

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



**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA LOCAL
DEL EXTRACTO METANÓLICO, ETÉREO Y EL GEL DE LAS
HOJAS DE *BACCHARIS SCANDENS* (CHILCA) COMPARADOS
CON GEL DE DICLOFENACO EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACIÓN. AREQUIPA, 2013”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
PRESENTADO POR EL BACHILLER
EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA.
TORRES FLORES, VÍCTOR JORGE**

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

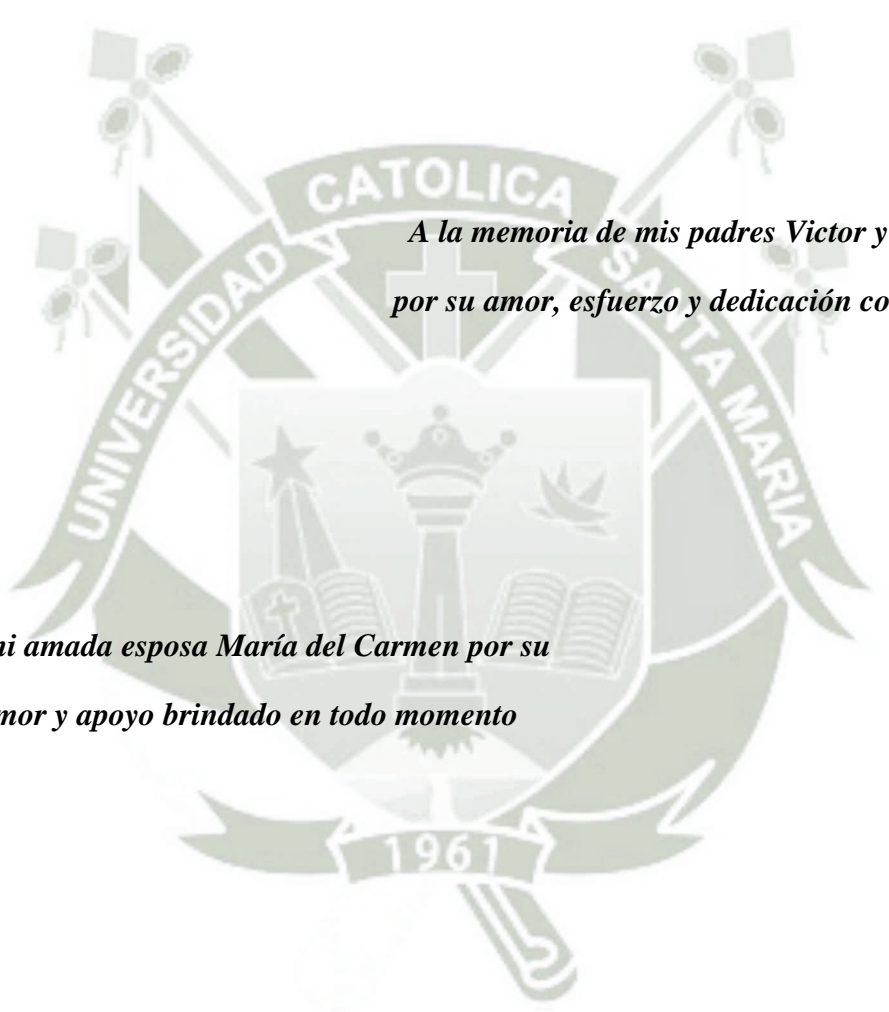
ASESORA:

**DRA. ROXANA GUTIÉRREZ
ARANIBAR**

AREQUIPA – 2013

DEDICATORIA

*A Dios por haberme permitido
el logro de mi profesión*



*A la memoria de mis padres Victor y Vilma
por su amor, esfuerzo y dedicación constantes*

*A mi amada esposa María del Carmen por su
amor y apoyo brindado en todo momento*

*A mis hermanos, en especial a Oscar por su
apoyo incondicional en el logro de mi profesión*

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	4
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
OBJETIVOS	8
HIPÓTESIS	9
CAPÍTULO I	10
MARCO TEÓRICO	10
1.1. CHILCA	10
1.1.1. NOMBRE CIENTÍFICO	10
1.1.2. NOMBRES VULGARES	10
1.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE <i>BACCHARIS SCANDENS</i> (CHILCA)	10
1.1.4. HÁBITAT	10
1.1.5. TAXONOMÍA VEGETAL	11
1.1.6. PROPIEDADES MEDICINALES	11
1.1.7. OTRAS PROPIEDADES Y USOS	12
1.1.8. CULTIVO	12
1.2. MANEJO DEL DOLOR	12
1.2.1. CONCEPTO	12
1.2.2. BASES ANATOMOFISIOLÓGICAS DE LA TRANSMISIÓN DEL DOLOR	14
1.3. DICLOFENACO	19
1.3.1. FORMAS FARMACÉUTICAS	19
1.3.2. FARMACOCINÉTICA	19
1.3.3. FARMACODINAMIA	20
1.3.4. INDICACIONES	20

1.3.5. POSOLOGÍA	20
1.3.6. RAMS	21
1.3.7. INTERACCIONES	21
1.4. GELES	21
1.4.1. DEFINICIÓN	21
1.4.2. TIPOS DE GELES	21
1.4.3. COMPONENTES	22
1.4.4. ELABORACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO	24
1.4.5. INCORPORACIÓN DE ACTIVOS	25
CAPÍTULO II	27
MATERIALES Y MÉTODOS	27
2.1. ÁMBITOS GEOGRÁFICOS DE ESTUDIO	27
2.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN	27
2.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	27
2.4. MATERIALES	28
2.4.1. MATERIAL DE ESTUDIO	28
2.4.2. MATERIAL BIOLÓGICO	28
2.4.3. MATERIAL DE VIDRIO	28
2.4.4. EQUIPOS	29
2.4.5. REACTIVOS	29
2.4.6. MATERIAL ANEXO	30
2.5. MÉTODOS	30
2.5.1. RECOLECCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LA PLANTA MEDICINAL	31
2.5.2. MÉTODOS UTILIZADOS EN LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS	33
2.5.3. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR POR TLC	37
2.5.4. FORMULACIÓN DE UN GEL CON CARBOPOL 940	38
2.5.5. MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANALGÉSICA DE LAS HOJAS DE CHILCA	41
CAPÍTULO III	46

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
3.1. DE LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	46
3.2. DE LA CROMATOGRAFÍA	48
3.3. DE LA ELABORACIÓN DE LOS GELES	52
3.3.1. ELABORACIÓN DEL HIDROGEL	54
3.3.2. ELABORACIÓN DEL CREMIGEL	56
3.4. DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA	58
3.4.1. MODELO ELÉCTRICO	58
3.4.2. MODELO TÉRMICO	70
CONCLUSIONES	85
SUGERENCIAS	85
BIBLIOGRAFÍA	86
ANEXOS	90

RESUMEN

La evaluación de la actividad analgésica del extracto metanólico, etéreo y gel de cada uno de ellos, preparado a partir de hojas de *Baccharis scandens* (chilca) comparados con gel de diclofenaco en animales de experimentación, constituye el objetivo central del presente estudio.

Luego de recolectar las hojas de chilca en la localidad de Chiguata, éstas fueron tratadas hasta lograr un polvo fino para la obtención del extracto etéreo. Un segundo extracto fue obtenido por maceración, con las hojas seleccionadas y cortadas de chilca y concentrado con equipo rotavapor.

Obtenidos los extractos se efectuó la determinación de la marcha fitoquímica preliminar cualitativa, mediante cromatografía en capa fina (TLC), en el cual ambos extractos se mostraron ricos en compuestos terpénicos, el extracto metanólico evidenció la presencia de taninos, siendo los flavonoides mayor en el extracto metanólico, y en el extracto etéreo se apreció mayor presencia de saponinas.

Fueron formuladas dos formas farmacéuticas, un hidrogel con extracto metanólico al 20% y un cremigel con extracto etéreo al 20%.

Se evaluó la actividad analgésica a través de dos modelos experimentales en ratas de experimentación: el modelo térmico y el modelo eléctrico, aplicando un estímulo doloroso mediante inmersión de la cola del animal en agua caliente (55°C) y una malla eléctrica a un umbral de 8 respectivamente.

Con el fin de determinar la actividad analgésica, el diseño experimental consistió en aplicar cuatro tipos de tratamiento: extracto etéreo, cremigel con extracto etéreo, extracto metanólico e hidrogel con extracto metanólico. Estos se compararon con un grupo control y un grupo al que se le administró un gel de diclofenaco. Las mediciones de ambos modelos se hicieron a los 30, 60, 120 y 180 minutos después de aplicar los tratamientos.

Los resultados revelaron que al aplicar el método eléctrico para la determinación de la actividad analgésica, tanto los dos extractos (etéreo y metanólico) así como sus formas farmacéuticas no fueron eficaces, ya que su actividad analgésica tras el análisis de

varianza y test de Tukey es comparable a un nivel $\alpha=0.05$ con el grupo control, en cambio, tras la evaluación mediante el modelo térmico sólo el cremigel con extracto etéreo mostro eficacia a un nivel $\alpha= 0.05$ comparable con el gel de diclofenaco a los 60, 120 y 180 minutos; siendo la actividad analgésica discreta para el extracto etéreo puro. La administración del extracto metanólico y su respectivo hidrogel al 20% no mostraron ninguna actividad analgésica mediante este modelo experimental.



ABSTRACT

The evaluation of the analgesic activity of the methanol extract, ethereal and gel each, prepared from leaves of *Baccharis scandens* (ragwort) compared with diclofenac gel in experimental animals, is the focus of the present study.

After collecting ragwort leaves the town of Chiguata, they were treated to a fine powder for obtaining ether extract. A second extract was obtained by maceration with selected and cut leaves of ragwort and concentrated with rotary equipment.

Obtained extracts were made to determine the phytochemical preliminary qualitative thin layer chromatography (TLC), which were both extracts rich terpene compounds, the methanol extract showed the presence of tannins, flavonoids being greater in the methanol extract, and ether extract presented greater presence of saponins.

Two dosage forms were formulated, a hydrogel with 20% methanol extract and cremigel with 20% ether extract.

The analgesic activity was evaluated by two experimental models in rats, the thermal model and electrical model, applying a painful stimulus by immersing the tail in warm water (55 ° C) and a threshold electric mesh of 8 respectively.

For this to determine the analgesic activity, the experimental design consisted of applying four types of treatment: ether extract, cremigel with ether extract, methanol extract and methanol extract hydrogel. These were compared with a control group and a group that was administered a gel of diclofenac. Measurements were made both models 30, 60, 120 and 180 minutes after application of treatments.

The results revealed that applying electrical method for the determination of the analgesic activity, both the two extracts (ether and methanol) and its dosage forms were not effective, since its antipyretic activity after analysis of variance and Tukey's test comparable to a level $\alpha = 0.05$ to the control group, however, after evaluation by the thermal model with only cremigel ether extract showed efficacy at $\alpha = 0.05$ level comparable with diclofenac gel at 60, 120 and 180 minutes; being discreet analgesic activity for the pure ether extract. Methanol extract administration and the respective 20% hydrogel showed no analgesic activity through this experimental model.

INTRODUCCIÓN

El dolor es el primer síntoma de una enfermedad, es una sensación subjetiva que consta de por lo menos de dos elementos: irritación local (estimulación de los nervios periféricos) y reconocimiento de dolor (dentro del SNC). Las terminaciones nerviosas libres que se conocen como nociceptores, se localizan en la piel, articulaciones musculares, los huesos y las vísceras, y responden a la lesión del tejido.

El tratamiento adecuado del dolor dependerá del tipo y duración del mismo. El dolor nociceptivo solo puede ocurrir cuando todo el equipo neural (células nerviosas, terminaciones nerviosas, médula espinal y cerebro) está funcionando en forma adecuada. Cuando el dolor es resultado de señales anormales o nervios dañados por compresión, infección (HIV, herpes zoster), amputación o diabetes, se conoce como dolor neuropático.

Al margen del tipo de dolor, la población ante una señal dolorosa no solo recurre a fármacos que lo alivien sino también a otros recursos entre ellos las plantas medicinales, uno de estos recursos curativos es la chilca, un arbusto erecto resinoso de hasta 2 metros de alto ⁽⁷⁾, que crece en nuestro medio desde una altura de 900 a 3900 msnm, pertenece a la familia de las asteráceas, la población considera a esta planta como medicinal y le atribuyen muchos efectos a sus hojas y raíces; como antitusivo, hemostático, cicatrizante, antiinflamatorio para el tratamiento de heridas y sobre todo con fines analgésicos. ⁽⁴⁴⁾

No se han encontrado trabajos de investigación disponibles que evalúen dicho efecto, de allí que mediante el presente estudio se tenga como objetivo principal evaluar la actividad analgésica de los extractos de las hojas (metanólico y etéreo) y las formas farmacéuticas que contienen dichos extractos (hidrogel y cremigel respectivamente).

OBJETIVOS

- Obtener los extractos metanólico y etéreo a partir de las hojas de *Baccharis scandens* (chilca).
- Determinar los metabolitos secundarios presentes, en las formas extractivas de las hojas de *Baccharis scandens* (chilca) mediante cromatografía en capa fina.
- Obtener una forma de dosificación en gel con los extractos metanólico y etéreo de las hojas de *Baccharis scandens* (chilca).
- Evaluar la actividad analgésica de las formas extractivas y de dosificación (gel) a través de dos modelos experimentales en animales de laboratorio.
- Comparar la eficacia de las formas extractivas y de dosificación (gel) de las hojas de *Baccharis scandens* (chilca) frente al gel de diclofenaco.

HIPÓTESIS

Dado que la medicina tradicional al *Baccharis scandens* (chilca) le atribuye actividad analgésica es probable que las formas extractivas y de dosificación (gel) de las hojas de *Baccharis scandens* (chilca) muestren actividad analgésica local a través de modelos experimentales en animales de laboratorio, comparable con un gel de diclofenaco.



CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. CHILCA

1.1.1.Nombre científico

Baccharis sp.

1.1.2.Nombres vulgares

Chichillca, chilca, chilco. ^(7, 44)

1.1.3.Descripción botánica de *Baccharis scandens* (chilca)

Arbusto de hasta 2 m de alto, muy ramificado. Hojas alternas, oblongo-lanceoladas verdes de consistencia coriácea, resinosa con borde aserrado y nervaduras pronunciadas. Inflorescencia en capítulos terminales. Fruto en forma de aquenio. ⁽⁴⁴⁾

(FIGURA Nro 1).

1.1.4.Hábitat

Se le encuentra en los bordes de los caminos; como cerco de jardines; cultivos y en quebradas. Es muy rústico y con alta tolerancia a suelos pobres y difíciles, se adapta prácticamente a cualquier textura y tolera muy bien la alta pedregosidad y las sequías. Crece entre 900 a 3900 metros de altitud. ⁽⁴⁴⁾

1.1.5. Taxonomía vegetal

- Reino: Vegetal
- Tipo: Fanerógamas
- Subtipo: Angiospermas
- Clase: Dicotiledónea
- Subclase: Astéridas
- Orden: Asterales
- Familia: Asteráceas
- Género: *Baccharis* ⁽³⁴⁾



FIGURA Nro 1. Chilca (*Baccharis sp*)

Fuente: Elaboración propia

1.1.6. Propiedades medicinales

Hemostático (hemorragias nasales), analgésico antiinflamatorio, (para luxaciones, fracturas, golpes en general, dolor de cabeza), cicatrizante.

Además, se le atribuyen propiedades antidiabéticas y antirreumáticas. ⁽⁴⁴⁾

Las formas de administración consisten en:

Tomar la infusión de las hojas como antirreumático. Las hojas tostadas y con aguardiente y también tomando la infusión de las hojas, con fines analgésicos. La aplicación del emplasto con la pasta de las hojas machacadas, para el tratamiento de fracturas. ⁽⁴⁴⁾

1.1.7. Otras propiedades y usos

En la medicina andina, la planta junto con otras plantas se prepara emplastos para las fracturas, dislocaduras y golpes. Muchas madres de familia en el campo usan las hojas tiernas (cogollos) para limpiar las grietas (rajaduras) de la cara de sus hijos. ⁽³⁴⁾

La planta entera es un buen combustible por la presencia de resinas en sus hojas y también forma parte de cercos vivos de cultivos y viviendas. Por otro lado, sus hojas y ramas tiernas constituyen un colorante natural verde. ^(7, 44, 45)

1.1.8. Cultivo

No se practica su cultivo. ^(7, 44)

1.2. MANEJO DEL DOLOR

1.2.1. Concepto

El dolor es la causa más frecuente por la que los pacientes acuden al médico, y su alivio debería ser una de las principales razones de la medicina. Sin embargo, en general los médicos desconocen el significado del síntoma dolor y cómo tratarlo eficazmente para que el paciente recupere el control sobre todas las actividades de su vida. La epidemia de dolor crónico que sufren los países occidentales desarrollados indica que hay factores externos al propio cuerpo del paciente que intervienen en la

producción del síntoma dolor y en la manera en que la medicina debe afrontarlo.
(11)

El dolor ha sido definido como una sensación y una experiencia emocional desagradable causadas por una lesión tisular presente o potencial o descrita por el paciente en términos de lesión tisular, aun en ausencia de ésta. ⁽¹¹⁾

Actualmente se sabe que el dolor es más que una respuesta ante una lesión corporal. Al hablar de dolor hay que distinguir los términos que se describen a continuación.

Nocicepción. Detección de la lesión tisular causada por energía térmica, mecánica o química transmitida al SNC por elementos específicos del tejido que emiten la información mediante fibras A-delta y C, conectadas a axones específicos que llegan a la médula espinal y al tronco cerebral. ^(11, 13)

Dolor. Percepción del estímulo nocivo cuando la información nociceptiva llega al SNC, pero también puede aparecer cuando una lesión en el SNC produce una alteración en la transmisión aferente o en el procesamiento central, es decir, dolor sin nocicepción. Del mismo modo, la nocicepción de estímulos dolorosos puede no producir dolor; ésta es la principal función de la anestesia quirúrgica. El dolor es un fenómeno central mucho más complejo que la nocicepción y carece de especificidad de neuronas; puede estar influido por procesos nerviosos no relacionados con la nocicepción. ⁽¹¹⁾

Sufrimiento. Respuesta afectiva negativa generada en centros superiores, especialmente en los lóbulos límbicos, por el dolor o por otros estados afectivos como la depresión, el miedo, el aislamiento o la ansiedad, es decir, por factores que amenazan la integridad física o psicológica de la persona. Los términos con que el paciente describe el sufrimiento por dolor son comunes a todas estas formas de agresión.

Comportamiento por dolor. Modo en que el paciente actúa ante la lesión tisular. Es la expresión del sufrimiento, y está siempre influido por el ambiente. Son ejemplos hablar sobre el dolor, las muecas, los gemidos, el uso de analgésicos, acudir al médico o tratar de obtener compensaciones económicas. Es un comportamiento del enfermo que siempre refleja más que la simple lesión tisular.

En cada queja de dolor debe valorarse el papel de estos cuatro componentes, que varía de un paciente a otro y cambia en el tiempo para un mismo paciente. Es indispensable que el médico considere que: a) el dolor es una enfermedad en sí misma; b) si no se trata, suele llevar a la desintegración psicológica del paciente; c) todo dolor es real, y d) cuestionar la veracidad del dolor destruye la relación médico-paciente. ⁽¹¹⁾

1.2.2. Bases Anatomofisiológicas de la transmisión del Dolor

1.2.2.1 Transducción

Proceso por el que los estímulos nocivos son convertidos en un potencial de acción a nivel de nociceptores, cuya principal función es la de poder diferenciar entre un estímulo inocuo y otro potencialmente nocivo. Se trata de terminaciones periféricas aferentes sensoriales primarias (neuronas bipolares). El umbral de dolor de estos receptores no es constante y depende del tejido donde se encuentren. ^(11, 16)

Se dividen según el estímulo que provoca su respuesta (mecánica, térmica o química) y las características de la respuesta. Los nociceptores de las fibras A-delta, que están mielinizadas y tienen una conducción rápida, detectan los estímulos dolorosos térmicos y mecánicos intensos y están implicados en la transmisión del dolor agudo; las fibras sensitivas C, más numerosas, son amielínicas, tienen una conducción lenta y responden a gran variedad de estímulos nocivos: mecánicos, térmicos y químicos. Estos últimos pueden ser provocados por innumerables sustancias (bradicinina, hidrogeniones, serotonina, histamina, ácido araquidónico) relacionadas con la inflamación (PGE₂, leucotrieno B₄, purinas, ino laminas, los péptidos sustancia P y bradicinina). Por ello, a los nociceptores C se los denomina polimodales y están relacionados con la producción del dolor crónico. Cualquier estímulo nocivo libera sustancias tisulares que afectan a los nociceptores, bien estimulándolos, bien modulando la estimulación por otros factores.

Los nociceptores se distribuyen en la mayoría de los tejidos y órganos, y en cada uno de ellos codifican el estímulo de forma diferente. Así, los nociceptores musculares y

viscerales se diferencian de los receptores cutáneos en el tipo y la intensidad de los estímulos, y también en sus respuestas. ^(11, 16)

1.2.2.2 Transmisión

La señal de los nociceptores se transmite por los nervios periféricos aferentes a la médula espinal (o por los nervios craneales en el caso de la cabeza); los estímulos aferentes viscerales discurren con las fibras simpáticas y parasimpáticas. Los cuerpos neuronales de estas aferencias están localizados en el ganglio raquídeo dorsal o en los ganglios no autónomos de los pares craneales. Existen numerosos moduladores en el ganglio raquídeo dorsal, por ejemplo, numerosos receptores de opioides que también existen en el asta posterior de la médula. ^(11, 16)

En el asta posterior de la médula espinal se realiza la primera sinapsis de las neuronas del ganglio raquídeo dorsal; es el primer eslabón de conexión del SNC: allí se filtra y se elabora la información antes de ser transmitida a centros superiores (también puede ser inhibida por sistemas descendentes), y se integran y elaboran las respuestas reflejas vegetativas y somatomotoras. Probablemente es la estructura más interesante y más manipulable mediante el tratamiento en la génesis de un dolor complejo como es el crónico. El 30% de la aferencia amielínica total que recibe el asta dorsal es nociceptiva. El 15-30% de las fibras realizan la sinapsis en el asta anterior. Además, las neuronas del asta posterior pueden presentar diferentes estados según las estimulaciones aferentes nociceptoras previas. Esta propiedad se ha denominado plasticidad neuronal o sensibilización central y se cree que contribuye a las alteraciones sensoriales que aparecen como consecuencia de lesiones periféricas. ^(11, 16)

El 80% de las fibras nociceptoras A-delta y C entran en la médula por el tracto de Lissauer, donde atraviesan algunos segmentos medulares hasta introducirse en la sustancia gris del asta posterior. El esquema histológico de Rexed divide la médula espinal en capas o láminas longitudinales; en el asta posterior se encuentran las láminas I a VI. Las fibras aferentes nociceptoras somáticas y viscerales realizan sinapsis en varias láminas, pero sobre todo en la I o capa marginal, en la II o sustancia gelatinosa

de Rolando y en la V; las aferentes viscerales también pueden llevar a cabo sinapsis en otras capas. ^(11, 14)

En el asta posterior hay dos tipos de neuronas de proyección: las que responden sólo a un tipo específico de estímulo nocivo, que abundan en la lámina I y que tienen un campo receptivo pequeño, y las inespecíficas, que responden a un amplio abanico de estímulos con grandes campos receptivos; estas últimas son las más abundantes en la médula y están en todas las capas, predominantemente en la V. ^(11, 14)

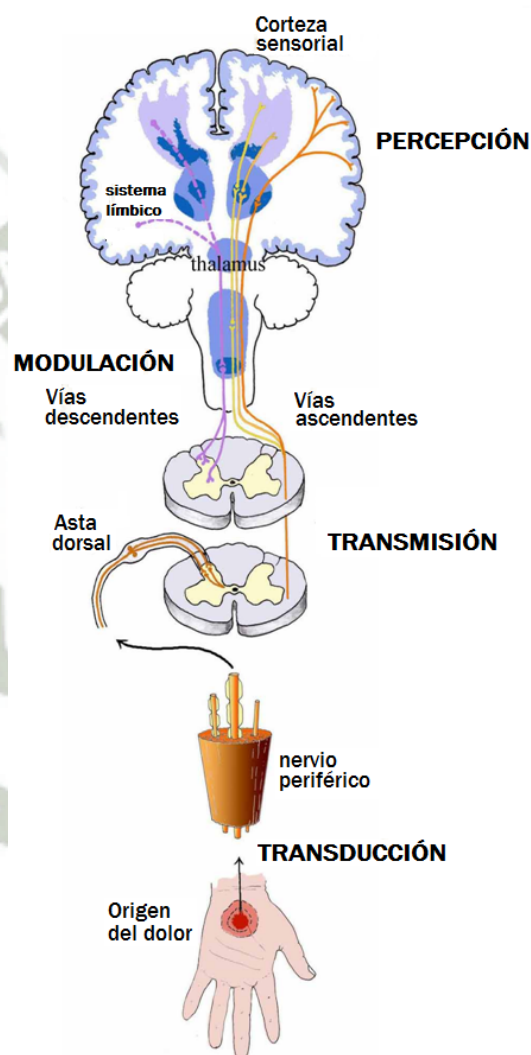


FIGURA Nro 2. Fases de la transmisión del dolor

Fuente: Elaboración propia

A partir del sistema medular el dolor es conducido por las vías ascendentes nociceptivas, que presentan trayectos e interconexiones complejos. De manera muy

simplificada, el tracto espinotalámico se origina en las láminas I, IV, V, VI y IX de Rexed y transmite el dolor agudo; está muy especializado, pues su fascículo lateral transmite la información nociceptiva, y el ventral, la sensibilidad táctil discriminativa. En el mesencéfalo el fascículo lateral se diferencia en paleospinotalámico, que proporciona la percepción del dolor difuso, y neospinotalámico, asociado a la percepción del dolor agudo. ⁽¹⁴⁾

El tracto espinoreticular procede de las neuronas de las láminas VII, VIII y, en menor proporción, de la I y la V y transmite el dolor difuso crónico; tiene gran importancia en el componente afectivo del dolor. El tracto espinomesencefálico se origina en la lámina I y es responsable de la respuesta motora orientada hacia el origen del dolor. Los mecanorreceptores cutáneos A delta realizan sinapsis en las láminas I, II y V; los viscerales A delta en las láminas I y V; los nociceptores cutáneos C en las láminas I y II, y los viscerales C en varias láminas (I, II, IV, V y X). ^(11, 14)

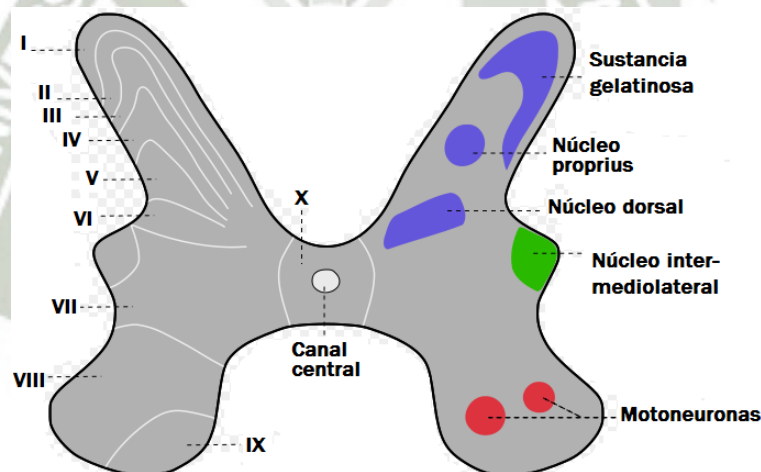


FIGURA Nro 3. Esquema histológico de Rexed
Fuente: Elaboración propia

1.2.2.3 Percepción

La integración central superior de la información conducida por dichas vías es muy compleja. El componente discriminativo cortical, el afectivo límbico, el de la memoria de la ínsula y el del control motor tienen como paso previo el procesamiento de toda la información en el tálamo. ⁽¹⁴⁾

1.2.2.4 Modulación

La modulación representa los cambios que ocurren en el sistema nervioso en respuesta a un estímulo nociceptivo, el mismo permite que la señal nociceptiva recibida en el asta dorsal de la médula espinal sea selectivamente inhibida, de manera que la señal que llega a los centros superiores es modificada. ^(10, 14)

Diversos “sistemas inhibitorios” tienen la capacidad de disminuir la liberación de transmisores excitatorios y la excitabilidad neuronal. Los sistemas mejor conocidos se describen a continuación, todos estos se activan a la vez por el estímulo doloroso y parecen actuar sinérgicamente con el sistema excitatorio. Estos sistemas se agrupan en función a la intensidad del estímulo. ⁽¹⁴⁾

1.2.2.4.1 *Inhibición de estímulos de alta intensidad*

- **Serotonina:** es el neurotransmisor más importante de las vías descendentes inhibitorias. La serotonina induce una antinocicepción difusa y poco localizada, aunque dependiendo del tipo de estímulo y del área estimulada, pueden desencadenarse respuestas de tipo excitatorio. Por esta razón, los intentos analgésicos con agonistas serotoninérgicos suelen tener escasa eficacia. ⁽¹⁴⁾
- **Noradrenalina:** su acción antinociceptiva a nivel espinal es mediada por receptores α -1 y α -2.
- **Péptidos opioides:** los opioides endógenos activan a las vías descendentes inhibitorias y producen antinocicepción a nivel espinal y supraespinal.
- **Acetilcolina:** aumenta la latencia de los estímulos dolorosos a través de la activación de sus receptores muscarínicos. ⁽¹⁴⁾

1.2.2.4.2 *Inhibición de estímulos de baja intensidad*

- **GABA:** actúa sobre receptores postinápticos de tipos GABA_A y GABA_B, provocando una hiperpolarización de la membrana que disminuye la liberación de NT excitatorios especialmente glutamato. ⁽¹⁶⁾

1.3. DICLOFENACO

Este fármaco es de frecuente prescripción y automedicación, siendo su eficacia comparable a los arilpropiónicos o profenos.

1.3.1. Formas farmacéuticas

- Tabletas de 50 a 100 mg.
- Suspensión oral en gotas 15 mg/mL.
- Solución inyectable en ampollas de 75 mg/3mL.
- Solución oftálmica al 0.1%.
- En aerosol farmacéutico tópico (diclofenaco dietilamida).
- Gel tópico al 1 y 2%.
- Parches dérmicos.

1.3.2. Farmacocinética

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

reacciones de hidroxilación, metoxilación y conjugación; y es excretado en la orina (65%) y bilis (35%).⁽¹⁷⁾

1.3.3.Farmacodinamia

El diclofenaco posee actividad antiinflamatoria, antipirética, analgésica potente, es uricosúrico y es débilmente antiagregante plaquetario. Es un inhibidor de la ciclooxigenasa y su potencia es mayor que la de la indometacina, el naproxeno y otros fármacos. Además, disminuye las concentraciones intracelulares de ácido araquidónico libre, en leucocitos, tal vez al modificar la liberación o captación de dicho ácido graso.⁽¹⁷⁾

1.3.4.Indicaciones

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

Puede ser útil también por breves lapsos en lesiones musculoesqueléticas agudas, hombro con dolor agudo, dolor postoperatorio, cólico renal y dismenorrea. En los niños (a partir de un año) solo se puede utilizar las soluciones orales y los comprimidos de 50 mg. A nivel ocular está indicado en la inflamación postoperatoria⁽²⁶⁾.

1.3.5.Posología

Enfermedades articulares:

- De 100-200 mg cada 6 o cada 12 horas, para luego disminuir la dosis paulatinamente.⁽⁴⁾

Procesos dolorosos o inflamatorios no reumáticos, fiebre y dismenorrea.

- Dosis de 50 mg cada 8 horas (también se puede administrar como dosis inicial 100 mg). El periodo de tratamiento del dolor no debe superar los 5 días y para la fiebre 3 días.⁽⁴⁾

Dolor intenso, cólico renal

- Una ampolla diaria (no más de dos días). Puede combinarse con la vía oral, pero no más de 150 mg diarios. ⁽⁴⁾

Inflamación postoperatoria ocular

- 1 gota cada 8 horas. ⁽⁴⁾

1.3.6.Rams

El diclofenaco produce reacciones adversas similares a los profenos. Puede alterar temporalmente la función hepática. Se ha detectado casos de anemia aplásica. ⁽²¹⁾

1.3.7.Interacciones

No se recomienda la administración de otro AINE con el diclofenaco, ya que se alteran los perfiles farmacocinéticos además de incrementarse el riesgo de hemorragias. ⁽²⁶⁾

1.4. GELES

1.4.1.Definición

Los geles son sistemas dispersos, por lo general transparentes o traslúcidos, formados por líquidos (hidrófilos o hidrófobos) a los que se adicionan sustancias de naturaleza coloidal capaces de formar una estructura continua, cuya naturaleza y características definen las propiedades reológicas del conjunto.

Otro modo de definir los geles es a partir de su método de obtención; en este sentido, éstos se obtienen a partir de soluciones coloidales que por diferentes modificaciones en su entorno, adquieren una estructura ordenada tridimensional que se fija las partículas de soluto alrededor de las de coloide. ⁽⁵⁾

1.4.2.Tipos de geles

Existen diferentes criterios de clasificación de los geles, dependiendo de:

1.4.2.1 La polaridad

- Geles hidrófobos o lipogeles
- Geles hidrófilos, son los más comunes

1.4.2.2 La viscosidad

- Geles fluidos
- Geles sólidos
- Geles semisólidos ⁽⁵⁾

1.4.3. Componentes

1.4.3.1 Agente gelificante

Suelen ser sustancias poliméricas orgánicas capaces de formar estructuras tridimensionales en medio líquido. En la mayoría de los casos dicha estructuración comporta la solvatación por parte de una serie de moléculas del solvente (habitualmente agua o soluciones hidroalcohólicas).

A nivel de formulación, los agentes gelificantes pueden dividirse en dos subtipos:

1.4.3.1.1 Polímeros pH dependientes

La formación del gel y consecución de las propiedades reológicas características del mismo dependen del pH del medio externo. ⁽⁵⁾

1.4.3.1.2 Polímeros no pH dependientes

La gelificación se produce con independencia del pH del medio externo (o cuando menos en un muy amplio intervalo de pH).

1.4.3.2 Agente neutralizante

Únicamente se incorpora a la formulación de geles pH dependientes. En la mayoría de los casos se trata de bases orgánicas o inorgánicas, tales como NaOH, trietanolamina o aminometilpropanol. La naturaleza de la base neutralizante puede influir en ocasiones en el tacto y en la transparencia del preparado. En líneas generales, cuanto más fuerte es la base, más rígidos y transparentes son los geles obtenidos; así mismo, en caso de que el medio externo sea hidroalcohólico, la base a emplear deberá ser una amina, a diferencia de cuando el medio externo integra propilenglicol.

En cuanto a la cantidad de base requerida, esta debe incorporarse a la dispersión gelificante, determinando en continuo el pH, que adopta el preparado, hasta obtener aquel en el que se considera que la correlación entre la consistencia adquirida y el pH deseado (normalmente o más próximo posible al eudérmico) es la idónea. ⁽⁵⁾

1.4.3.3 Humectantes

La incorporación de polioles en proporción moderada (normalmente <10%p/p) dificulta la evaporación del agua del preparado durante la fase de reposición del mismo; asimismo evita su rápida desecación una vez aplicado sobre la piel, con la que contribuye a la acción hidratante que se espera de dicho tipo de formulaciones. Dichas

sustancias (glicerina, sorbitol, propilenglicol) mejoran así mismo la extensibilidad del preparado sobre la piel.

1.4.3.4 Otros componentes

La gran proporción de agua, así como el tipo de acondicionamiento, habitualmente multidosis, hace necesaria la inclusión de conservantes en dichas formulaciones. Otros componentes que pueden incluir los hidrogeles son colorantes, perfume, saborizantes/edulcorantes (geles dentríficos), activos de acción específica. La presencia de agentes complejantes (EDTA- Na_2) es necesaria en aquellos casos en los que se puedan formar por ejemplo complejos coloreados con alguno de los componentes de la formulación. El agua a emplear para la hidratación del agente gelificante deberá ser desionizada a fin de no incrementar innecesariamente la concentración de electrolitos del sistema, dado que estos, a determinadas concentraciones, pueden provocar la desestabilización física del sistema. ⁽⁵⁾

1.4.4. Elaboración y acondicionamiento

En principio la elaboración de formulaciones de hidrogeles es sencilla y no implica dificultad. A pequeña escala, su preparación requiere tiempo para garantizar la correcta imbibición del gelificante en el agua de la fórmula en la que previamente se habrán disuelto el resto de ingredientes hidrosolubles (humectantes, activos, etc). Si la viscosidad del gel no es elevada, el proceso puede acelerarse mediante el empleo de agitación mecánica energética; ello comportará la incorporación de aire en el preparado, que podrá eliminarse manteniendo el producto en reposo un tiempo más o menos prolongado, previo a su acondicionamiento en el envase definitivo.

En caso de disponer de agitador de turbina, el tiempo de imbibición es mínimo, si bien para evitar la incorporación de aire y por tanto la pérdida de una de sus principales características organolépticas, la transparencia, se deberá trabajar bajo vacío. Asimismo debe tenerse en consideración que tanto un tiempo de agitación demasiado

prolongado, como un exceso de energía aplicado (velocidad de giro del turboagitador excesiva), pueden conllevar escisiones en las cadenas del gelificante y, en consecuencia, la obtención de geles con propiedades organolépticas y reológicas considerablemente diferentes a las esperadas (más fluidos).

Existen también en el mercado hidrogeles concentrados, ya humectados y preparados para que el formulador los diluya en función de sus necesidades, y en los que incorpora activos, perfumes colorantes, etc. De acuerdo con su fórmula patrón. Hablamos entonces de bases para la elaboración de geles que pueden integrar además humectantes, conservantes, etc., que agilizan notablemente la formulación de este tipo de productos. Ejemplo de este tipo de bases lo constituyen el Hispagel y el Lubragel entre otros productos.

Estas bases pueden también incorporar en ocasiones pequeñas cantidades de emolientes y de tensioactivos, lo que las convierte realmente en unas bases autoemulgentes, aptas tanto para la formulación de cremigeles (por adición de una fase acuosa a la misma), como para la formulación de emulsiones (por adición a las mismas componentes acuosos y de emolientes y otro componentes oleosos). Ejemplo de este tipo de productos es el Sepigel y el Simulgel entre otros. ⁽⁵⁾

1.4.5. Incorporación de activos

- Activo soluble en el medio externo del gel (agua o soluciones hidroalcohólicas): la incorporación se realiza por disolución, previa a la incorporación a la fórmula del agente gelificante
- Activo insoluble en el medio externo del gel así como en otros solventes hidrófilos autorizados, pero soluble en aceite u otros emolientes; la incorporación se realiza disolviendo el activo o los activos en la mínima cantidad posible del emoliente escogido e incorporando dicha solución al gel previamente formado. Dicha praxis requiere que el gel tenga cierta viscosidad, y el producto formado constituye una nueva categoría de forma farmacéutica denominadas “cremigeles”, “geles crema”, “emulgeles” o “emulsiones libres de emulgente”.

- Si las características del activo no permiten ninguna de las anteriores opciones, deberemos recurrir a la incorporación directa del mismo en el gel previamente formado, quedando dichas sustancias en suspensión, homogéneamente repartidas en toda la masa de la fórmula. ⁽¹⁾



CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. ÁMBITOS GEOGRÁFICOS DE ESTUDIO

- Los procedimientos de tratamiento de la droga (chilca) y la obtención de los extractos se realizaron en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa.
- El análisis cromatográfico de los extractos se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad de la Universidad Católica de Santa María.
- La evaluación del efecto analgésico de los extractos de chilca se observó en animales de experimentación del Bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

2.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación es de tipo experimental, ya que se manipularan variables y existe un grupo control.

2.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño de la presente investigación corresponde al de varios grupos con post prueba y grupo control, tal como lo indica el cuadro siguiente:

Simbología	Nro Grupo	Nro Animales	Tratamiento experimental
<i>RG₁</i>	1	5	Extracto metanólico de chilca
<i>RG₂</i>	2	5	Gel con 20% de extracto metanólico de chilca
<i>RG₃</i>	3	5	Extracto etéreo de chilca
<i>RG₄</i>	4	5	Gel con 20% de extracto etéreo de chilca
<i>RG₅</i>	5	5	Gel con 1% de diclofenaco
<i>RG₆</i>	6	5	Control sin tratamiento

Fuente: Elaboración propia

2.4. MATERIALES

2.4.1. Material De Estudio

El material bajo estudio está constituido por las hojas de chilca, recolectada en Arequipa (Chiguata).

2.4.2. Material Biológico

Se trabajó con 30 ratas albinas machos de tres a cuatro meses de edad con un peso promedio de 205 g, adquiridas en el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

2.4.3. Material de Vidrio

- Capilares
- Pipetas
- Probetas

- Tubos de ensayo
- Varillas de agitación
- Vasos de precipitados

2.4.4. Equipos

- Balanza analítica portátil (Sartorius TE 214S)
- Balanza (Ohaus Scout Pro 200 g)
- Baño maría
- Equipo estimulador eléctrico (Palmer)
- Equipo rotavapor (Labconco)
- Equipo Soxhlet (Isolab Germany)
- Estufa (Memmert)
- Lámpara UV (Camag)

2.4.5. Reactivos

- Acetato de etilo (Merck, 99.5% de pureza)
- Ácido acético (J.T. Baker, 99.8% de pureza)
- Ácido fórmico (Loba Ckemie, 98.5% de pureza)
- Ácido sulfúrico (Merck, 95.97% de pureza)
- Agua destilada
- Carbopol 940 (Omnichem)
- Cloruro de aluminio (Riedel, 97% de pureza)
- Cloruro férrico (Nekinsa)
- Etanol (Alkofarma, 96% de pureza)

- Éter etílico (J.T. Baker, 98% de pureza)
- Metanol (Induquímica, Q.P.)
- Metilparabeno (Nekinsa)
- Propilparabeno (Nekinsa)
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Libermann Burchard
- Tolueno (J.T. Baker, 99% de pureza)
- Trietanolamina
- Vainillina
- Cetiol V

2.4.6. Material anexo

- Cromatofolios de sílica gel
- Espátulas
- Gel de diclofenaco al 1%
- Guantes
- Jaulas para ratas
- Mechero Bunsen
- Papel filtro
- Vasos de plástico
- Termómetro
- Mortero de porcelana
- Cronómetro

2.5. MÉTODOS

2.5.1. Recolección y acondicionamiento de la planta medicinal

2.5.1.1 Recolección

Se recolectaron ramas de chilca en el mes de agosto, en zonas agrestes del distrito de Chiguata perteneciente al Departamento de Arequipa. Estas ramas de chilca fueron recolectadas de especímenes maduros.



FIGURA Nro 4. Recolección de ramas de chilca

Fuente: Elaboración propia

2.5.1.2 Selección de las hojas

Las ramas fueron debidamente seleccionadas para su estabilización posterior, quedando sólo las hojas.



FIGURA Nro 5. Procedimiento de selección de las hojas de chilca

Fuente: Elaboración propia



FIGURA Nro 6. Hojas seleccionadas de chilca

Fuente: Elaboración propia

2.5.1.3 Estabilización

Las hojas de chilca son resinosas algo coriáceas, por lo que para la estabilización se prefirió una temperatura alta y durante un breve periodo. Las condiciones fueron 90°C, por 3 minutos, utilizando como equipo la estufa. ⁽²²⁾

2.5.1.4 Desección

Por el aspecto de la droga se desecó a 50°C durante 6 horas, utilizando como equipo la estufa.

2.5.1.5 Almacenamiento

Las hojas de chilca desecadas fueron almacenadas en bolsas de plástico cerradas herméticamente, las que se introdujeron en una bolsa de papel para evitar su exposición a la luz solar. Así fueron almacenadas hasta el momento de su trituración.



FIGURA Nro 7. Acondicionamiento de las hojas de chilca para almacenarlas

Fuente: Elaboración propia

2.5.1.6 Trituración

Sólo antes de ser utilizadas las hojas de chilca para la obtención del extracto se procedió a triturarlas utilizando para tal fin un mortero de porcelana. Se trituró hasta un grado fino.

2.5.2. Métodos utilizados en la obtención de extractos

2.5.2.1 Método de maceración para el extracto metanólico

2.5.2.1.1 Descripción del método

Es un procedimiento para extraer los principios activos de la droga discontinuo en frío, a temperatura ambiente (15-25°C); puede utilizarse cualquier tipo de disolvente. La droga antes de ser introducida al recipiente donde se va a macerar debe ser limpiada, cortada o machacada. Se coloca la cantidad de droga conveniente y se le agrega el disolvente. Se deja bien tapado durante períodos que pueden ir de 24 horas a 2 semanas, según sea necesario (considerando el grado de trituración, la droga, etc); se agita periódicamente la maceración para favorecer la extracción de los principios activos. Transcurrido el periodo de maceración exprimir el residuo mediante un lienzo limpio, el líquido así colado se debe filtrar mediante papel filtro. ⁽²⁰⁾

2.5.2.1.2 Modus operandi

En un recipiente adecuado se introdujo 20 g de hojas frescas cortadas de chilca, y se añadió 100 mL de alcohol metílico, se maceró por 8 días. Luego de este tiempo se exprimió y se filtró con papel filtro.

Luego de filtrar el macerado de chilca se concentró mediante equipo rotavapor hasta la tercera parte de la cantidad inicial.



FIGURA Nro 8. Concentración del extracto mediante rotavapor

2.5.2.2 Método de extracción por Soxhlet para el extracto etéreo

2.5.2.2.1 Descripción del método

Es un método de extracción continua en caliente que se basa en un sistema de reflujo que garantiza la provisión de disolvente puro. Para ello se requiere un extractor Soxhlet y una fuente de calor que permite la ebullición del disolvente. El mecanismo es el siguiente: ⁽²³⁾

- El disolvente contenido en el matraz es calentado para entrar en ebullición.
- Los vapores ascienden hasta llegar al condensador refrigerante donde vuelven a estado líquido.
- El disolvente en estado líquido cae desde el condensador hasta el cartucho poroso donde se encuentra la droga.
- El disolvente entra en contacto con la droga y se produce la difusión de principios activos desde la droga al disolvente.

- El cartucho se llena con el disolvente que llega desde el condensador hasta alcanzar el nivel de rebosamiento y por un conducto lateral (sifón) vuelve, cargado de principio activo, al matraz.
- El disolvente en el matraz vuelve a estado gaseoso y asciende nuevamente hasta el condensador dejando los principios activos en estado líquido en el matraz al tener mayor punto de ebullición.



FIGURA Nro 9. Extracción Soxhlet de hojas de chilca

2.5.2.2.2 *Modus operandi*

Se colocó aproximadamente 10 gramos del pulverizado de las hojas de chilca (*Baccharis scandens*) en una cápsula y se humedeció previamente con el disolvente que es éter, se pasó la droga humectada a un papel filtro y se envolvió, luego se colocó este sistema al cartucho de extracción; y se procedió a la extracción hasta agotamiento de la droga. Para la extracción se utilizaron 150ml de éter etílico.

Terminada la extracción con Soxhlet y considerando la naturaleza del disolvente es que se concentró mediante baño maría, hasta un volumen que resulte la tercera parte del volumen inicial.

2.5.3. Análisis fitoquímico preliminar por TLC

2.5.3.1 Fundamento de la cromatografía

La técnica fue desarrollada en 1903 por el botánico ruso Tsweett para separar mezclas de colorantes de origen vegetal. La cromatografía en capa fina es uno de los muchos tipos de cromatografía que existen y en la que se pone en contacto una fase estacionaria (papel, gel de sílice o alúmina) que actúa como soporte, con una fase móvil (disolvente o mezcla de disolventes). Dependiendo de la mayor o menor afinidad de los componentes de la mezcla a separar por el disolvente utilizado, cada componente se verá más o menos arrastrado y por tanto avanzará una mayor o menor distancia sobre la placa, respectivamente, dando como resultado una mancha a mayor o menor valor de R_f .⁽²⁹⁾

La mancha puede ser detectada bajo la luz UV como el caso de los terpenos presentes en los aceites esenciales que absorben luz ultravioleta a 254nm. Otra forma de detectar e identificar manchas es mediante el uso de reveladores, o sustancias que pulverizadas sobre el cromatograma desarrollan una coloración específica sobre alguna de las manchas, debido a que el revelador es una sustancia química que reacciona específicamente con algunos componentes, originando un color visible característico. El reactivo de Gibbs, ácido sulfúrico, vainillina. Son algunas sustancias que se pueden utilizar como reveladores.⁽²⁹⁾

2.5.3.2 Procedimiento

Con el objetivo de separar e identificar los componentes de los extractos de chilca se realizaron corridas cromatográficas en placas de sílica gel conforme al siguiente procedimiento:

- En primer lugar se preparó o cortó, placas de tamaño conveniente.
- Con la ayuda de un capilar de vidrio, se sembró en la parte inferior de la placa, a 1cm del borde inferior.
- Se introdujo la placa dentro de la cubeta para el desarrollo de la cromatografía. Dicho recipiente previamente presentó una atmósfera saturada del sistema de disolventes utilizados según el tipo de analito.
- Se cerró la cubeta con su tapa esmerilada, para dejar que la fase móvil recorra la placa.
- Se retiró la placa de la cubeta y se procedió a su secado.
- Finalmente se reveló la placa para poner en evidencia donde se encuentran las manchas de los analitos.

2.5.4. Formulación de un gel con carbopol 940

2.5.4.1 Características

El carbopol 940 es un polímero del ácido acrílico, de alto peso molecular y carácter aniónico. En solución acuosa, hidroalcohólica y con distintos solventes orgánicos (propilenglicol, glicerina, etc.) y neutralizado con hidróxidos alcalinos o con aminas da lugar a un gel transparente, brillante y no graso, que favorece la absorción de los principios activos incorporados. El carbopol en solución acuosa tiene un pH de 2,5 a 3,5, pero la estabilidad y viscosidad del gel es máxima a pH entre 6 y 11, reduciéndose considerablemente a pH menor de 3 o mayor de 12. De igual manera el gel no admite porcentajes mayores del 40% en alcohol de 96°.

En función del porcentaje de carbómero se incrementará la consistencia del gel (0,5% - 5%).⁽¹⁾

2.5.4.2 Activos comunes para formular con el gel de carbopol 940

Hidroquinona, ketoconazol, clotrimazol, metronidazol, hidrocortisona, tretinoína, peróxido de benzoilo, nicotinamida, isotretinoína, extractos glicólicos, extractos hidroalcohólicos, urea peróxido (medio anhidro), etc.

Normalmente se disuelven los principios activos en unas gotas de alcohol, glicerina, propilenglicol, metilidenglicol, etc. Y se incorporan al gel.

2.5.4.3 Incompatibilidades

Con sustancias catiónicas (sulfato de neomicina, clorhidrato de difenhidramina, clorhidrato de procaína, etc.), sustancias ácidas (Ac. Salicílico, Ac. Azelaico, Ac. Bórico, etc.) y electrolitos a altas concentraciones (sodio, calcio, aluminio, zinc, y magnesio).

2.5.4.4 Aplicaciones

Base óptima para vehicular agentes antiseborreicos, hidratantes y revitalizantes. Puede incorporarse a emulsiones, suspensiones y champús para aumentar su viscosidad. Así mismo protege la piel frente a grasas y disolventes orgánicos.

2.5.4.5 Observaciones

Las burbujas de aire que suelen aparecer no influyen ni galénica ni dermatológicamente. En caso de incorporar principios activos ácidos, para evitar la inestabilidad del gel se emplea un 60% de propilenglicol, la mitad para incorporar el ácido. No obstante es aconsejable utilizar geles celulósicos ya que tienen un rango de pH más amplio. La temperatura no afecta al gel, por lo que puede calentarse.

2.5.4.6 Conservación

En refrigeración y protegido de la luz, ya que las radiaciones U.V. puede afectar a la viscosidad. Para evitar la contaminación microbiana debe adicionarse conservantes (Parahidroxibenzoatos, Dowicil 200 ®,).

2.5.4.7 Fórmula patrón

Carbopol 940	1%
Propilenglicol	5%
Agua csp	100 g

2.5.4.8 Método general de elaboración

- Se mide el agua destilada y propilenglicol necesarios en un vaso de precipitados.
- Se añade la solución concentrada en hidroxibenzoatos ya elaborada según protocolo normalizado.
- Se dispersa el carbopol 940 sobre la mezcla anterior y se deja reposar durante 24 horas para que se desarrolle el gel.
- Transcurrido este tiempo realizamos una agitación enérgica en agitador (Silverson, etc.) y completamos la gelificación con la adición de la base (trietanolamina, solución de NaOH al 10%, etc.) hasta conseguir un pH entre 6-8.
- La sustancia activa se añadirá de acuerdo a su solubilidad o su naturaleza.



FIGURA Nro 10. Gel de carbopol 940

2.5.5. Método de determinación de actividad analgésica de las hojas de chilca

Para evaluar la actividad analgésica local de los extractos etéreo y metanólico de chilca se utilizaron dos métodos, el método térmico y eléctrico. En ambos casos se tuvo como referencia de comparación un gel de diclofenaco al 1%. Previamente a la descripción de ambos métodos se describirán algunos aspectos previos necesarios para la ejecución de la experimentación.

2.5.5.1 Estandarización de los animales de experimentación

Las ratas de laboratorio fueron sometidas previamente a condiciones similares de alimento y bebida. Se tomaron animales con pesos y edades que se ubiquen en los rangos de 200-300 gramos y 2-4 meses respectivamente, todas macho. Todo ello para disminuir la variabilidad biológica interindividual.

2.5.5.2 Prueba piloto Nro 1 para el modelo térmico

La primera prueba piloto fue para el método térmico, conforme al modelo de retirada de la cola, el objetivo fue determinar la sensibilidad en grados centígrados al estímulo térmico doloroso en los animales de experimentación. Se ensayó con tres temperaturas 50, 55 y 60°C; debiendo presentar una latencia para la retirada de la cola de aproximadamente de 10 segundos. Para cada temperatura se utilizaron 5 animales de experimentación.

2.5.5.3 Prueba piloto Nro 2 para el modelo eléctrico

La segunda prueba piloto fue para el método eléctrico, conforme al modelo de malla eléctrica, el objetivo fue determinar el umbral de tolerancia al dolor a un estímulo doloroso inducido por corriente eléctrica en la zona plantar de las ratas a través de una malla metálica. Se ensayó con tres umbrales al dolor 10, 8 y 7; debiendo presentar una latencia de 5 segundos. Para cada umbral del dolor se utilizó 5 animales de experimentación.

2.5.5.4 Dosificación

La dosificación se realizó conforme al diseño experimental aplicando los tratamientos consistentes en los extractos de chilca (metanólico y etéreo) sumergiendo las patas o la cola de las ratas (según el modelo) en un recipiente que contiene dichos extractos. Los tratamientos consistentes en geles (con extracto metanólico, etéreo y de diclofenaco) se administró con la ayuda de un hisopo aplicando una generosa cantidad.

2.5.5.5 Modelo térmico

El test de inducción de dolor mediante agua caliente en cola de rata es un método basado en una modificación del método descrito por Janssen *et al.*

2.5.5.5.1 *Modus operandi*

- Preparar un recipiente provisto de un termómetro, con agua destilada a una temperatura de $55^{\circ}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$.
- Aplicar el tratamiento tópico a los animales de experimentación en condiciones estandarizadas. El tratamiento tópico debe permanecer durante 5 minutos.
- Luego acondicionar al animal en una caja de modo tal que cubra sólo su cuerpo e introducir un tercio de la cola tratada al agua atemperada, y anotar el tiempo que demora el animal en retirar la cola del agua caliente, esta medición realizarla a los 30, 60, 120 y 180 minutos.

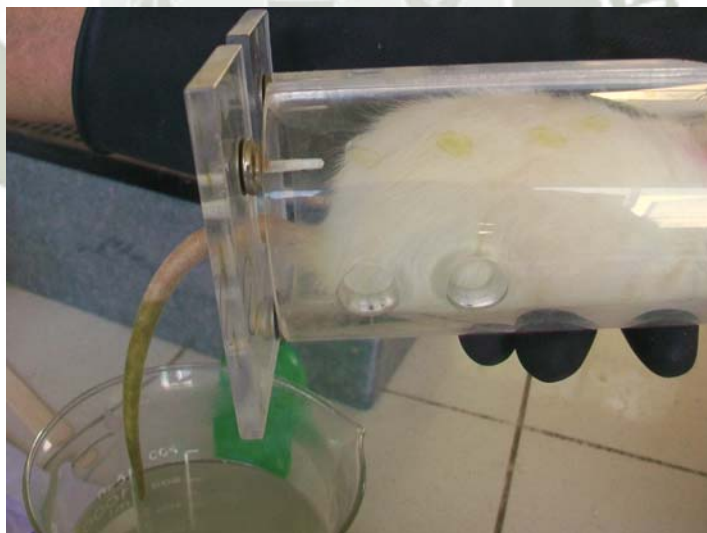


FIGURA Nro 11. Modelo térmico introducción de la cola en agua caliente

2.5.5.6 Método eléctrico

2.5.5.6.1 *Modus operandi*

- Introducir al animal a la jaula con malla eléctrica e inducir dolor según el umbral establecido previamente. Anotar el tiempo de reacción esta medida constituye el valor basal.
- Administrar el tratamiento tópico.
- Luego de administrar el tratamiento volver a introducir al animal a la jaula con malla eléctrica y realizar otra vez el estímulo eléctrico. Anotar los tiempos de reacción a los 30, 60, 120 y 180 minutos.



FIGURA Nro 12. Modelo eléctrico introducción en jaula con malla eléctrica

2.5.5.7 Análisis de los datos

Los tiempos de reacción anotados a los 30, 60, 120 y 180 minutos para el modelo eléctrico como para el térmico, fueron procesados para su análisis estadístico hallándose las siguientes medidas estadísticas:

- Promedio
- Mediana
- Desviación estándar
- Varianza
- Análisis de varianza
- Test de Tukey



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. DE LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

En primer lugar se procedió con la recolección de la planta, para seguir con los demás procedimientos descrito en el capítulo anterior conforme al siguiente esquema de trabajo:



FIGURA Nro 13. Esquema de trabajo para el extracto etéreo

Con las hojas trituradas se procedió a la obtención del extracto etéreo mediante el método del Soxhlet.

Para la obtención del extracto metanólico se procedió como sigue:



FIGURA Nro 14. Esquema de trabajo para el extracto metanólico

Con las hojas cortadas se procedió a la obtención del extracto metanólico conforme al método descrito denominado maceración.

Ambos productos, es decir, el macerado obtenido con el alcohol metílico; y el extracto soxhlico proveniente de la extracción con éter, fueron concentrados mediante equipo rotavapor y baño maría respectivamente.

Las características de los productos finales (**CUADRO Nro 1**) fueron diferentes en tanto al color, ya que en los demás caracteres organolépticos como el olor, sabor y aspecto fueron los mismos. Así para ambos el olor fue característico e intenso a la droga, ello debido a las hojas de chilca que son resinosas y aromáticas. El sabor para ambos fue astringente y amargo. Para ambos el aspecto fue límpido, debido a que ambos productos durante su proceso de obtención fueron filtrados mediante papel filtro.

El color para el extracto metanólico fue verde oscuro intenso, en cambio para el extracto etéreo fue un verde claro intenso. Este aspecto como se verá más adelante repercutió en el aspecto final de los geles de ambos extractos.

CUADRO Nro 1

Características organolépticas de los extractos metanólico y etéreo de las hojas de chilca

Característica	Extracto metanólico	Extracto Etéreo
Color	Verde oscuro intenso	Verde claro intenso
Olor	Característico a la droga	Característico a la droga
Sabor	Astringente y amargo	Astringente y amargo
Aspecto	Límpido	Límpido

Fuente: Elaboración propia

3.2. DE LA CROMATOGRAFÍA

Se realizó la marcha fitoquímica preliminar mediante el método de cromatografía en capa fina sobre el extracto metanólico y etéreo de las hojas de chilca (*Baccharis scandens*) obteniendo los resultados que se muestran en los cuadros.

En ambos extractos se han identificado terpenos, saponinas y flavonoides (**cuadros Nro 2, 3, 4 y 5**). Con la diferencia que sólo en el extracto metanólico se encontraron taninos (**FIGURA Nro 18**) y esteroides (**FIGURA Nro 16**), además, la presencia de flavonoides (**FIGURA Nro 17**) en este extracto fue mayor en comparación con el etéreo (por el número de manchas, tres para el metanólico y una para el etéreo), sin embargo la presencia de saponinas (**FIGURA Nro 16**) fue mayor en el extracto etéreo en comparación con el metanólico. Esta diferencia sin duda se debe a la naturaleza de los disolventes.

CUADRO Nro 2

Valores de R_f y coloraciones en la investigación por CCF de los metabolitos presentes en los extractos metanólico y etéreo de las hojas de chilca

Detección	R _f	Color de manchas		R _f	Detección
		Extracto metanólico (maceración)	Extracto etéreo (Soxhlet)		
Terpenos	0.94	Verde	Morado	0.93	Terpenos
Terpenos	0.87	Azul	Verde	0.89	Terpenos
Terpenos	0.78	Morado	Azul	0.85	Terpenos
Terpenos	0.73	Verde	Morado	0.75	Terpenos
Terpenos	0.71	Azul	Verde	0.71	Terpenos
Terpenos	0.69	Azul	Morado	0.69	Terpenos
Terpenos	0.56	Verde	Verde	0.58	Terpenos

Fuente: Elaboración propia

En el **CUADRO Nro 2** se tienen los resultados para la determinación general. Se utilizó como revelador vainillina-ácido sulfúrico y como fase móvil acetato de etilo,

metanol y agua en una proporción de 97:20:10. La coloración es conforme a lo señalado en la bibliografía (30, 49, 50, 51).



Legenda:

Siembra 1	Extracto metanólico (maceración)
Siembra 2	Extracto etéreo (Soxhlet)
Fase	Acetato de etilo:metanol: agua (97:20:10)
Revelador	Vainillina-ácido sulfúrico

FIGURA Nro 15. Cromatograma de los extractos etéreo y metanólico de chilca

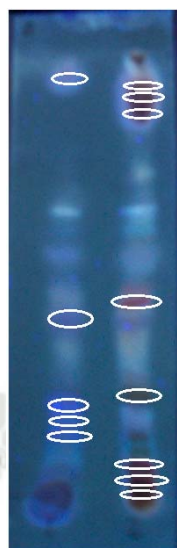
CUADRO Nro 3

Valores de Rf y coloraciones en la investigación por CCF de los metabolitos terpénicos presentes en los extractos metanólico y etéreo de las hojas de chilca

Detección	Rf	Color de las manchas		Rf	Detección
		Extracto metanólico (maceración)	Extracto etéreo (Soxhlet)		
Esteroles	0.97	Purpura	Café	0.93	Saponinas
Saponinas	0.61	Rosado	Café	0.91	Saponinas
Esteroles	0.40	Purpura	Café	0.89	Saponinas
Esteroles	0.38	Purpura	Rosado	0.63	Saponinas
Esteroles	0.37	Purpura	Café	0.42	Saponinas
----	----	----	Café	0.23	Saponinas
----	----	----	Café	0.21	Saponinas
----	----	----	Café	0.17	Saponinas

Fuente: Elaboración propia

En el **CUADRO Nro 3** se tienen los resultados para la determinación de compuestos terpénicos y se utilizó como revelador el reactivo de Liebermann Burchard y como fase móvil tolueno y acetato de etilo; 95:5. La coloración es conforme a lo señalado en la bibliografía (30, 49, 50, 51).



Leyenda:

- Siembra 1** Extracto metanólico (maceración)
- Siembra 2** Extracto etéreo (Soxhlet)
- Fase** Tolueno:Acetato de etilo (95:5)
- Revelador** Liebermann Burchard

FIGURA Nro 16. Cromatograma de los extractos etéreo y metanólico de chilca

CUADRO Nro 4

Valores de Rf y coloraciones en la investigación por CCF de los metabolitos flavonoides presentes en los extractos metanólico y etéreo de las hojas de chilca

Detección	Rf	Color de las manchas		Rf	Detección
		Extracto metanólico (maceración)	Extracto etéreo (Soxhlet)		
Flavonoides	0.98	Amarillo	Amarillo	0.86	Flavonoides
Flavonoides	0.86	Amarillo	----	----	----
Flavonoides	0.41	Amarillo	----	----	----

Fuente: Elaboración propia

En el **CUADRO Nro 4** se observan los resultados para la determinación de flavonoides. Se utilizó como revelador cloruro de aluminio y como fase móvil acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico y agua; en una proporción de 100:11:11:26 respectivamente. La coloración es conforme a lo señalado en la bibliografía (30, 49, 50, 51).



Leyenda:

Siembra 1 Extracto metanólico (maceración)

Siembra 2 Extracto etéreo (Soxhlet)

Fase Acetato de etilo: ácido acético:
ácido fórmico: agua (100:11:11:26)

Revelador Cloruro de aluminio

FIGURA Nro 17. Cromatograma de los extractos etéreo y metanólico de chilca

CUADRO Nro 5

Valores de Rf y coloraciones en la investigación por CCF de los metabolitos taninos presentes en los extractos metanólico y etéreo de las hojas de chilca

Detección	Rf	Color de las manchas		Rf	Detección
		Extracto metanólico (maceración)	Extracto etéreo (Soxhlet)		
Taninos	0.95	Marrón	----	----	----
Taninos	0.91	Verde	----	----	----

Taninos	0.89	Verde	----	----	----
Taninos	0.86	Verde	----	----	----

Fuente: Elaboración propia

En el **CUADRO Nro 5** se observan los resultados para la determinación de taninos. Se utilizó como revelador cloruro férrico y como fase móvil metanol y agua; en una proporción de 70:30 respectivamente. La coloración es conforme a lo señalado en la bibliografía (30, 49, 50, 51).



Leyenda:

- Siembra 1** Extracto metanólico (maceración)
- Siembra 2** Extracto etéreo (Soxhlet)
- Fase** Metanol:agua (70:30)
- Revelador** Cloruro férrico

FIGURA Nro 18. Cromatograma de los extractos etéreo y metanólico de chilca

3.3. DE LA ELABORACIÓN DE LOS GELES

Al final del proceso de extracción con los disolventes éter y alcohol metílico, se obtuvieron por diferentes métodos (Soxhlet y maceración) dos productos: un extracto etéreo y un extracto metanólico; los que por la naturaleza del disolvente congregan sustancias de diferente solubilidad, es por ello que a la hora de formular el gel tenía que considerarse esos aspectos, razón por la cual se formularon dos geles, un hidrogel que por sus características podría incorporar adecuadamente al extracto metanólico; y

un cremigel que permita la incorporación del extracto etéreo (como es de suponerse con la adición de un emulgente).



3.3.1. Elaboración del hidrogel

El hidrogel fue elaborado con el objetivo de que incorpore adecuadamente un extracto metanólico de naturaleza polar. Se siguió el método de elaboración del gel de carbopol 940, la adición del extracto fue al final cuando el gel de carbopol ya se encontró elaborado.

Se ensayaron múltiples formulaciones hasta lograr uno con la consistencia adecuada y sobre todo que el extracto se incorpore homogéneamente al final; para este último escollo se precisó la adición de tween como agente codisolvente que permitió la solubilidad de componentes que son solubles en el alcohol del extracto pero no en el agua del gel. Se ensayó geles con cantidades crecientes de carbopol y se añadió el extracto con cantidades decrecientes de tween, de tal modo que se obtenga un gel de consistencia adecuada y con el mínimo de tween necesaria para la solubilidad del extracto. La fórmula final fue la siguiente:

3.3.1.1 Fórmula final del hidrogel

Carbopol 940	1.5%
Propilenglicol	5%
Solución conservante	1%
Trietanolamina	0.2%
Extracto metanólico de hojas de chilca	20%
Metabisulfito sódico	0.1%
Tween 20	3%
Agua destilada csp	100 g

3.3.1.2 Modus operandi

- Se pesó los componentes de la fórmula
- Se disolvió en el agua destilada el propilenglicol, la solución conservante y el metabisulfito sódico.

- Una vez disueltos los componentes del punto anterior, se dispersó el carbopol y se dejó 24 horas hasta imbibición completa. Pasado este periodo se gelificó con la adición de trietanolamina gota a gota, mediante agitación.
- En un vaso de precipitados aparte, se disolvió en el extracto el tween 20, agitar para disolución completa.
- Se incorporó el tween 20 disuelto en el extracto al gel obtenido anteriormente mediante agitación.
- Se envasó.



FIGURA Nro 19. Gel con extracto metanólico

3.3.2. Elaboración del cremigel

El cremigel fue elaborado con el objetivo de que incorpore adecuadamente un extracto etéreo de naturaleza apolar. Ya que al inicio al añadir este extracto a un hidrogel se obtenía un gel de aspecto muy turbido, dando la apariencia de un gel “sucio” y que incluso al tacto se sentía partículas en suspensión. Es por ello que se añadió el extracto etéreo con Cetiol V al inicio junto a un emulgente (Eumulgin B1) juntos constituyeron una fase oleosa que se unió con la acuosa que fue gel de carbopol dando como producto final un cremigel o gel emulsión. Este gel a diferencia del hidrogel con extracto metanólico no tenía un aspecto cristalino, más bien un aspecto cremoso homogéneo, sin turbideces y partículas en suspensión, por lo tanto de mejor aspecto.

Al igual que el hidrogel se ensayaron varias formulaciones, con el objetivo de lograr un cremigel que incluya la cantidad mínima necesaria de emulgente para dispersar al extracto etéreo sin comprometer la estabilidad del sistema. La cantidad de carbopol 940 para el hidrogel fue indicio que ayudo mucho para el caso del cremigel. La fórmula final fue la siguiente:



FIGURA Nro 20. Calentamiento de fases para el cremigel

3.3.2.1 Fórmula final del cremigel

Carbopol 940	1.2%
Propilenglicol	5%
Solución conservante	1%
Trietanolamina	0.1%
Extracto etéreo de hojas de chilca	20%
Cetiol V	20%
Eumulgin B1	3%
Butilhidroxi tolueno	0.1%
Agua destilada csp	100 g

3.3.2.2 Modus operandi

- Se pesaron los componentes de la fórmula
- Se disolvió en el agua destilada el propilenglicol, la solución conservante y el butilhidroxi tolueno.
- Una vez disueltos los componentes del punto anterior, se dispersó el carbopol y se dejó 24 horas hasta imbibición completa. Pasado este periodo se gelificó con la adición de trietanolamina gota a gota, mediante agitación. El gel de carbopol así obtenido constituye la fase acuosa.
- Se reunió la fase oleosa (extracto etéreo de hojas de chilca, cetiol V y Eumulgin B1) en un vaso y se calentó a 70°C.
- Se calentó la fase acuosa (gel de carbopol) a la misma temperatura que la fase oleosa.
- Se emulsionó adicionando la fase oleosa poco a poco sobre la fase acuosa (gel de carbopol caliente) agitando continuamente, hasta enfriamiento de la emulsión.
- Se procedió al envasado.



FIGURA Nro 21. Cremigel con extracto etéreo

3.4. DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA

3.4.1. MODELO ELÉCTRICO

El umbral de dolor determinado mediante prueba piloto fue de 8, se trabajó en dos bloques ya que fue imposible trabajar con 30 ratas el mismo día.

3.4.1.1 Resultados obtenidos a los 30 minutos

Los primeros resultados (**CUADRO Nro 6**) corresponden al tiempo de reacción medido en segundos a los 30 minutos luego de administrar los tratamiento, a juzgar por los promedios, el menor promedio corresponde al gel con extracto metanólico seguido del gel de diclofenaco. Estos valores son muy cercanos con los otros grupos de tratamiento e incluso con el grupo control.

Los promedios de todos los grupos experimentales se pueden apreciar mejor a través de las **figuras 26 y 27**.

CUADRO Nro 6

Análisis estadístico del tiempo de reacción (segundos) tras los 30 minutos post administración de los geles y extractos en estudio

Grupo	Ratas	Promedio	Mediana	D.E.	Varianza	Mínimo	Máximo	Rango
Control	5	0.65	0.5900	0.17866	0.032	0.51	0.95	0.44
Extracto metanólico	5	0.62	0.6500	0.14258	0.020	0.47	0.82	0.35
Gel con extracto metanólico	5	0.56	0.5500	0.08649	0.007	0.48	0.71	0.23
Extracto etéreo	5	0.63	0.6300	0.11832	0.014	0.49	0.81	0.32
Gel con extracto etéreo	5	0.61	0.6100	0.11454	0.013	0.47	0.78	0.31
Gel de diclofenaco	5	0.57	0.5600	0.21361	0.046	0.37	0.92	0.55

Fuente: Elaboración propia

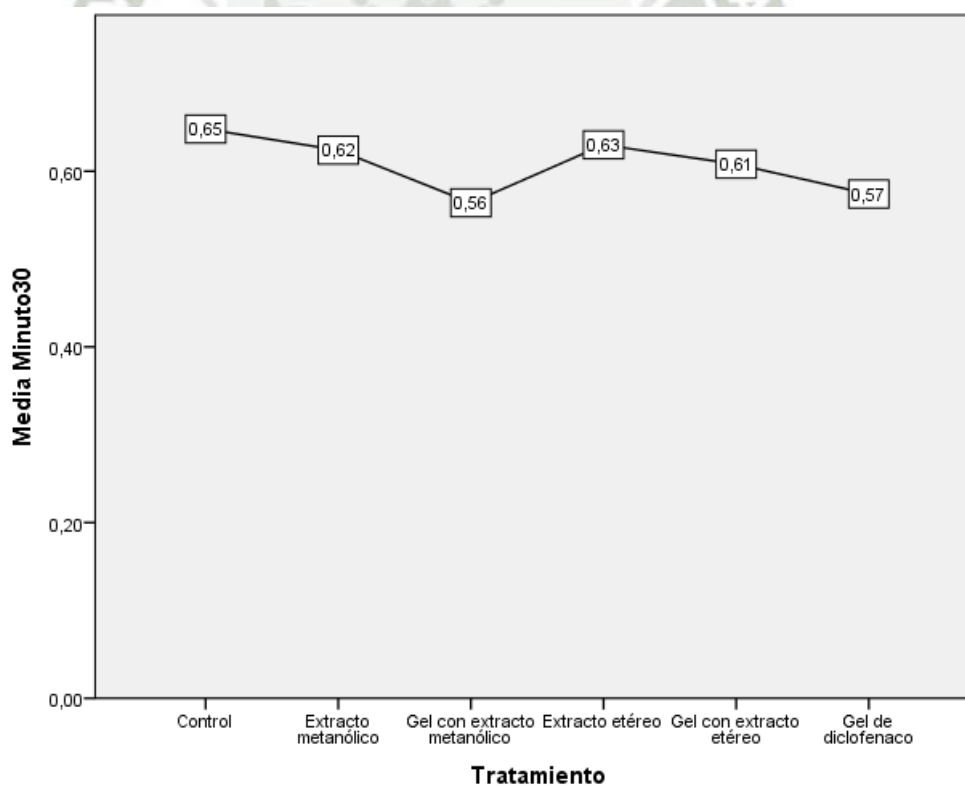


FIGURA Nro 22. Promedios de los tiempos de reacción (segundos) a los 30 minutos después de la administración de geles y extractos de chilca en el modelo eléctrico

Se realizó un análisis de varianza para determinar si existen diferencias significativas entre los seis grupos de tratamiento. El **CUADRO Nro 7** muestra una significancia de 0.938 que es un valor mayor a 0.05, por lo tanto según el análisis de varianza no existen diferencias entre los seis grupos aceptándose la hipótesis nula, de no diferencias entre las medias. Esto quiere decir que no habría eficacia en ningún tratamiento ya que todos son similares incluido el grupo control.

CUADRO Nro 7

ANOVA del tiempo de reacción (segundos) tras los 30 minutos después de la administración de los geles y extractos en estudio

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0.027	5	0.005	0.246	0.938
Intra-grupos	0.530	24	0.022		
Total	0.557	29			

Fuente: Elaboración propia

La prueba de Tukey sirvió para observar si no hay diferencias entre todos los grupos o solo en algunos, al ser comparados de dos en dos grupos de tratamiento. Se trata de una prueba de especificidad. Como observamos en el **CUADRO Nro 8** el Test de Tukey confirma el análisis de varianza, y de todas las posibles comparaciones para par a par, no existe ninguna diferencia entre los seis grupos de tratamiento, por lo tanto a los 30 minutos post administración no hay eficacia con tratamiento alguno.

CUADRO Nro 8

Resultados del Test de Tukey a los 30 minutos según modelo eléctrico

Grupos	Nro	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Gel con extracto metanólico	5	0.5640
Gel de diclofenaco	5	0.5740
Gel con extracto etéreo	5	0.6080
Extracto metanólico	5	0.6240
Extracto etéreo	5	0.6300
Control	5	0.6480

Fuente: Elaboración propia

3.4.1.2 Resultados obtenidos a los 60 minutos

CUADRO Nro 9

Análisis estadístico del tiempo de reacción (segundos) tras los 60 minutos post administración de los geles y extractos en estudio

Grupo	Ratas	Promedio	Mediana	D.E.	Varianza	Mínimo	Máximo	Rango
Control	5	0.75	0.7900	0.12174	0.015	0.59	0.86	0.27
Extracto metanólico	5	1.42	1.3300	0.16346	0.027	1.28	1.60	0.32
Gel con extracto metanólico	5	1.16	1.2000	0.14636	0.021	0.90	1.26	0.36
Extracto etéreo	5	1.32	1.3300	0.12398	0.015	1.17	1.50	0.33
Gel con extracto etéreo	5	1.22	1.2100	0.09317	0.009	1.10	1.35	0.25
Gel de diclofenaco	5	1.63	1.7200	0.28475	0.081	1.23	1.92	0.69

Fuente: Elaboración propia

Si se observan los promedios del **CUADRO Nro 9**, tenemos que el grupo con mayor tiempo de reacción corresponde al del diclofenaco seguido con el de extracto metanólico, luego el etéreo, el gel con extracto etéreo y el gel con extracto metanólico, finalmente el grupo control. A los 60 minutos a diferencia de a los 30 minutos se observan promedios algo distantes respecto del control, por lo que cabría esperar alguna respuesta eficaz en comparación con el grupo control.

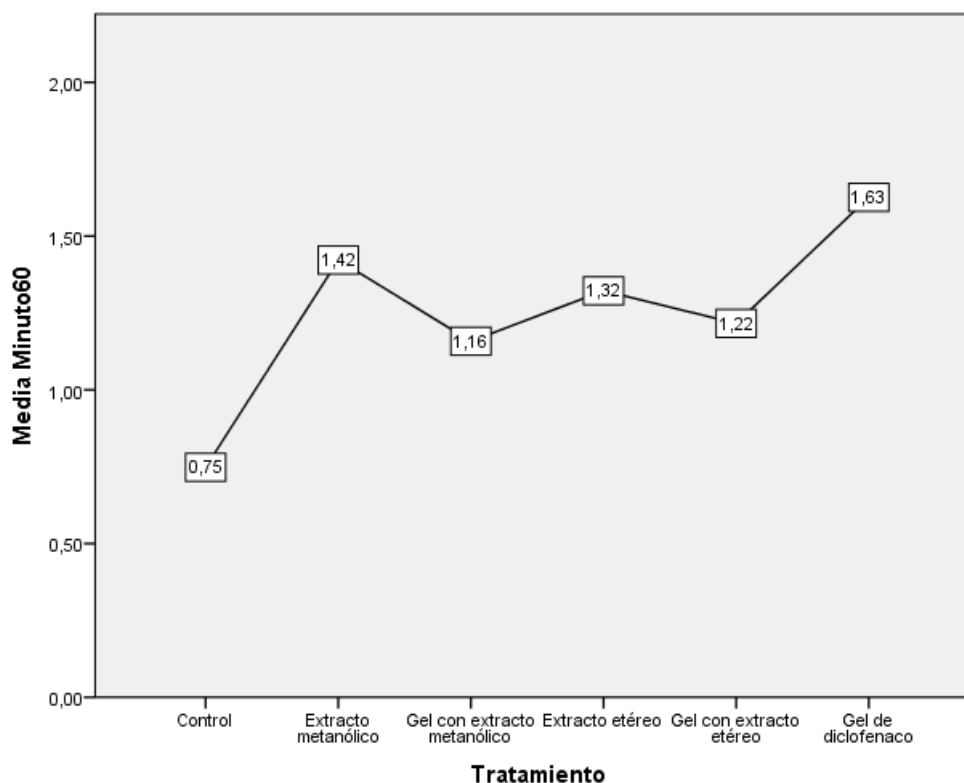


FIGURA Nro 23. Promedios de los tiempos de reacción a los 60 minutos después de la administración de geles y extractos de chilca en el modelo eléctrico

El análisis de varianza que se observa en el **CUADRO Nro 10** nos da un valor de significancia de 0.000, valor que es inferior a 0.05, por lo que existe una diferencia significativa entre los 6 grupos de tratamiento.

CUADRO Nro 10

ANOVA del tiempo de reacción (segundos) tras los 60 minutos después de la administración de los geles y extractos en estudio

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2.189	5	0.438	15.626	0.000
Intra-grupos	0.672	24	0.028		
Total	2.861	29			

Fuente: Elaboración propia

CUADRO Nro 11

Resultados del Test de Tukey a los 60 minutos según modelo eléctrico

Tratamiento	Nro	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	5	0.7480		
Gel con extracto metanólico	5		1.1580	
Gel con extracto etéreo	5		1.2160	
Extracto etéreo	5		1.3220	1.3220
Extracto metanólico	5		1.4220	1.4220
Gel de diclofenaco	5			1.6260

Fuente: Elaboración propia

El Test de Tukey agrupa a los seis grupos de tratamiento en 3 subgrupos: el primer subgrupo está conformado por el grupo control, este es diferente a los otros dos subgrupos; el segundo subgrupo está conformado por los geles con extracto etéreo y metanólico el extracto etéreo y metanólico; el tercer subgrupo está conformado por el extracto etéreo y extracto metanólico y el gel de diclofenaco. Nótese en el **CUADRO Nro 11**, que los extractos etéreo y metanólico no tienen una diferenciación clara ya que se parecen tanto a los geles con extractos como al gel de diclofenaco.

Por otra parte los geles con extractos si muestran una clara diferencia con el gel de diclofenaco, siendo por lo tanto aquellos diferentes del grupo con diclofenaco.

Podemos concluir que a los 60 minutos quienes presentan aparente eficacia son los extractos (etéreo y metanólico) pero esta no es totalmente clara ya que a su vez muestra similitudes con los geles con extractos que tendrían una eficacia intermedia, es decir, una eficacia que se ubica entre el grupo control y el grupo con diclofenaco.

3.4.1.3 Resultados obtenidos a los 120 minutos

Los promedios a los 120 minutos (**CUADRO Nro 12**) muestran al gel de diclofenaco otra vez con el mayor tiempo de reacción de respuesta al dolor de un estímulo eléctrico; los extractos: etéreo y metanólico, se ubican en ese orden detrás del grupo con diclofenaco. Los geles con extractos tienen promedios de tiempos de reacción menores. Por último el grupo control tiene un promedio de 0.84.

CUADRO Nro 12

Análisis estadístico del tiempo de reacción (segundos) tras los 120 minutos post administración de los geles y extractos en estudio

Grupo	Ratas	Promedio	Mediana	D.E.	Varianza	Mínimo	Máximo	Rango
Control	5	0.84	0.8400	0.14046	0.020	0.63	0.97	0.34
Extracto metanólico	5	1.54	1.6500	0.43178	0.186	0.94	1.94	1.00
Gel con extracto metanólico	5	1.26	1.2900	0.24035	0.058	0.97	1.60	0.63
Extracto etéreo	5	1.56	1.6600	0.41831	0.175	0.99	1.99	1.00
Gel con extracto etéreo	5	1.35	1.3700	0.18229	0.033	1.12	1.59	0.47
Gel de diclofenaco	5	2.07	2.0100	0.15944	0.025	1.91	2.31	0.40

Fuente: Elaboración propia

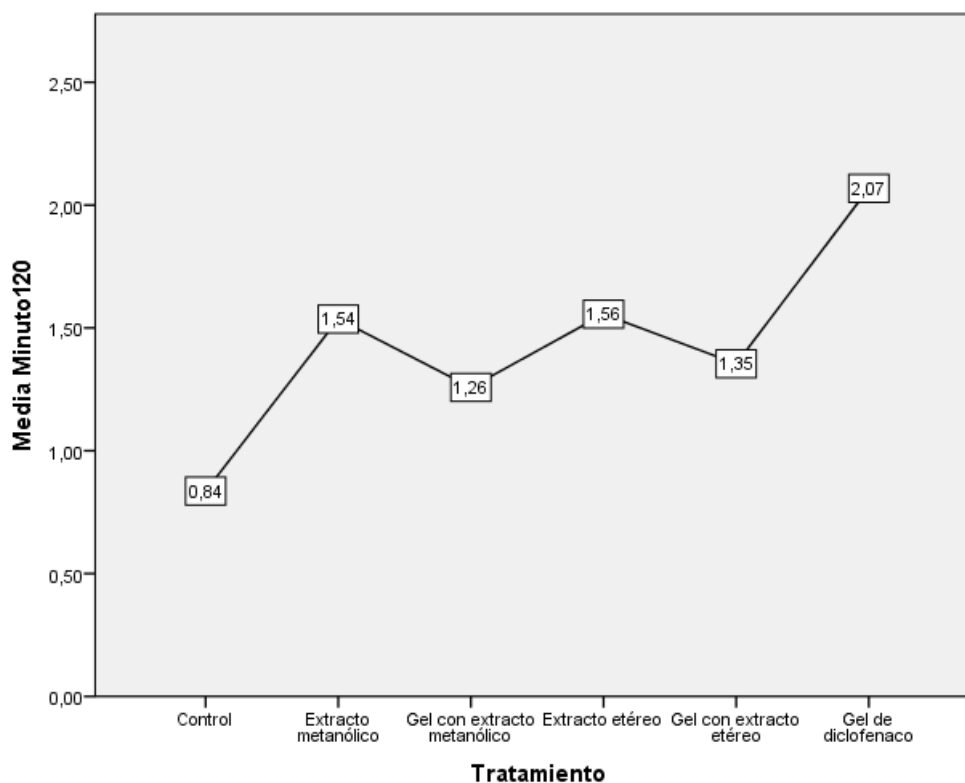


FIGURA Nro 24. Promedios de los tiempos de reacción a los 120 minutos después de la administración de gels y extractos de chilca en el modelo eléctrico

Los resultados del **CUADRO Nro 13** corresponden al análisis de varianza del tiempo de reacción de cada uno de los grupos de tratamiento tras los 120 minutos post administración. El valor de significancia es 0.000 valor inferior a 0.05, por lo tanto existen diferencias significativas entre los 6 grupos de tratamiento.

CUADRO Nro 13

ANOVA del tiempo de reacción (segundos) tras los 120 minutos después de la administración de los gels y extractos en estudio

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4.111	5	0.822	9.915	0.000
Intra-grupos	1.990	24	0.083		
Total	6.101	29			

Fuente: Elaboración propia

El Test de Tukey aplicado a los datos recogidos a los 120 minutos, agrupa a los seis grupos de tratamiento en 3 subgrupos. El comportamiento es similar a lo analizado a los 60 minutos, es decir, que también podemos concluir según el **CUADRO Nro 14**, que a los 120 minutos quienes presentan aparente eficacia son los extractos (etéreo y metanólico) pero esta no es totalmente clara ya que a su vez muestra similitudes con los geles con extractos que tendrían una eficacia intermedia, es decir, una eficacia que se ubica entre el grupo control y el grupo con diclofenaco.

CUADRO Nro 14

Resultados del Test de Tukey a los 120 minutos según modelo eléctrico

Tratamiento	Nro	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	5	0.8360		
Gel con extracto metanólico	5	1.2580	1.2580	
Gel con extracto etéreo	5	1.3540	1.3540	
Extracto metanólico	5		1.5360	1.5360
Extracto etéreo	5		1.5560	1.5560
Gel de diclofenaco	5			2.0680

Fuente: Elaboración propia

3.4.1.4 Resultados obtenidos a los 180 minutos

Los promedios a los 180 minutos muestran a un grupo tratado con diclofenaco apartarse claramente de los otros grupos mostrando un tiempo de reacción mayor (2.81 segundos, **CUADRO Nro 15**). Seguido del grupo tratado con el gel de extracto metanólico con gel de extracto etéreo y el grupo que recibió extracto etéreo. El grupo control se mantiene con un promedio de 0.86 segundos de tiempo de reacción.

CUADRO Nro 15

Análisis estadístico del tiempo de reacción (segundos) tras los 180 minutos post administración de los geles y extractos en estudio

Grupo	Ratas	Promedio	Mediana	D.E.	Varianza	Mínimo	Máximo	Rango
Control	5	0.86	0.8800	0.13198	0.017	0.66	1.00	0.34
Extracto metanólico	5	1.39	1.4300	0.20322	0.041	1.14	1.58	0.44
Gel con extracto metanólico	5	1.43	1.4700	0.43465	0.189	0.83	1.90	1.07
Extracto etéreo	5	1.19	1.0200	0.40284	0.162	0.76	1.64	0.88
Gel con extracto etéreo	5	1.24	1.3300	0.29491	0.087	0.86	1.61	0.75
Gel de diclofenaco	5	2.81	2.7900	0.23633	0.056	2.59	3.20	0.61

Fuente: Elaboración propia

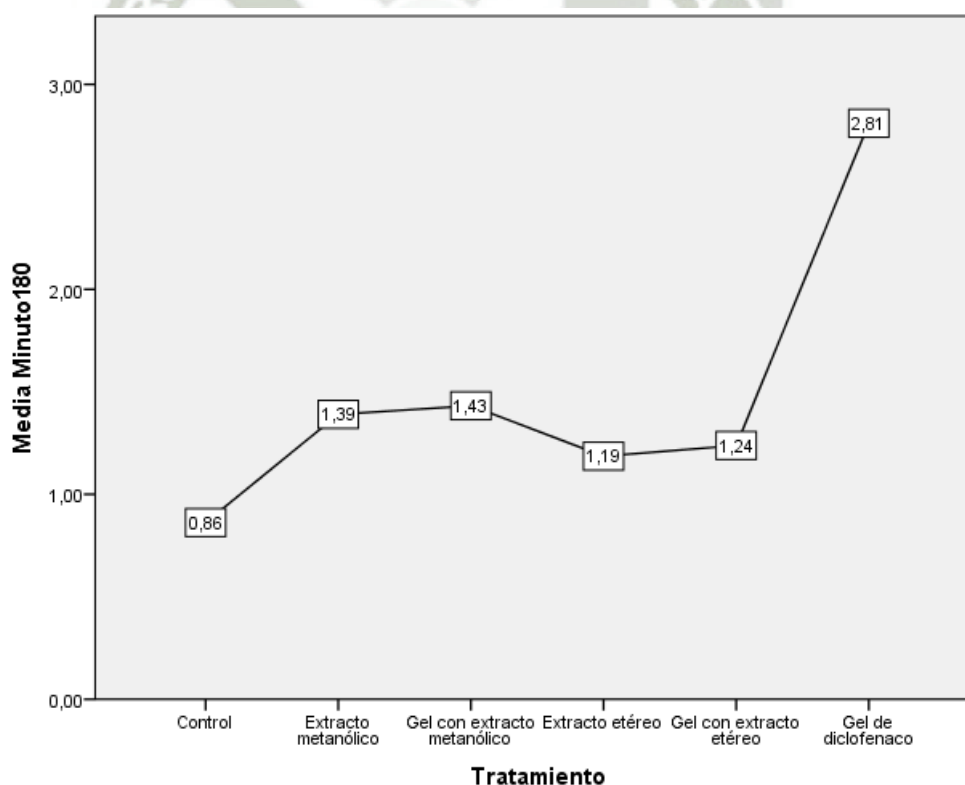


FIGURA Nro 25. Promedios de los tiempos de reacción a los 180 minutos después de la administración de geles y extractos de chilca en el modelo eléctrico

Los resultados del **CUADRO Nro 16** corresponden al análisis de varianza de los tiempos de reacción de los grupos de tratamiento a los 180 minutos. El valor de significancia 0.00 mostró ser estadísticamente inferior a 0.05 por lo tanto existen diferencias significativas entre los 6 grupos de tratamiento.

CUADRO Nro 16

ANOVA del tiempo de reacción (segundos) tras los 180 minutos después de la administración de los geles y extractos en estudio

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11.530	5	2.306	25.032	0.000
Intra-grupos	2.211	24	0.092		
Total	13.741	29			

Fuente: Elaboración propia

El Test de Tukey (**CUADRO Nro 17**) aplicado a los datos recogidos a los 180 minutos, agrupa a los seis grupos de tratamiento en 2 subgrupos. El primer subgrupo está conformado por el grupo control, el grupo tratado con extracto etéreo, gel con extracto etéreo, con extracto metanólico y gel con extracto metanólico. Y el segundo grupo solo por el gel de diclofenaco. Ambos grupos difieren significativamente.

Podemos concluir que a los 180 minutos ningún grupo de tratamiento experimental que se trate de extractos de chilca muestra eficacia, ya que todos son similares estadísticamente al grupo control y ninguno al grupo con diclofenaco.

Como conclusión general al modelo eléctrico podemos afirmar que tanto el extracto etéreo y metanólico; así como el gel y cremigel que los incluyen no muestran eficacia analgésica a través de un modelo eléctrico.

CUADRO Nro 17

Resultados del Test de Tukey a los 180 minutos según modelo eléctrico

Grupo	Nro	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Control	5	0.8620	
Extracto etéreo	5	1.1860	
Gel con extracto etéreo	5	1.2380	
Extracto metanólico	5	1.3900	
Gel con extracto metanólico	5	1.4320	
Gel de diclofenaco	5		2.8100

Fuente: Elaboración propia

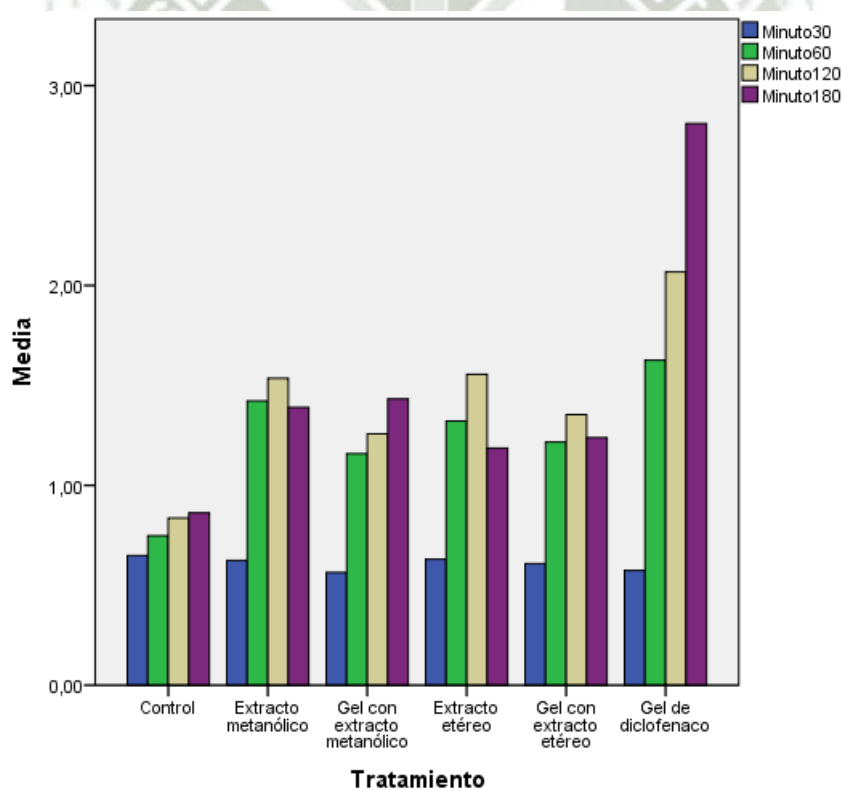


FIGURA Nro 26. Promedios de los tiempos de reacción al dolor según modelo eléctrico en los diferentes grupos de tratamiento luego de 30, 60, 120 y 180 minutos.

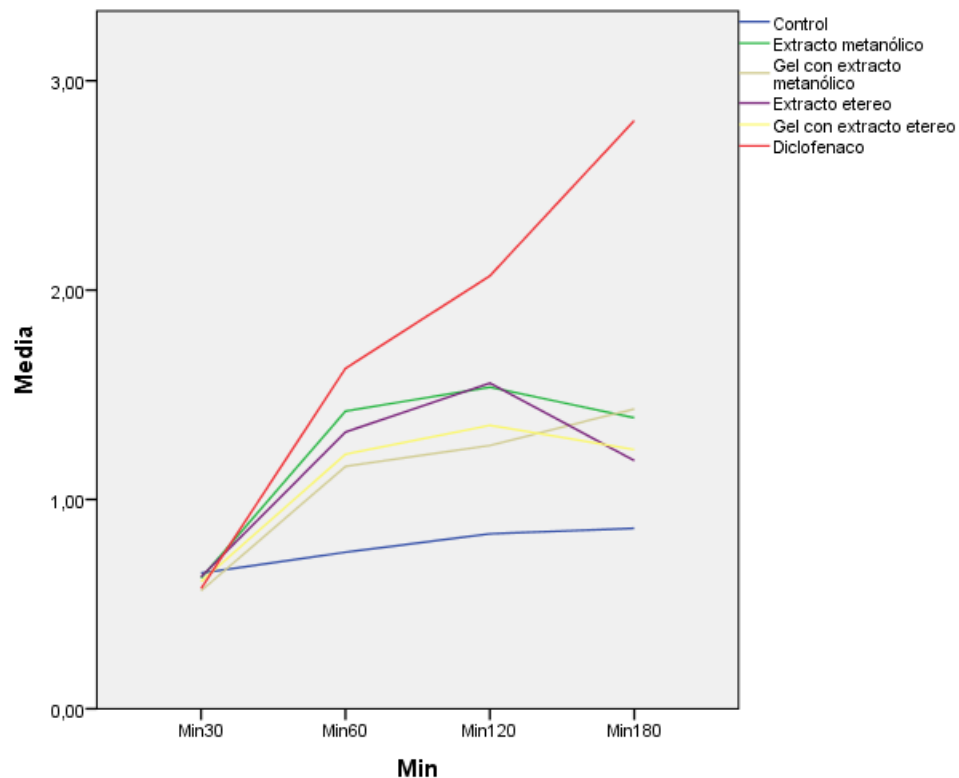


FIGURA Nro 27. Promedios de los tiempos de reacción al dolor según modelo eléctrico en los diferentes grupos de tratamiento luego de 30, 60, 120 y 180 minutos.

3.4.2.MODELO TÉRMICO

3.4.2.1 Resultados obtenidos a los 30 minutos

El CUADRO Nro 18 de promedios, muestra al grupo tratado con diclofenaco con el mayor promedio en segundos de demora en la respuesta ante un estímulo consistente en agua caliente a 55°C, en la cola del animal de experimentación, seguido del grupo tratado con gel con extracto etéreo, seguido del grupo con extracto metanólico, los demás grupos se encuentran muy cercanos al grupo control.

CUADRO Nro 18

Análisis estadístico del tiempo de reacción (segundos) tras los 30 minutos post administración de los geles y extractos en estudio

Grupo	Ratas	Promedio	Mediana	D.E.	Varianza	Mínimo	Máximo	Rango
Control	5	2.47	2.5900	0.41215	0.170	1.74	2.72	0.98
Extracto metanólico	5	2.69	2.5400	0.40741	0.166	2.28	3.31	1.03
Gel con extracto metanólico	5	2.55	2.3600	0.65393	0.428	1.77	3.31	1.54
Extracto etéreo	5	2.47	2.2600	0.55261	0.305	2.14	3.45	1.31
Gel con extracto etéreo	5	3.16	3.1600	0.20840	0.043	2.87	3.44	0.57
Gel de diclofenaco	5	3.69	3.3000	1.60435	2.574	2.20	6.43	4.23

Fuente: Elaboración propia

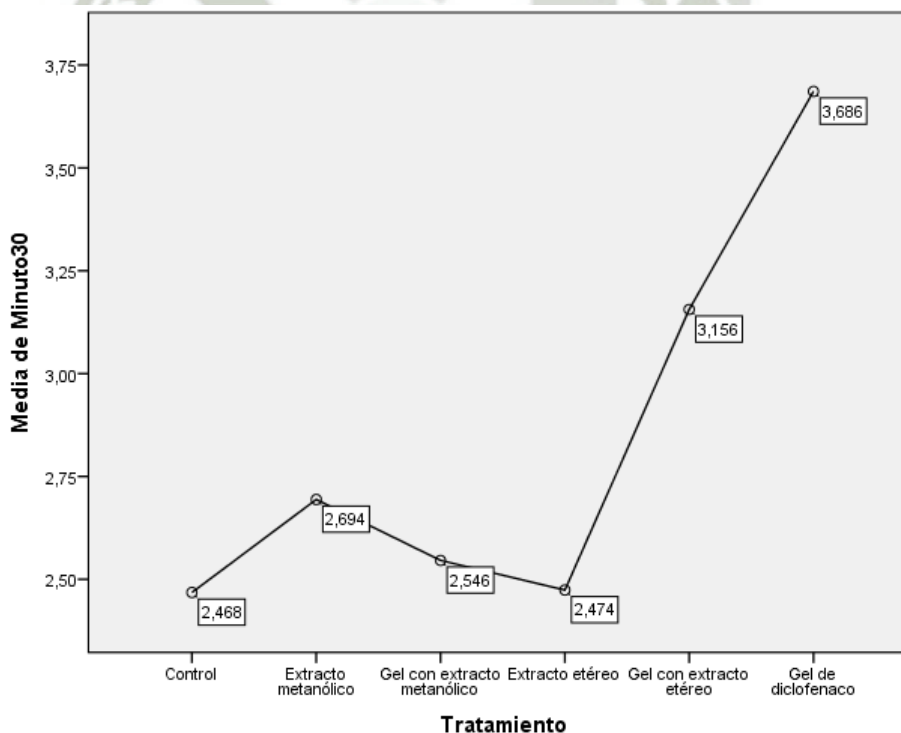


FIGURA Nro 28. Promedios de los tiempos de reacción a los 30 minutos después de la administración de geles y extractos de chilca en el modelo térmico

El análisis de varianza practicado a los seis grupos (**CUADRO Nro 19**) señala una significancia de 0.12, valor que es superior a 0.05, por lo que no habría diferencia estadística entre los grupos de tratamiento.

CUADRO Nro 19

ANOVA del tiempo de reacción (segundos) tras los 30 minutos después de la administración de los geles y extractos en estudio

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	5.978	5	1.196	1.946	0.124
Intra-grupos	14.745	24	0.614		
Total	20.723	29			

Fuente: Elaboración propia

CUADRO Nro 20

Resultados del Test de Tukey a los 30 minutos según modelo térmico

Tratamiento	Nro	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Control	5	2.4680
Extracto etéreo	5	2.4740
Gel con extracto metanólico	5	2.5460
Extracto metanólico	5	2.6940
Gel con extracto etéreo	5	3.1560
Gel de diclofenaco	5	3.6860

Fuente: Elaboración propia

El test de Tukey (**CUADRO Nro 20**) agrupa a todos los grupos de tratamiento en un solo subgrupo, lo que permite afirmar que a los 30 minutos, ninguno de los grupos de

tratamiento, muestra eficacia alguna, ya que el tiempo en la demora a la respuesta del estímulo doloroso es igual a un subgrupo en los que se incluyen todos incluso el grupo control al que no se le aplicó tratamiento alguno.

3.4.2.2 Resultados obtenidos a los 60 minutos

A los 60 minutos (**CUADRO Nro 21**) se aprecia una respuesta de 4.09 segundos de tiempo de respuesta al estímulo doloroso para el grupo tratado con gel con extracto etéreo, siendo este grupo experimental mayor en tanto promedio que el grupo tratado con diclofenaco que es el segundo seguido este último del grupo tratado con extracto etéreo, seguido del grupo tratado con gel con extracto metanólico, el grupo tratado con extracto metanólico solamente y como grupo final el grupo control.

CUADRO Nro 21

Análisis estadístico del tiempo de reacción (segundos) tras los 60 minutos post administración de los geles y extractos en estudio

Grupo	Ratas	Promedio	Mediana	D.E.	Varianza	Mínimo	Máximo	Rango
Control	5	1.45	1.4400	0.36136	0.131	0.86	1.75	0.89
Extracto metanólico	5	2.49	2.5600	0.17427	0.030	2.30	2.65	0.35
Gel con extracto metanólico	5	2.51	2.6600	0.28166	0.079	2.13	2.75	0.62
Extracto etéreo	5	3.82	3.6400	0.85062	0.724	3.21	5.30	2.09
Gel con extracto etéreo	5	4.09	3.8500	0.60640	0.368	3.61	5.07	1.46
Gel de diclofenaco	5	3.84	3.2500	1.16817	1.365	3.14	5.88	2.74

Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza aplicado a los 60 minutos del modelo térmico (**CUADRO Nro 22**) arroja una significancia de 0.00, valor que es inferior a 0.05, que es el nivel de

confianza al que se trabajó el presente estudio, por lo tanto existen diferencias significativas entre los 6 grupos de tratamiento, bajo este modelo.

CUADRO Nro 22

ANOVA del tiempo de reacción (segundos) tras los 60 minutos después de la administración de los geles y extractos en estudio

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	27.331	5	5.466	12.164	0.000
Intra-grupos	10.785	24	0.449		
Total	38.116	29			

Fuente: Elaboración propia

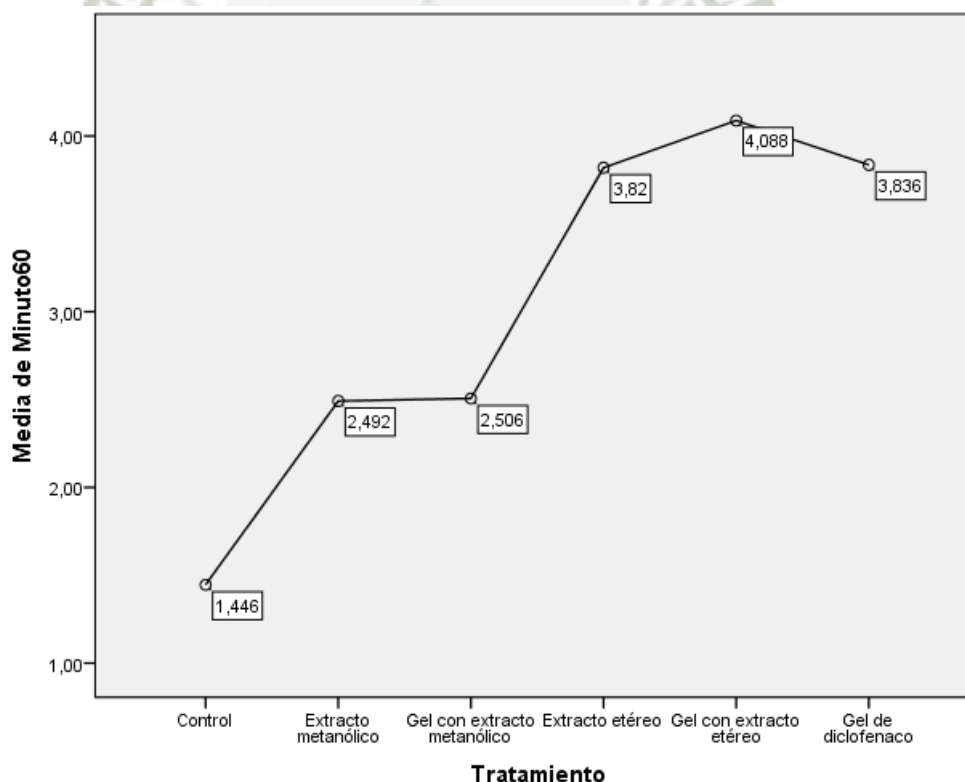


FIGURA Nro 29. Promedios de los tiempos de reacción a los 60 minutos después de la administración de geles y extractos de chilca en el modelo térmico

El Test de Tukey (**CUADRO Nro 23**) aplicado a los datos recogidos a los 60 minutos bajo el modelo térmico, agrupa a los seis grupos de tratamiento en 2 subgrupos. El primer subgrupo está conformado por el grupo control, el grupo tratado con extracto metanólico, gel con extracto metanólico. Y el segundo subgrupo al grupo tratado con extracto etéreo, gel con extracto etéreo y con gel de diclofenaco. Ambos subgrupos difieren significativamente entre sí.

Podemos concluir que a los 60 minutos quienes muestran una eficacia comparable al grupo con diclofenaco son los grupos tratados con extracto y gel con extracto etéreos.

CUADRO Nro 23

Resultados del Test de Tukey a los 60 minutos según modelo térmico

Tratamiento	Nro	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Control	5	1.4460	
Extracto metanólico	5	2.4920	
Gel con extracto metanólico	5	2.5060	
Extracto etéreo	5		3.8200
Gel de diclofenaco	5		3.8360
Gel con extracto etéreo	5		4.0880

Fuente: Elaboración propia

3.4.2.3 Resultados obtenidos a los 120 minutos

A los 120 minutos (**CUADRO Nro 24**) se aprecia una respuesta de 4.15 segundos de tiempo de respuesta al estímulo doloroso para el grupo tratado con gel de diclofenaco, siendo este grupo con mayor promedio, de los seis grupos, seguido del grupo tratado con extracto etéreo seguido ese muy cerca del grupo tratado con gel con extracto etéreo, por su parte el grupo tratado con gel con extracto metanólico con 2.60, luego grupo tratado con extracto metanólico con 2.55 y finalmente el grupo control con 2.07.

CUADRO Nro 24

Análisis estadístico del tiempo de reacción (segundos) tras los 120 minutos post administración de los geles y extractos en estudio

Grupo	Ratas	Promedio	Mediana	D.E.	Varianza	Mínimo	Máximo	Rango
Control	5	2.07	2.0700	0.42158	0.178	1.49	2.58	1.09
Extracto metanólico	5	2.55	2.5900	0.23169	0.054	2.21	2.79	0.58
Gel con extracto metanólico	5	2.60	2.6200	0.12973	0.017	2.41	2.74	0.33
Extracto etéreo	5	3.89	3.9900	0.29090	0.085	3.43	4.20	0.77
Gel con extracto etéreo	5	3.74	3.7100	0.11992	0.014	3.63	3.89	0.26
Gel de diclofenaco	5	4.15	3.6600	1.46897	2.158	3.27	6.75	3.48

Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza aplicado a los 120 minutos (**CUADRO Nro 25**) del modelo térmico arroja una significancia estadística de 0,00 que es inferior a 0.05, que es el nivel de confianza al que se trabajó el presente estudio, por lo tanto existen diferencias significativas entre los 6 grupos de tratamiento, bajo este modelo.

CUADRO Nro 25

ANOVA del tiempo de reacción (segundos) tras los 120 minutos después de la administración de los geles y extractos en estudio

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	18.607	5	3.721	8.913	0.000
Intra-grupos	10.020	24	0.418		
Total	28.628	29			

Fuente: Elaboración propia

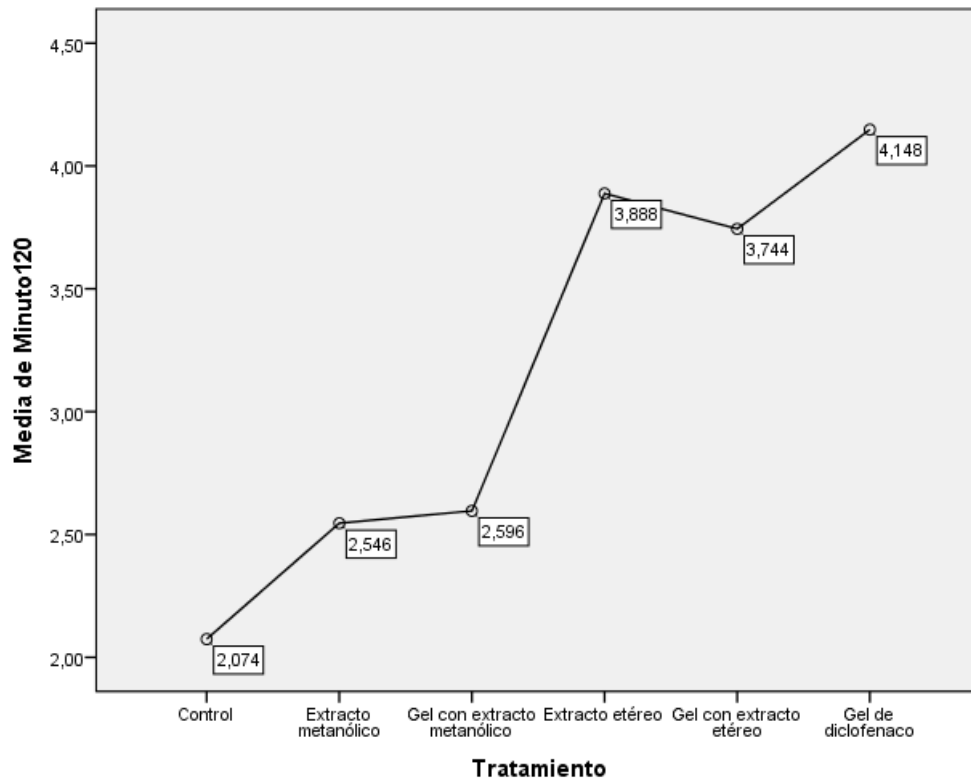


FIGURA Nro 30. Promedios de los tiempos de reacción a los 120 minutos después de la administración de geles y extractos de chilca en el modelo térmico

El Test de Tukey (**CUADRO Nro 26**) aplicado a los datos recogidos a los 120 minutos bajo el modelo térmico, agrupa a los seis grupos de tratamiento en 3 subgrupos. El primer subgrupo está conformado por el grupo control, el grupo tratado con extracto metanólico, el grupo tratado con gel con extracto metanólico. El segundo subgrupo conformado por el grupo tratado con extracto metanólico, gel con extracto metanólico y gel con extracto etéreo. Y el tercer subgrupo conformado por el grupo tratado con extracto etéreo, gel con extracto etéreo y con gel de diclofenaco.

En cuanto a las diferencias entre subgrupos, las diferencias son claras para el grupo tratado con gel de diclofenaco y extracto etéreo; en cambio para grupo tratado con gel con extracto etéreo su eficacia diríamos que es intermedia ya que se ubica entre el grupo control y el subgrupo tres. Los grupos tratados con extracto y gel metanólicos la eficacia tampoco es clara y tiende hacia el grupo control.

CUADRO Nro 26

Resultados del Test de Tukey a los 120 minutos según modelo térmico

Tratamiento	Nro	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	5	2.0740		
Extracto metanólico	5	2.5460	2.5460	
Gel con extracto metanólico	5	2.5960	2.5960	
Gel con extracto etéreo	5		3.7440	3.7440
Extracto etéreo	5			3.8880
Gel de diclofenaco	5			4.1480

Fuente: Elaboración propia

3.4.2.4 Resultados obtenidos a los 180 minutos

A los 180 minutos (**CUADRO Nro 27**) se aprecia una respuesta de 3.94 segundos de tiempo de respuesta al estímulo doloroso para el grupo tratado con gel de diclofenaco, siendo este grupo con mayor promedio, de los seis grupos, seguido del grupo tratado con gel con extracto etéreo seguido muy cerca del grupo tratado con extracto etéreo, por su parte el grupo tratado con gel con extracto metanólico con 2,70, seguido del grupo con extracto metanólico con 2.28, luego y finalmente el grupo control con 2.39.

CUADRO Nro 27

Análisis estadístico del tiempo de reacción (segundos) tras los 180 minutos post administración de los geles y extractos en estudio

Grupo	Ratas	Promedio	Mediana	D.E.	Varianza	Mínimo	Máximo	Rango
Control	5	2.39	2.4700	0.27959	0.078	1.90	2.57	0.67
Extracto metanólico	5	2.28	2.1300	0.54801	0.300	1.71	3.05	1.34
Gel con extracto metanólico	5	2.70	2.6500	0.27289	0.074	2.43	3.02	0.59
Extracto etéreo	5	2.99	3.1000	0.40371	0.163	2.52	3.52	1.00
Gel con extracto etéreo	5	3.76	3.8400	0.24389	0.059	3.45	4.01	0.56
Gel de diclofenaco	5	3.94	3.7100	0.95041	0.903	3.10	5.55	2.45

Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza aplicado a los 180 minutos (**CUADRO Nro 28**) del modelo térmico arroja una significancia estadística de 0,00 inferior a 0.05, que es el nivel de confianza al que se trabajó el presente estudio, por lo tanto existen diferencias significativas entre los 6 grupos de tratamiento, bajo este modelo.

CUADRO Nro 28

ANOVA del tiempo de reacción (segundos) tras los 180 minutos después de la administración de los geles y extractos en estudio

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	12.148	5	2.430	9.234	0.000
Intra-grupos	6.315	24	0.263		
Total	18.463	29			

Fuente: Elaboración propia

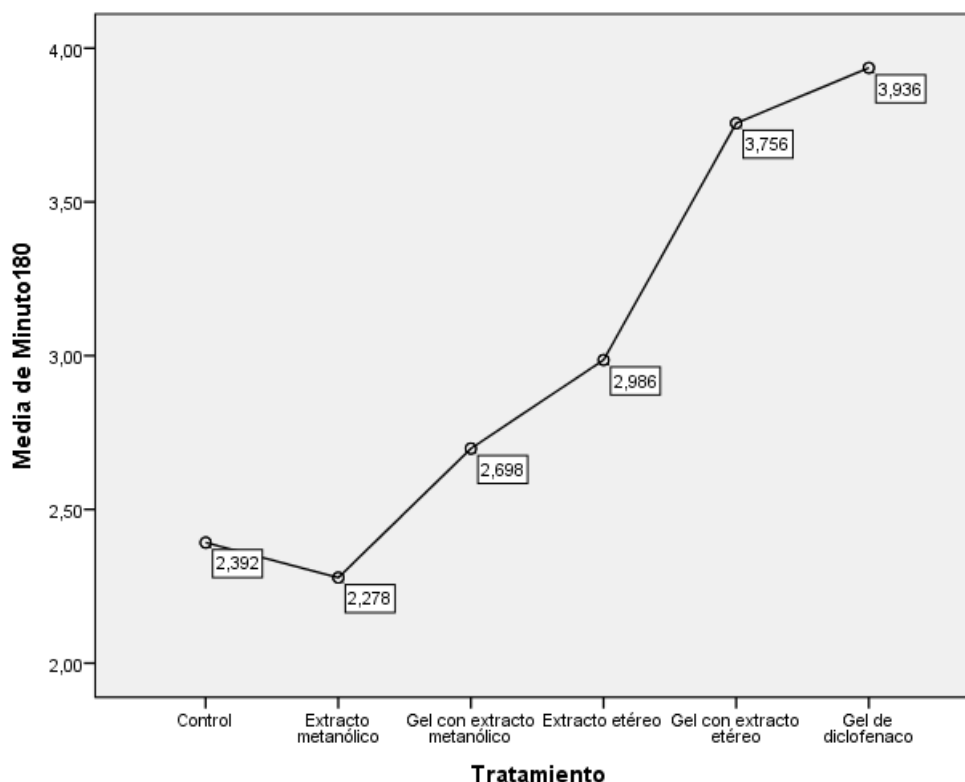


FIGURA Nro 31. Promedios de los tiempos de reacción a los 180 minutos después de la administración de geles y extractos de chilca en el modelo térmico

El Test de Tukey (CUADRO Nro 29) aplicado a los datos recogidos a los 180 minutos bajo el modelo térmico, agrupa a los seis grupos de tratamiento en 2 subgrupos. El primer subgrupo está conformado por el grupo control, el grupo tratado con extracto metanólico, gel con extracto metanólico y el grupo tratado con extracto etéreo. Y el segundo subgrupo está conformado por el grupo tratado con extracto etéreo, gel con extracto etéreo y con gel de diclofenaco. Ambos subgrupos difieren significativamente entre sí solo en tanto a estos dos últimos grupos (el de los geles) ya que el grupo tratado con extracto etéreo aparece tanto en el primer subconjunto como en el segundo.

Podemos concluir que a los 180 minutos quien muestra una eficacia comparable al grupo con diclofenaco es el grupo tratado con gel con extracto etéreo, el grupo tratado con extracto etéreo tiene una eficacia que decae ya que no es del todo clara (aparece en ambos subgrupos).

Como conclusión general podemos afirmar que el gel con extracto etéreo de chilca muestra eficacia analgésica similar a la del gel de diclofenaco, a diferencia del extracto solo.

CUADRO Nro 29

Resultados del Test de Tukey a los 180 minutos según modelo térmico

Tratamiento	Nro	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Extracto metanólico	5	2.2780	
Control	5	2.3920	
Gel con extracto metanólico	5	2.6980	
Extracto etéreo	5	2.9860	2.9860
Gel con extracto etéreo	5		3.7560
Gel de diclofenaco	5		3.9360

Fuente: Elaboración propia

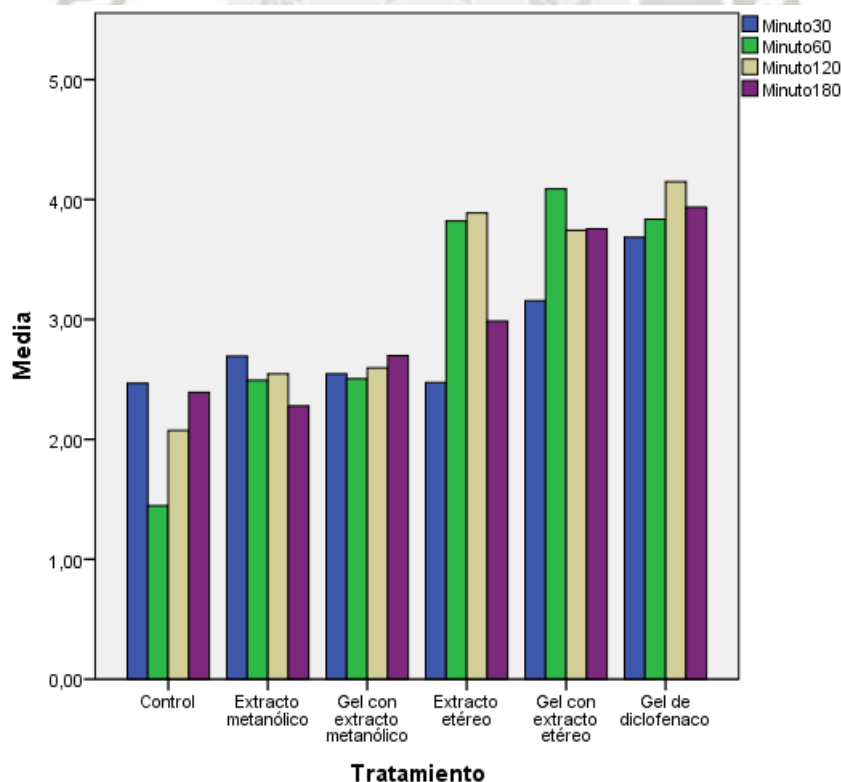


FIGURA Nro 32. Promedios de los tiempos de reacción al dolor según modelo térmico en los diferentes grupos de tratamiento luego de 30, 60, 120 y 180 min.

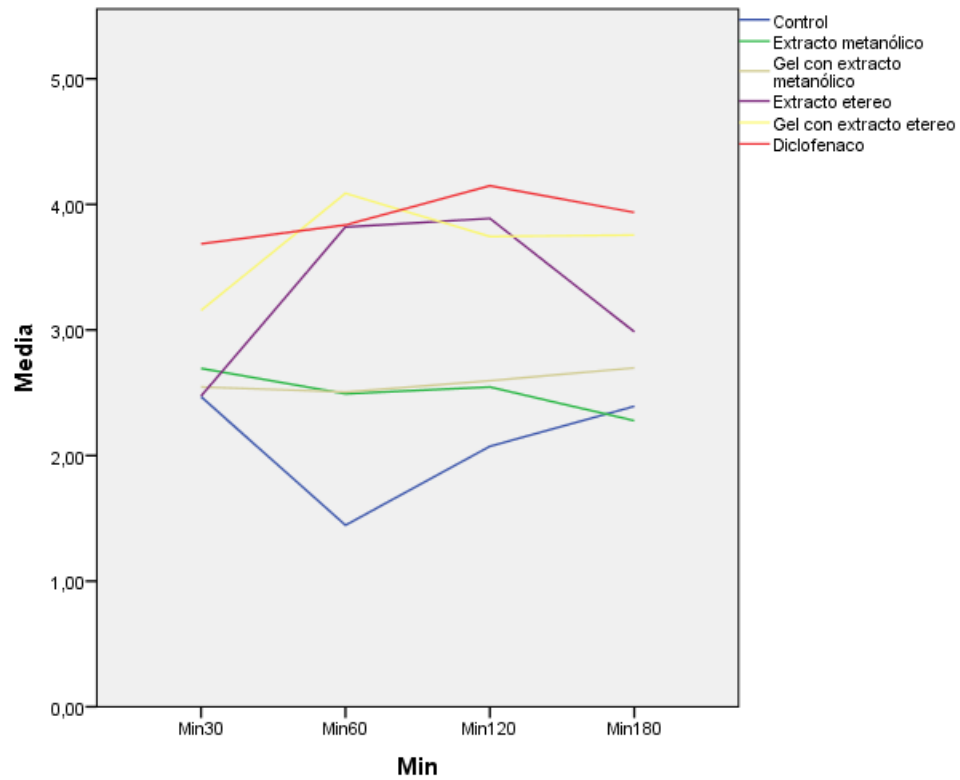
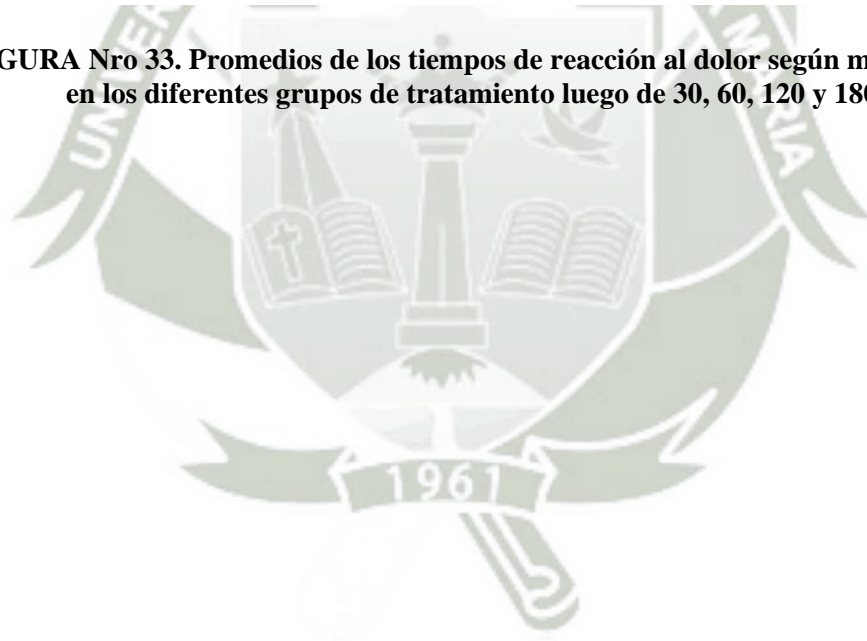


FIGURA Nro 33. Promedios de los tiempos de reacción al dolor según modelo térmico en los diferentes grupos de tratamiento luego de 30, 60, 120 y 180 min.



CONCLUSIONES

- 1°. Se obtuvieron los extractos: etéreo y metanólico mediante los métodos de Soxhlet y maceración respectivamente, a partir de las hojas de chilca.
- 2°. Mediante TLC se identificaron en ambos extractos terpenos, saponinas y flavonoides. Sólo en el extracto metanólico se identificaron taninos y esteroides, los flavonoides fueron mayores en el extracto metanólico, mientras que para el extracto etéreo predominaron las saponinas.
- 3°. Se formuló un hidrogel al 20% conteniendo el extracto metanólico y un cremigel conteniendo el extracto etéreo al 20%.
- 4°. Se evaluó la actividad analgésica de los extractos de las hojas de chilca y sus respectivos geles, a los 30, 60, 120 y 180 minutos luego de la inducción de dolor mediante un estímulo térmico en la cola del animal de laboratorio y un estímulo eléctrico mediante una jaula con malla eléctrica. Los resultados muestran que a través del modelo térmico se encontraron mejores resultados para el gel con extracto etéreo, ya que a partir de los 60 minutos hasta los 180 mostró una eficacia estadísticamente diferente al grupo control a un nivel de significancia igual a 0.05. Por su parte el grupo con extracto etéreo mostró eficacia diferente al grupo control solo en el minuto 60 y 120. Con relación al grupo con extracto metanólico y su respectivo gel no mostraron eficacia diferente al grupo control bajo este mismo último modelo y en el eléctrico sólo se observó actividad analgésica diferente al grupo control en el minuto 60.
- 5°. Al comparar la eficacia de las formas extractivas y de dosificación (gel y cremigel) de hojas de *Baccharis scandens* (chilca) con el grupo tratado con gel de diclofenaco, se encontró que el grupo tratado con gel con extracto etéreo bajo el modelo térmico presenta una eficacia estadísticamente similar a un nivel $\alpha=0.05$

con el grupo tratado con diclofenaco a los 60, 120 y 180 minutos; el grupo tratado con extracto etéreo tiene eficacia similar al diclofenaco bajo el mismo modelo sólo en el minuto 60. Los grupos tratados con extracto metanólico y gel con extracto metanólico no tienen una eficacia comparable al diclofenaco. Por otra parte en el modelo eléctrico todos los grupos de tratamiento experimental (extracto etéreo y metanólico con sus respectivos geles) no mostraron una eficacia similar y diferente del resto, al grupo con diclofenaco en los distintos tiempos.

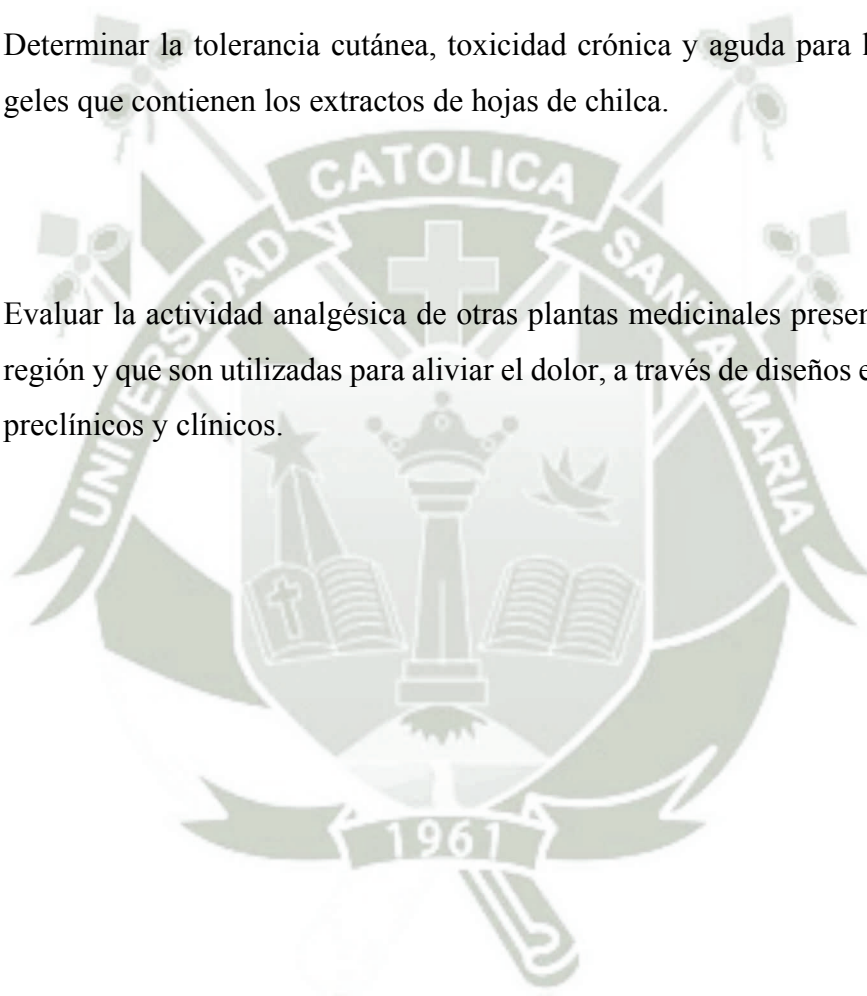


SUGERENCIAS

- 1°. Evaluar la actividad analgésica de los extractos de hojas de chilca mediante otros modelos experimentales, en otros animales de experimentación.

- 2°. Determinar la tolerancia cutánea, toxicidad crónica y aguda para los extractos y geles que contienen los extractos de hojas de chilca.

- 3°. Evaluar la actividad analgésica de otras plantas medicinales presentes en nuestra región y que son utilizadas para aliviar el dolor, a través de diseños experimentales preclínicos y clínicos.



BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios: Formulario Nacional. 1ª Edición. 2003. Ministerio de Sanidad y Consumo de España.
2. Aiyelero O, *et al.* Analgesic and Anti-inflammatory Properties of the Metanol Leaf Extract of *Ficus ingens* (Moraceae) in Rodents. Journal Pharmacology Science. Vol 8 Nro 2. Nigeria. 2009.
3. Aldave Pajares Augusto; Mostacero León José: Botánica Farmacéutica. 1ª Edición. 1988. Editorial Libertad. Lima, Perú.
4. Alvarado Alva J.: Apuntes de Farmacología. 3ª Edición, 2008. Editorial Apuntes Médicos del Perú, Lima-Perú.
5. Aulton M.E. (Editor): Pharmaceutics the Science of Dosage Form Design. 2ª Edition. 2004. Editorial Churchill Livingstone.
6. Bowman W.C. y Rand M.J.: Farmacología Bases Bioquímicas y Patológicas Aplicaciones Clínicas, 2ª Edición. 1984. Nueva Editorial Interamericana, México D.F.
7. Brack Egg Antonio: Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. 1ª Edición. 1999.
8. Boris Mónica y Toso Ricardo: Comparación de la Acción Antiinflamatoria y Analgésica del Polvo de *Salpichora organifolia* con Aines Utilizados en Medicina Veterinaria. Revista Sociedad Química del Perú. 2009.
9. Bravo Díaz Luis: Farmacognosia. 1ª Edición. 2003. Editorial Elsevier. Madrid, España.
10. Bruneton J.: Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ª Edición. 2001. Editorial Acribia S.A.
11. C. Rozman: Compendio de Medicina Interna, 2ª Edición. 2002. Ediciones Harcourt S.A.
12. Carruthers G. & Hoffman B. & Melmon K. & Nierenberg D.: Clinical Pharmacology. 4ª Edition, 2000. Editorial McGraw Hill.

13. Córdoba Palacios, Martínez Tellería A.: Diseño Práctico del Trabajo de Investigación del Dolor. V Reunión Científica de la SED y Jornada de Actualización del Dolor.2003.
14. Dagnino Jorge: Definiciones y Clasificación del Dolor, Boletín de Medicina. Universidad Católica de Chile. Vol 23. 1994.
15. Daniel Wayne: Bioestadística, Base Para El Análisis De Las Ciencias de la Salud. 4ª Edición, 2007. Editorial Limusa S.A. México.
16. Farreras Rozman: Medicina Interna, 13ª Edición. 2003. Editorial Elsevier.
17. Flórez Jesús: Farmacología Humana, 5ª Edición. 2008. Editorial Elsevier España.
18. Flores Vilca C.: Determinación de la Propiedad Analgésica de *Grindelia boliviana rusby* “chiri-chiri” y su Aplicación Como Gel en Animales de Experimentación. Universidad Católica de Santa María. 2011.
19. Ganong William: Fisiología Médica. 16ª Edición, 1998. Editorial el Manual Moderno. México.
20. García P. *et al*: Estudios Preliminares Sobre el Efecto Analgésico del Extracto de Hojas de *Ageratina glabrata* en Dos Modelos Térmicos de Dolor Agudo. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 42, núm. 1, Enero-Marzo, 2011.
21. Gutierrez García José Luis: Fisiopatología del Dolor. 2002.
22. Guyton Arthur: Texbook of Medical Physiology. 11ª Edición. 2006. Editorial Elsevier.
23. Harman J., Limbirt L. y Gilman A.: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 11ª Edición. 2008. McGraw-Hill Interamericana.
24. Harvey R. & Champe P. (Editors): Pharmacology. 4ª Edition, 2009. Lippincott Edition.
25. Hernández Sampieri R., Fernández Collado C.: Metodología de la Investigación, 5ª Edición, 2010. McGRAW HILL Interamericana Editores.
26. Kalant Harold & Roschlau Walter: Principios Básicos de Farmacología Médica. 6ª Edición, 2002. Editorial Oxford University Press. México.

27. Katzung Bertram G.: Farmacología Básica y Clínica. 11ª Edición, 2009. Editorial McGraw Hill Interamericana.
28. Kukllinski C.: Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural, 1ª Edición, 2000. Ediciones Omega S.A.
29. Lamarque Alicia (Coord.): Fundamentos Teórico Prácticos de Química Orgánica. 1ª Edición. Editorial Brujas. 2008.
30. Lock de Ugaz O.: Investigación Fitoquímica Métodos en el Estudio de Productos Naturales. 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
31. Lorenzo P., Moreno A., Leza J.C. y Moro M.A.: Velázquez Farmacología Básica y Clínica, 18ª Edición. 2009. Editorial Médica Panamericana.
32. Marcano Deanna y Hasegawa Masahisa: Fitoquímica Orgánica. 2ª Edición. 2002. Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
33. Miladiyah Isnatin *et al.* Analgesic Activity of Ethanolic Extract of *Manihot esculenta* Crantz Leaves in Mice. *Universa Medicinal* Vol 30. Nro 1. 2011.
34. Moreno Brea María: Inhibidores de la COX-2: Mecanismo de acción. *Revista Sedolor*, Reunión Científica de la Sociedad Española del Dolor. España 2000.
35. Mostacero J.; Mejia F.; Gamarra O.: Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. 1ª Edición. 2002. Editorial Normas Legales S.A.C. Perú.
36. Ocampo Rogelio y Otros: Curso Práctico de Química Orgánica Enfocado a Biología y Alimentos. 1ª Edición. 2008. Comité Editorial Universidad de Caldas.
37. Okokon Jude and Nwafor Paul. Antiinflammatory, Analgesic and Antipirectic Activities of Ethanolic Root Extract of *Croton zambesicus*. Department of Pharmacology and Toxicology, University of Uyo, Nigeria. 2010.
38. Perez Manuel: Manual de Técnicas de Investigación Programa Interamericano de Ciencia y Tecnología Para el Desarrollo. 1993
39. Perez Molina I.: Dolor Neuropático, Servicio de Neurología Toledo, España 2010.
40. Pérez Torres Hernán: Farmacología y Terapéutica Odontológica, 2ª Edición. 2005. Editorial Médica Celsus. Bogotá, Colombia.

41. Qnais Esam. The Analgesic Effect of the Ethanolic Extract of *Matricaria aurea*. Department of Biology and Biotechnology, Faculty of Science. University, Zarqa Jordan. 2009.
42. Rang H. & Dale M.: Pharmacology, 6^a Edition, 2007. Editorial Elsevier.
43. Salas Fabiola *et al*: Toxicidad Aguda y Actividad del Extracto Acuoso de Hojas de *Vismia baccifera* en Animales de Experimentación. Universidad de los Andes
44. Sotta Apaza Norma: Plantas Medicinales y Aromáticas de la Región Arequipa. 1^a Edición 2000. Ediciones CORDAID.
45. Sung Isable: Fitomedicina 1100 Plantas Medicinales. Tomo I. Lima Perú.
46. Tejada Cano M. (Director): Estudio de la Biodiversidad Cuenta del Cotahuasi: La Unión Arequipa Flora Medicinal. 1^a Edición. 1998. Asociación Especializada Para el Desarrollo.
47. Toro Vega Valentina: Evaluación de la Actividad Analgésica Aguda y Crónica de *Phytolacca dioica*. Tesis Universidad de Chile 2009.
48. Verlag Stuttgart: Manual de Química Orgánica. 19^a Edición 1988. Editorial Reverté S.A. España.
49. Hildebert Wagner *et al*: Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines. Volume 1. 2nd Edition. 2011. SpringerWienNewYork.
50. Hildebert Wagner and Sabine Bladt: Plant Drug Analysis, a Thin Layer Chromatography Atlas. 2nd Edition. 1996. Springer.
51. Virrueta Gómez C., Zegarra Manrique Y.: Determinación del Efecto Antimicótico y Antibacteriano *in vitro* de *Piper elongatum* "Matico" Frente a las Cepas de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Universidad Católica de Santa María. 2008.



ANEXO Nro 1. Modelo Eléctrico (Base de Datos)**Grupo Control: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos**

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	0.53	0.59	0.63	0.66
2	0.95	0.85	0.96	1.00
3	0.59	0.65	0.78	0.88
4	0.51	0.79	0.84	0.82
5	0.66	0.86	0.97	0.95

Grupo Extracto Metanólico: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	0.50	1.60	1.90	1.58
2	0.82	1.60	1.94	1.14
3	0.68	1.33	0.94	1.58
4	0.65	1.28	1.65	1.22
5	0.47	1.30	1.25	1.43

Grupo Gel con Extracto Metanólico: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	0.55	1.26	1.60	1.19
2	0.53	1.20	1.29	1.77
3	0.48	0.90	0.97	0.83
4	0.55	1.20	1.10	1.47
5	0.71	1.23	1.33	1.90

Grupo Extracto Etéreo: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	0.81	1.50	1.87	1.59
2	0.49	1.25	1.99	1.02
3	0.63	1.33	0.99	1.64
4	0.57	1.17	1.66	0.92
5	0.65	1.36	1.27	0.76

Grupo Gel con Extracto Etéreo: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	0.47	1.25	1.59	1.61
2	0.55	1.35	1.37	1.33
3	0.61	1.10	1.24	0.86
4	0.78	1.21	1.12	1.36
5	0.63	1.17	1.45	1.03

Grupo Gel con Diclofenaco: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	0.59	1.82	2.01	2.79
2	0.43	1.72	1.97	2.66
3	0.37	1.23	1.91	3.20
4	0.56	1.92	2.14	2.59
5	0.92	1.44	2.31	2.81

ANEXO Nro 2. Modelo Térmico (Base de Datos)

Grupo Control: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	2.71	1.74	1.88	2.56
2	2.58	1.44	2.35	2.46
3	1.74	0.86	1.49	1.90
4	2.72	1.75	2.58	2.57
5	2.59	1.44	2.07	2.47

Grupo Extracto Metanólico: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	2.46	2.31	2.43	1.71
2	2.54	2.65	2.21	1.89
3	2.88	2.64	2.59	2.61
4	2.28	2.30	2.71	3.05
5	3.31	2.56	2.79	2.13

Grupo Gel con Extracto Metanólico: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	2.36	2.13	2.68	2.65
2	1.77	2.66	2.74	2.45
3	3.31	2.75	2.62	3.02
4	3.13	2.71	2.53	2.94
5	2.16	2.28	2.41	2.43

Grupo Extracto Etéreo: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	2.26	3.21	3.43	2.52
2	2.14	3.65	3.81	2.65
3	2.16	3.64	4.20	3.52
4	2.36	3.30	3.99	3.10
5	3.45	5.30	4.01	3.14

Grupo Gel con Extracto Etéreo: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	3.16	3.85	3.85	3.55
2	2.87	3.65	3.64	3.45
3	3.23	5.07	3.89	4.01
4	3.08	3.61	3.63	3.84
5	3.44	4.26	3.71	3.93

Grupo Gel con Diclofenaco: Tiempos de reacción en segundos a distintos tiempos

Rata Nro	Minuto30	Minuto60	Minuto120	Minuto180
1	3.37	3.74	3.32	3.89
2	3.13	3.14	3.74	3.10
3	2.20	3.17	3.66	3.71
4	3.30	3.25	3.27	3.43
5	6.43	5.88	6.75	5.55