E4	3	5872.0	2591.79	0.0000
Intra grupos	63.44	28	2.266		
Total (Corr.)	1.768E4	31			

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) que nos señala en forma precisa y específica que grupos (de los cuatro) son similares o diferentes.

En el (Cuadro N°26), (Cuadro N°27) y (Gráfico N°10) evidenciamos que hay una diferencia entre grupos

Cuadro N° 26

Pruebas de múltiple rangos para % inhibición por tiempo método: 95.0 & Tukey HSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
2 hrs	8	22.60	X
4 hrs	8	35.93	X
6 hrs	8	54.72	X
12 hrs	8	85.09	X

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Cuadro N° 27

Diferencia entre grupos

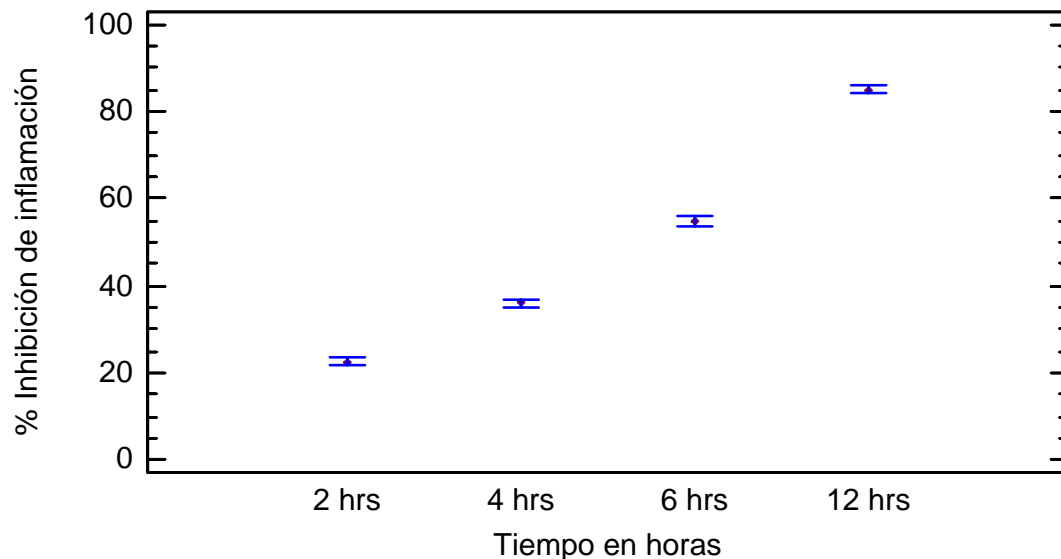
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
2 hrs – 4 hrs	*	-13.33	2.055
2 hrs – 6 hrs	*	-32.12	2.055
2 hrs – 12 hrs	*	-62.49	2.055
4 hrs – 6 hrs	*	-18.79	2.055
4 hrs – 12 hrs	*	-49.17	2.055
6 hrs – 12 hrs	*	-30.38	2.055

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

* indica una diferencia significativa.

La (Gráfica N°10) muestra la media de % de Inhibición para cada uno de los niveles de Tiempo. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Todos los intervalos se traslaparán 95,0%. Cualquier par de

intervalos que no se traslapen verticalmente corresponden a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa.



Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Gráfica N°10.- Medias para intervalos HSD de Tukey para % de inhibición para cada uno de los niveles de tiempo.

• **ANOVA MULTIFACTORIAL - % DE INHIBICIÓN FORMULACIÓN Y TIEMPO**

El (**Cuadro N° 28**) nos muestra los resultados del análisis de varianza (ANOVA Multifactorial) realizado mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurión; este estadístico fue calculado con la finalidad de observar si los grupos experimentales difieren entre sí. En este sentido apreciamos que las cuatro formulaciones experimentales y los cuatro tiempos difieren entre sí. Llegamos a esta conclusión debido a que el valor de $P \ll 0.05$. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula que asume que los grupos experimentales en formulación y tiempo no difieren entre sí, aceptándose entonces la hipótesis alternativa la cual asume que los grupos si son estadísticamente diferentes.

Variable dependiente: % de inhibición

Factores:

Formulación

A: $H_0 : F_2 = F_3 = F_4 = F_5$

Tiempo

$H_i : F_2 \neq F_3 \neq F_4 \neq F_5$

Número de casos completos: 128

B: $H_0 : T_2 = T_3 = T_4 = T_5$

Nivel de confianza: 95%

$H_i : T_2 \neq T_3 \neq T_4 \neq T_5$

Cuadro N° 28

Análisis de varianza (ANOVA) para porcentaje de inhibición

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A:Formulación	44029.0	3	14676.3	186.70	0.0000
B:Tiempo	29923.7	3	9974.6	126.89	0.0000
Residuos	9511.5	121	78.6		
Total (corregido)	83464.2	127			

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Debido a que el ANOVA solo nos informa la diferencia estadística entre los grupos y no de manera específica; aplicamos una prueba estadística de comparación múltiple (Tukey) que nos señala en forma precisa y específica que grupos (de los cuatro) son similares o diferentes.

En el (**Cuadro N°29**), (**Cuadro N°30**) y (**Grafico N°11**) evidenciamos que hay una igualdad significativa en los grupos de formulación con extracto al 10% y al 20% siendo los demás estadísticamente diferentes entre sí.

Cuadro N° 29

Pruebas de múltiple rangos para % de inhibición por formulación
método: 95,0 % Tukey HSD

Formulación	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos homogéneos
Gel base	32	4.33	1.567	X
Gel extracto 5%	32	22.57	1.567	X
Gel extracto 10%	32	46.76	1.567	X
Gel extracto 20%	32	49.59	1.567	X

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Cuadro N° 30

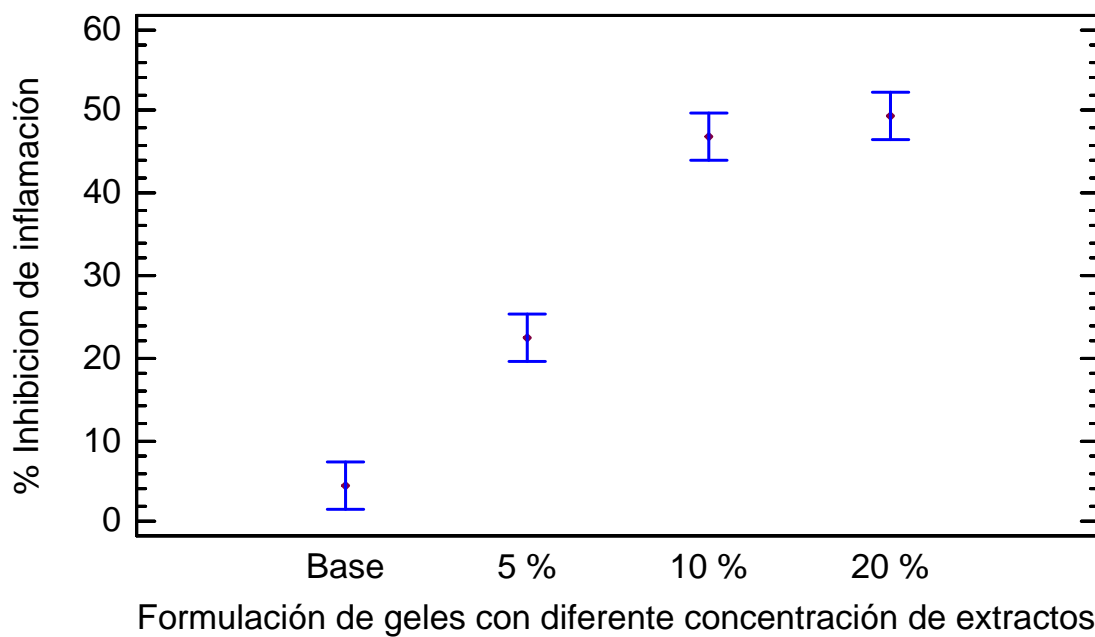
Cuadro de diferencia entre grupos

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Gel extracto 10% - Gel extracto 20%		-2.828	5.762
Gel extracto 10% - Gel extracto 5%	*	24.19	5.762
Gel extracto 10% - Gel base	*	42.43	5.762
Gel extracto 20% - Gel extracto 5%	*	27.02	5.762
Gel extracto 20% - Gel base	*	45.25	5.762
Gel extracto 5% - Gel base	*	18.24	5.762

* indica una diferencia significativa.

Fuente: Elaboración propia (statgraphics centurión)

La (**Gráfica N°11**) muestra la media de % de inhibición para cada uno de los niveles de tiempo. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Todos los intervalos se traslaparán 95,0%. Evidenciamos que los Geles con extracto al 10% y 20% se traslapan verticalmente correspondiendo a pares de medias que tienen una igualdad estadísticamente significativa.



Gráfica N°11.- Medias para intervalos HSD de Tukey para % de inhibición para cada uno de los niveles de formulación

En el (Cuadro N°31), (Cuadro N°32) y (Gráfico N°12) evidenciamos que hay una diferencia significativa en los diferentes grupos de tiempo recomprobando que los resultados dados por el método de ANOVA están conformes.

Cuadro N° 31

Pruebas de múltiple rangos para % inhibición por tiempo método: 95.0 & Tukey
HSD

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos homogéneos
2 hrs	32	12.95	1.567	X
4 hrs	32	22.25	1.567	X
6 hrs	32	34.18	1.567	X
12 hrs	32	53.87	1.567	X

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

Cuadro N° 32

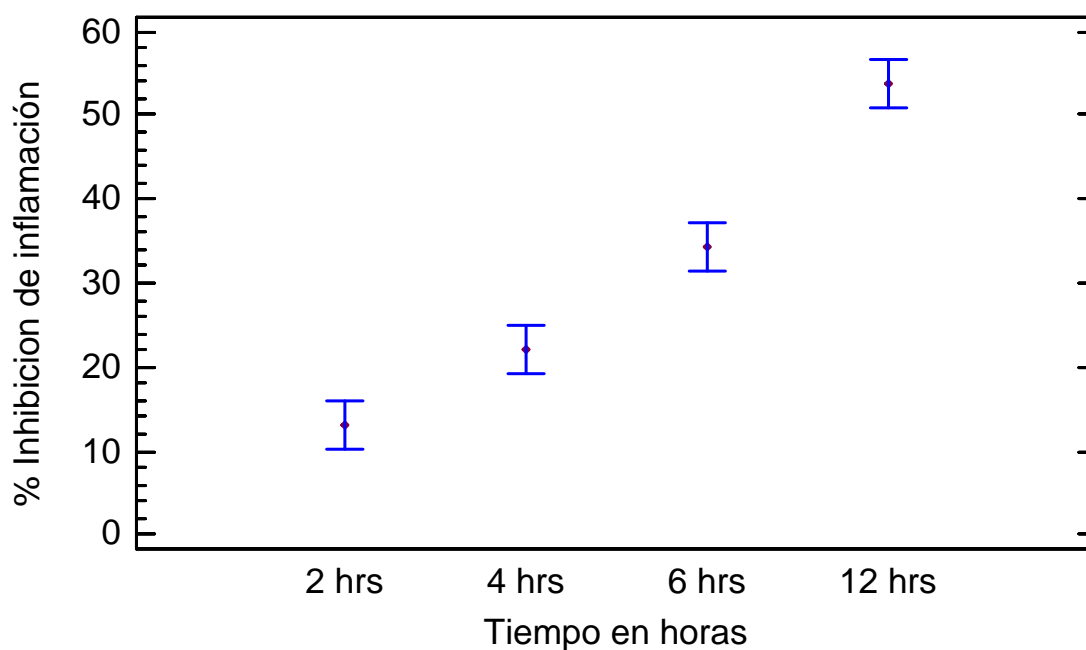
Diferencia entre grupos

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
2 hrs - 4 hrs	*	-9.294	5.762
2 hrs - 6 hrs	*	-21.23	5.762
2 hrs - 12 hrs	*	-40.91	5.762
4 hrs - 6 hrs	*	-11.93	5.762
4 hrs - 12 hrs	*	-31.62	5.762
6 hrs - 12 hrs	*	-19.69	5.762

Fuente: Elaboración propia (Statgraphics Centurión)

* indica una diferencia significativa.

La (**Gráfica N°12**) muestra la media de % de inhibición para cada uno de los niveles de tiempo. También muestra un intervalo alrededor de cada media. Todos los intervalos se traslaparán 95,0%. Cualquier par de intervalos que no se traslapen verticalmente corresponden a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa.



Gráfica N°11.- Medias para intervalos HSD de Tukey para % de Inhibición para cada uno de los niveles de formulación



CONCLUSIONES

1. Se obtuvo el rendimiento por el método de extracción con disolventes (continuo) en el equipo soxhlet con los diferentes solventes dando un mejor rendimiento con el solvente polar (etanol), con un porcentaje de rendimiento del 15.85 %, de la cual se obtuvo el extracto etanólico de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) por el equipo de percolación.
2. Se realizó una huella digital por cromatografía en capa fina del extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto), se identificó la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides y taninos
3. Se formuló un gel hidroalcohólico a base del extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) en las concentraciones de 5 %, 10 % y 20 % para su respectivo análisis de eficacia en el tratamiento antiinflamatorio.
4. Se midió la actividad inflamatoria en mililitros inducida por carragenina mediante el pletismómetro digital, se halló el porcentaje de inhibición de la inflamación de los diferentes grupos; el grupo experimental N°3 se trató con el gel a base del extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) al 20 %, mostrando una eficacia antiinflamatoria estadísticamente igual al grupo experimental N°2 el que se trató con gel a base del extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) al 10 %, siendo el gel al 10 % más potente ya que tiene una menor concentración, y por ultimo resultando los dos grupos anteriores muy superiores al grupo N°1 con extracto fluido *Gamochaeta americana* (Queto Queto) al 5 %.

SUGERENCIAS

PRIMERA

Determinar la toxicidad aguda y crónica; local y sistémica del extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) en animales de experimentación, a fin de establecer la seguridad de dicho extracto.

SEGUNDA

Realizar estudios preclínicos, con el objetivo de confirmar la eficacia del gel con extracto fluido de *Gamochaeta americana* (Queto Queto) 10 % como medicamento herbario con actividad antiinflamatoria tópica.

TERCERA

Sugerimos continuar con la investigación de la planta *Gamochaeta americana* (Queto Queto), ya que puede presentar aún más propiedades farmacológicas muy beneficiosas para el tratamiento de enfermedades, tales como el cáncer ya que le atribuyen efectos beneficiosos para este mal a nivel gástrico, páncreas y próstata.

BIBLIOGRAFÍA

1. RODRIGUEZ DIAZ M. “Tesis riqueza florística del distrito de chiguata”. Escuela Profesional y Academia de Biología UNSA. Arequipa 1999.
2. MOSTACERO LEON J., CASTILLO PICÓN F., MEJIA COICO R., GAMARRA TORRES O., CHACAPE RAVELO J., RAMIREZ VARGAS R., “Plantas Medicinales Del Perú”, 1^{ra} Edición Junio 2011. Ediciones Instituto Pacifico S.A.C.
3. CALLACONDO RIVA D., QUISPE MAURICIO A., LINDO GAMARRA S., ABRAHAM J. VAISBERG. “Actividad citotóxica del extracto etanólico de *Gnaphalium Spicatum* (Keto Keto) en cultivos de líneas celulares tumorales humanas”. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2008; 25(4): 380-85.
4. TEODORO AGAPITO F., ISABEL SUNG. “Fitomedicina 1100 Plantas Medicinales Tomo II”. Editorial KADIMS S.A.
5. BRACK EGG A., “Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú”. Centro de estudios regionales andinos bartolomé de las casas junio 1999
6. FUTOS E. ORTIZ, NESTOR E. MIRANDA, JUAN J. MOIRANO, JOSE C. FASSI, “Cirugía” 3^{ra} edición, Grafiquil S.A. Argentina
7. ALVARADO ALVA J. Apuntes de farmacología. 3^a Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
8. HOYOS VARGAS K. Y YEP CHU M.: “Diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca), con efecto antiinflamatorio”. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima, Perú 2008
9. GUADARRAMA FLORES B.: “Determinación de la actividad antiinflamatoria de dos muestras de *sphaeralcea angustifolia* y la interacción del extracto activo con fármacos de uso clínico”. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. México 2006.

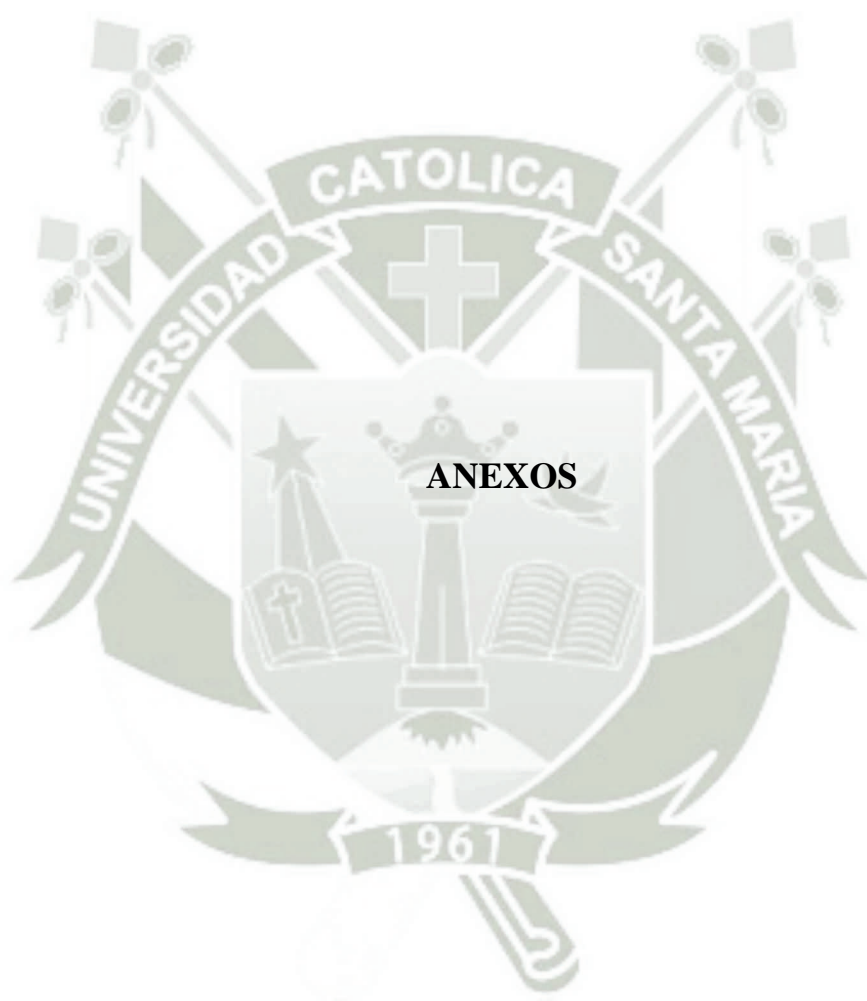
10. REMINGTON: The Science And Practice Of Pharmacy, 20TH Edition 2003.
11. VILA JATO J. L. “Tecnología Farmacéutica” 1º Edición 2001. Editorial Síntesis S.A.
12. ROZMAN F.: Medicina interna, 13ª Edición. 2003. Editorial Elsevier.
13. ROZMAN C.: Compendio de medicina interna, 2ª Edición. 2002. Ediciones Harcourt S.A.
14. PACHECO E, MARTÍNEZ E. Libro: “Analgésico, antitérmicos, antiinflamatorios no esteroideos en: Farmacología y práctica en enfermería”. Editorial El Reverté. Barcelona: Masson, 1999.
15. KUKLINSKI C.: “Farmacognosia, estudio de la drogas y sustancias medicamentosas de origen natural” - 1ª Edición, 2000. Ediciones Omega S.A.
16. VILLAR DEL FRESNO A. “Farmacognosia general”. Editorial síntesis S.A Valle Hermoso 34.2815. Madrid. España 1999.
17. MUÑOZ LOPES DE BUSTAMANTE F. “Planta medicinales y aromáticas”. Ediciones Mundi-Prensa Madrid ° Barcelona ° México. 4^{ta} Edición. 2002.
18. SKOOG D, LEARY J: “Análisis Instrumental” 4º Edición 1994 Editorial MC Graw Hill.
19. CASTILLO GARCIA B: Métodos analíticos y técnicas instrumentales empleadas en el aislamiento, identificación y cuantificación de los P.A presentes en plantas medicinales.
20. ROUESSAC F., ROUESSAC A., “Análisis químico métodos y técnicas instrumentos modernos” Universidad Granada 2003
21. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios: FORMULARIO NACIONAL. 1ª Edición. 2003. Ministerio de sanidad y consumo de España.

22. SUGISHITA E., AMAYA S., OGIHARA Y. Anti-inflamatoriy Testing Methods: Comparative evaluation of and rats J.Pharm. Dyn Vol 4 (N°8) 1981
23. WINTER C; RISLEY E; NUSS G. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. Proc. Soc. Exp. Biol.Med, 1962. Merck Institute for Therapeutic Research; West Point, PA
24. “Manual de usuario” Pletismómetro digital. L.E. 7500. Pamlab S.L. 2007.
25. ”Cromatografía en capa fina”. Disponible en internet: <http://www.textoscientíficos.com/química/cromatografía/capa-fina> FA: 2011/10/25 Textos Científicos.
26. HOYOS VARGAS M., YEP CHU M., 2008 UNMSM: “Diseño de una formulación y aplicación tópica a base de baccharis latifolia (chilca), con efecto antiinflamatorio”. Disponible en internet: http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2008/hoyos_vk/pdf/hoyos_vk.pdf
27. BRUNETON J. “Elementos de fitoquímica y farmacognosia”. Editorial Acribia S.A. Zaragoza (España) 2001.
28. LOCK SING DE UGAZ O. “Colorantes Naturales” Pontificia Universidad Católica del Perú, Fondo editorial 1997.
29. LOCK DE UGAZ O, “Investigación Fitoquímica métodos en el estudio de productos naturales” Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da Edición 1994.
30. The genus Gnaphalium L. (Compositae): phytochemical and pharmacological characteristics. Disponible en internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23860277>
31. Estudio de los componentes químicos de Gnaphalium hypoleucum. Disponible en internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23019902>

32. Vitto L. y Petenatti E. “Asteráceas de importancia económica y ambiental. Primera parte. Sinopsis morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial“. Disponible en internet: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-73292009000200003
33. MORENO RAMÍREZ F. “Determinación de la actividad antiinflamatoria en vivo de una crema a base del extracto hidroalcohólico de la *Grandelia boliviana rusby* (Chiri Chiri)”. Universidad Católica de Santa María, Arequipa 2010.
34. GARCÍA GUTIÉRREZ N. Y ZEA CHÁVEZ A. “Efecto antiinflamatorio tópico de la asociación de *Uncaria Tormentosa* (Uña de gato) y *Caléndula officinalis* L. (Caléndula) en el edema inducido experimentalmente en ratas”. Universidad Católica de Santa María, Arequipa 2008
35. ARANA CHÁVEZ J. Y FERNÁNDEZ QUICANA J.: “Estudio del efecto hepatoprotector de la especie *Gamochaeta americana* (Queto Queto) en animales de experimentación”. Universidad Católica de Santa María, Arequipa 2008
36. WAGNER H. AND BLADT S.: “Plant drug analysis a thin layer chromatography atlas” second edition 2001
37. VOIG RUDOLF: “Tratado de tecnología farmacéutica”. 3ª Edición. 1982. Editorial Acribia, España.
38. TALAVERA VASQUEZ E. “Análisis fitoquímico y ensayo farmacológico de la actividad antiinflamatoria de los extractos del tubérculo de *Dracontium lorwetense* Krouse (jergón sacha)”. Universidad Católica de Santa María, Arequipa. 1998.
39. PEREA LAYME C. Y VALERO CONDOY O.: “Estudio del efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las flores de *Calendula officinalis* L (caléndula) y su relación con el contenido de flavonoides”. Universidad Católica de Santa María, Arequipa. 2002.

40. HARMAN J., LIMBIRT L. Y GILMAN A.: LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA, 11ª Edición. 2008. McGraw-Hill Interamericana.
41. CANO CAHUANA Y MARES SAIHUA M.: “Análisis fitoquímico y evaluación del efecto antiinflamatorio tópico de la Resina Purificada de *Azorella compacta* Phil sobre la inflamación experimental en ratas”. Universidad Católica Santa María. Arequipa, 1999.
42. ENCISO E. y ARROYO J.: “Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas”. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
43. BRAVO DÍAZ L.: “Farmacognosia Especial”. MMIII Edición en español Elsevier España, S.A. 2006
44. AHMED M. SALAMA: ”Manual de farmacognosia, Análisis microscópico y fitoquímico, y usos de plantas medicinales”. Primera edición, 2005. Bogotá, Colombia.





ANEXO N° 1

**CUADROS DE RESULTADOS EN MILILITROS DADOS POR EL EQUIPO
PLETISMÓMETRO**

Cuadro N° 1

Resultados del grupo control “gel base” en mL

N° RATA	T0 (mL)	T1: 3 hrs (mL)	T2 : 5 hrs (mL)	T3 : 7 hrs (mL)	T4 : 9 hrs (mL)	T5: 15 hrs (mL)
1	0.83	1.65	1.64	1.63	1.61	1.56
2	0.85	1.60	1.60	1.58	1.57	1.53
3	0.80	1.56	1.55	1.55	1.53	1.49
4	0.84	1.67	1.66	1.65	1.63	1.58
5	0.82	1.66	1.66	1.64	1.63	1.59
6	0.81	1.62	1.61	1.60	1.58	1.54
7	0.82	1.57	1.56	1.56	1.54	1.49
8	0.84	1.68	1.67	1.65	1.65	1.60

Fuente: elaboración propia (Microsoft Excel 2010)

Cuadro N°2

Resultados del grupo experimental 1 (gel con extracto de *Gamochaeta americana*
“Queto Queto” al 5 %) en mL

N° RATA	T0 (mL)	T1: 3 hrs (mL)	T2: 5 hrs (mL)	T3: 7 hrs (mL)	T4: 9 hrs (mL)	T5: 15 hrs (mL)
1	0.83	1.63	1.56	1.48	1.43	1.32
2	0.86	1.66	1.58	1.51	1.44	1.34
3	0.81	1.64	1.56	1.50	1.43	1.34
4	0.83	1.65	1.59	1.52	1.43	1.32
5	0.80	1.59	1.52	1.46	1.39	1.29
6	0.82	1.62	1.56	1.50	1.41	1.30
7	0.87	1.68	1.59	1.54	1.48	1.37
8	0.84	1.66	1.60	1.52	1.46	1.34

Fuente: elaboración propia (Microsoft Excel 2010)

Cuadro N° 3

Resultados del grupo experimental 2 (gel con extracto de *Gamochaeta americana*
“Queto Queto” al 10 %) en mL

N° RATA	T0 (mL)	T1: 3 hrs (mL)	T2: 5 Hrs (mL)	T3: 7 Hrs (mL)	T4: 9 Hrs (mL)	T5: 15 hrs (mL)
1	0.86	1.62	1.48	1.37	1.22	0.99
2	0.80	1.47	1.32	1.25	1.13	0.92
3	0.85	1.66	1.50	1.38	1.22	1.00
4	0.89	1.62	1.49	1.36	1.24	1.05
5	0.87	1.66	1.50	1.40	1.26	1.00
6	0.84	1.64	1.49	1.38	1.22	0.99
7	0.80	1.50	1.37	1.26	1.14	0.92
8	0.82	1.58	1.43	1.32	1.18	0.96

Fuente: elaboración propia (Microsoft Excel 2010)

Cuadro N°4

Resultados del grupo experimental 3 (gel con extracto de *Gamochaeta americana*
“Queto Queto” al 20 %) en mL

N° RATA	T0 (mL)	T1: 3 hrs (mL)	T2 : 5 hrs (mL)	T3 : 7 hrs (mL)	T4 : 9 hrs (mL)	T5: 15 hrs (mL)
1	0.86	1.67	1.48	1.37	1.23	0.98
2	0.90	1.69	1.52	1.40	1.27	1.00
3	0.87	1.68	1.50	1.39	1.25	0.99
4	0.90	1.63	1.46	1.38	1.22	0.99
5	0.84	1.66	1.49	1.38	1.21	0.97
6	0.82	1.61	1.43	1.33	1.17	0.95
7	0.80	1.59	1.40	1.30	1.16	0.95
8	0.88	1.63	1.46	1.35	1.21	0.98

Fuente: elaboración propia (Microsoft Excel 2010)

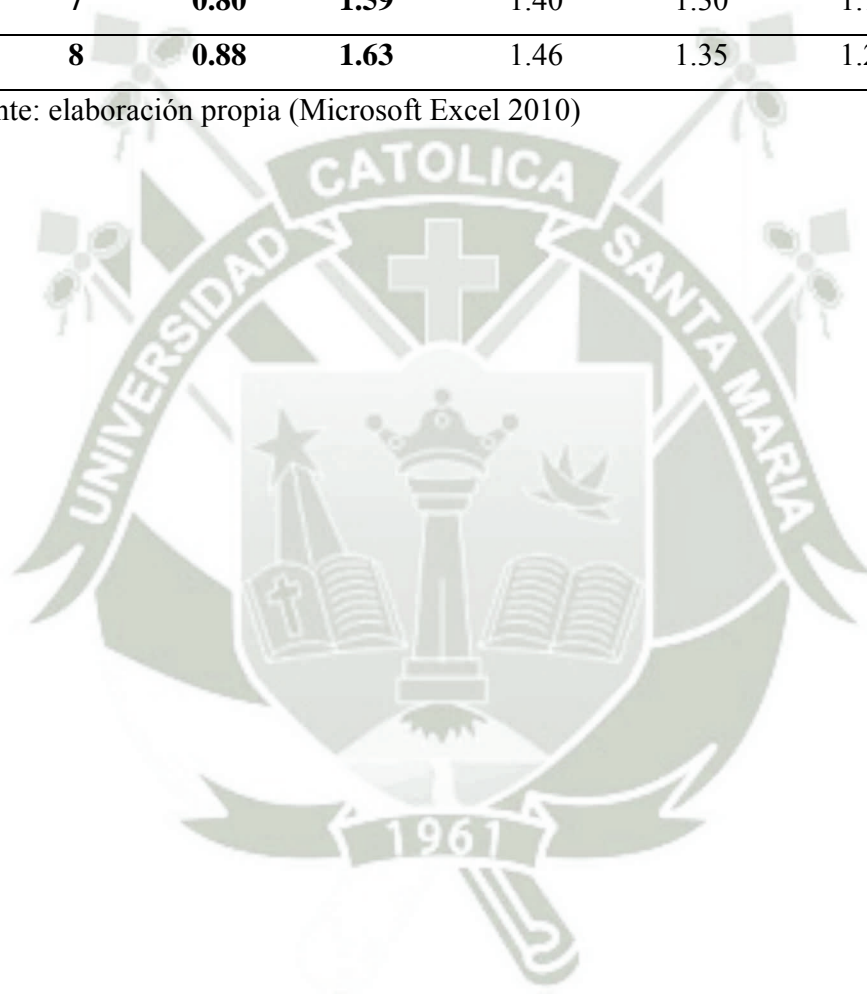
Cuadro N°5

Resumen de los grupos control y experimentales (gel con extracto de *Gamochaeta americana* “Queto Queto” en mL

	N° RATA	T0 (mL)	T1: 3 hrs (mL)	T2: 5 hrs (mL)	T3 : 7 hrs (mL)	T4 : 9 hrs (mL)	T5: 15 hrs (mL)
GEL BASE	1	0.83	1.65	1.64	1.63	1.61	1.56
	2	0.85	1.60	1.60	1.58	1.57	1.53
	3	0.80	1.56	1.55	1.55	1.53	1.49
	4	0.84	1.67	1.66	1.65	1.63	1.58
	5	0.82	1.66	1.66	1.64	1.63	1.59
	6	0.81	1.62	1.61	1.60	1.58	1.54
	7	0.82	1.57	1.56	1.56	1.54	1.49
	8	0.84	1.68	1.67	1.65	1.65	1.60
GEL EXTRACTO 5 %	1	0.83	1.63	1.56	1.48	1.43	1.32
	2	0.86	1.66	1.58	1.51	1.44	1.34
	3	0.81	1.64	1.56	1.50	1.43	1.34
	4	0.83	1.65	1.59	1.52	1.43	1.32
	5	0.80	1.59	1.52	1.46	1.39	1.29
	6	0.82	1.62	1.56	1.50	1.41	1.30
	7	0.87	1.68	1.59	1.54	1.48	1.37
	8	0.84	1.66	1.60	1.52	1.46	1.34
GEL EXTRACTO 10 %	1	0.86	1.62	1.48	1.37	1.22	0.99
	2	0.80	1.47	1.32	1.25	1.13	0.92
	3	0.85	1.66	1.50	1.38	1.22	1.00
	4	0.89	1.62	1.49	1.36	1.24	1.05
	5	0.87	1.66	1.50	1.40	1.26	1.00
	6	0.84	1.64	1.49	1.38	1.22	0.99
	7	0.80	1.50	1.37	1.26	1.14	0.92
	8	0.82	1.58	1.43	1.32	1.18	0.96

GEL EXTRACTO 20 %	1	0.86	1.67	1.48	1.37	1.23	0.98
	2	0.90	1.69	1.52	1.40	1.27	1.00
	3	0.87	1.68	1.50	1.39	1.25	0.99
	4	0.90	1.63	1.46	1.38	1.22	0.99
	5	0.84	1.66	1.49	1.38	1.21	0.97
	6	0.82	1.61	1.43	1.33	1.17	0.95
	7	0.80	1.59	1.40	1.30	1.16	0.95
	8	0.88	1.63	1.46	1.35	1.21	0.98

Fuente: elaboración propia (Microsoft Excel 2010)



ANEXO N° 2

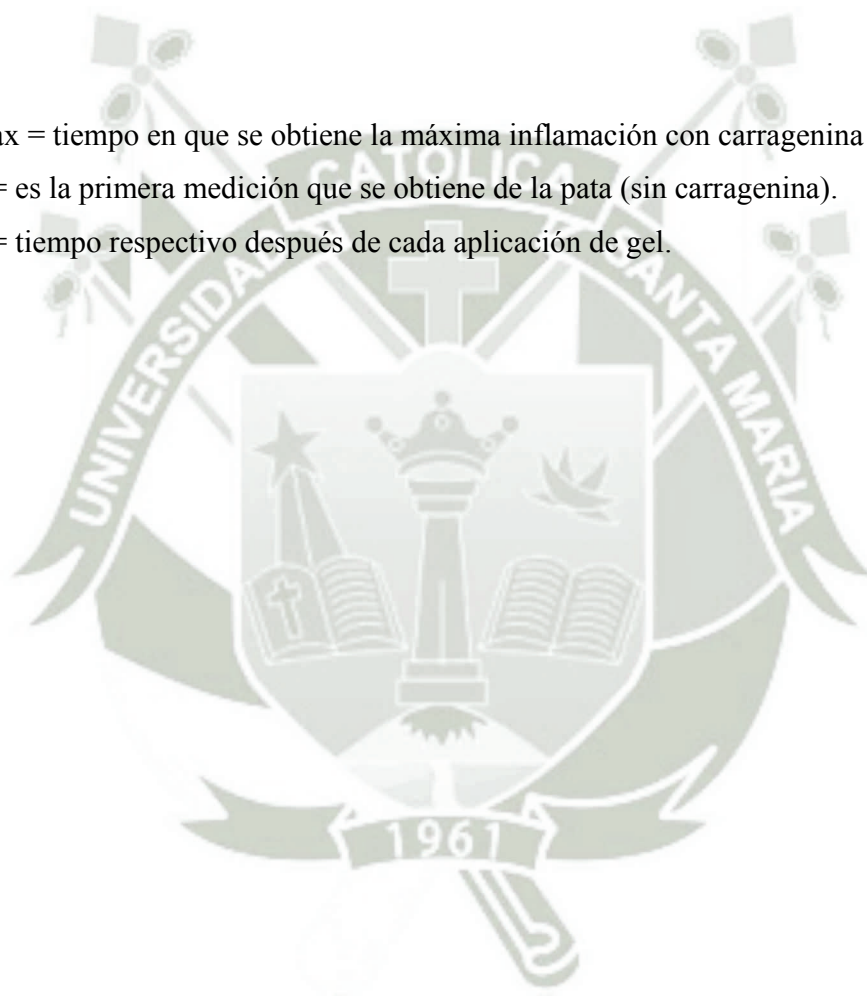
FÓRMULA PARA HALLAR EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{T_{\max} - T_x}{T_{\max} - T_0} \times 100$$

T_{max} = tiempo en que se obtiene la máxima inflamación con carragenina (3 horas).

T₀ = es la primera medición que se obtiene de la pata (sin carragenina).

T_x = tiempo respectivo después de cada aplicación de gel.



ANEXO N° 3

FORMULACIONES PARA EL GEL A BASE DE EXTRACTO DE QUETO QUETO

FORMULACIÓN N° 01

INGREDIENTES:

Extracto fluido de Queto Queto	10 mL
Carboximetilcelulosa	1 g
Propilenglicol	5 mL
Metilparabeno	0.1 g
Propilparabeno	0.05g
Agua destilada	c.s. 100 mL
Trietanolamina	c.s. pH 6.5

FORMULACIÓN N° 02

INGREDIENTES:

Extracto fluido de Queto Queto	10 mL
Carboximetilcelulosa	1 g
Propilenglicol	5 mL
Metilparabeno	0.1 g
Propilparabeno	0.05g
Alcohol comercial de 70°	c.s. 100 mL

Trietanolamina

c.s. pH 6.5

FORMULACIÓN N° 03

INGREDIENTES:

Extracto fluido de Queto Queto	10mL
Carbopol 940	2g
Propilenglicol	5mL
Metilparabeno	0.1g
Propilparabeno	0.05g
Agua destilada	c.s. 100 mL
Trietanolamina	c.s. pH 6.5

FORMULACION N° 04

INGREDIENTES:

Extracto fluido de Queto Queto	10mL
Carbopol 940	2g
Propilenglicol	5mL
Metilparabeno	0.1g
Propilparabeno	0.05g
Alcohol comercial de 70°	c.s. 100 mL
Trietanolamina	c.s. pH 6.5

ANEXO N° 4

OBTENCIÓN Y DESECACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Foto N° 1

Planta *Gamochaeta americana* (Queto Queto)



Foto N° 2

Desecado de material vegetal en la estufa a 50°C



Foto N° 3
Pulverización del material vegetal



ANEXO N° 5

EXTRACCIÓN Y CONCENTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS DE *Gamochaeta americana* (QUETO QUETO)

Foto N° 4

Humedecimiento de la planta pulverizada



Foto N° 5

Extracción por Percolación



Foto N° 6
Concentración por Rotavapor



ANEXO N° 6

**CROMATOGRAFÍA CAPA FINA DEL EXTRACTO DE *Gamochaeta Americana*
(QUETO QUETO)**

Foto N° 7

Sembrado en la placa de silica gel

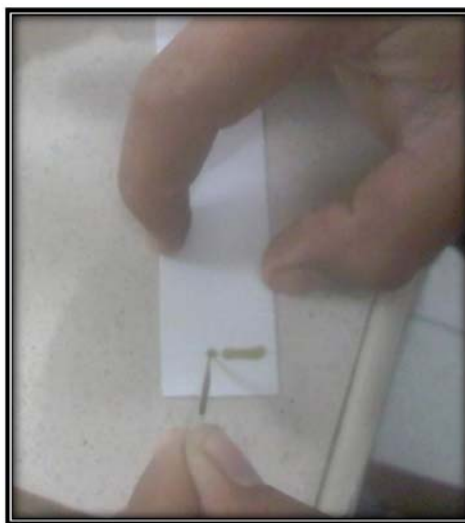


Foto N° 8

Elución de las muestras en la placa de silica gel



ANEXO N° 7

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO EN LOS ANIMALES
DE EXPERIMENTACIÓN**

Foto N° 10

Aplicación de carragenina en las ratas



Foto N° 11

Rata después de 3 horas de aplicada la carragenina

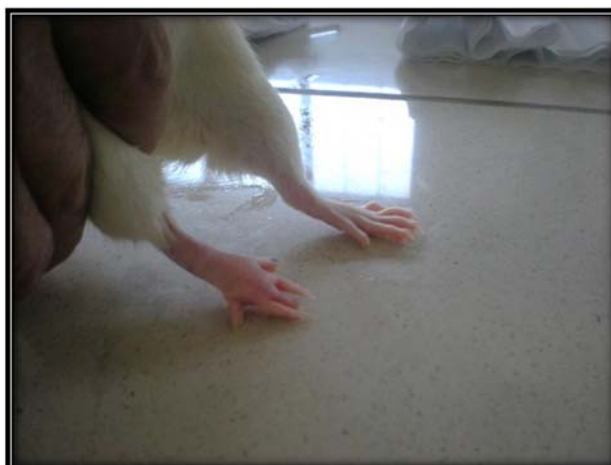


Foto N° 12

Medición de la pata en el Pletismómetro



Foto N° 13

Equipo Pletismómetro

