

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



“EFECTO ANTIINFLAMATORIO TÓPICO DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO DE *Buddleja globosa* (MATICO) Y *Genipa americana* (HUITO) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN – AREQUIPA 2018”

Tesis presentada por las Bachilleres:

Macedo Riquelme, Lizbeth Karla
Meza Triveños, Séfora Fabiola

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

Asesor:

Q.F. Torres Vela, Fernando Antero

Arequipa - Perú

2019

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

Expediente N°. 20180000052736

N° Trámite en Fac. 1777-2018
Fecha 10-12-2018

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL

DE: MACEDO RIQUELME, Lizbeth Karla
MEZA TRIVENOS, Séfora Fabiola

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

“EFECTO ANTIINFLAMATORIO TOPICO DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO DE
Buddleja globosa (MATICO) Y Genipa americana (HUITO) EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACION- AREQUIPA 2018”

DICTAMINADORES: 1) Dra. Jesús Zambrano Salas 2) Dra. Rita Nieto Montesinos

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por las recurrentes, se ha procedido a la revisión del trabajo de investigación y hechas las observaciones y sugerencias correspondientes, consideramos que se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad
Atentamente

Firmas :




Fecha 07/01/2019

ASESOR: Q. F. Fernando Torres Vela

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

Firma



Fecha 25-06-2019

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) Dra. Gaby Velasco Lozano
- 2) Dra. Rita Nieto Montesinos
- 3) Mgter. Maria Elena Guillen Núñez

DICTAMEN DE BORRADOR:

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

Firma



Fecha 28-08-2019

JURADOS: Presidente DRA. GABY VELASCO LOZANO
Vocal MA G. MARIA ELENA GUILLEN NUÑEZ
Secretario DRA. RITA NIETO MONTESINOS

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha: 11/9/19

Hora: 19.00

Local: C- 402 (SUM)

DECANO



DEDICATORIA

A Dios, por darme fuerza y salud para seguir adelante y ayudarme a cumplir mis sueños.

A mis padres Celestino y Guillermina por brindarme su amor y apoyo incondicional en todo momento.

A mi hermano Ronald por su apoyo y comprensión.

A mi amiga Fabiola por brindarme su amistad, cariño y comprensión.

Y a mi persona favorita, por brindarme su apoyo en todo momento y por motivarme a ser mejor cada día.

Lizbeth. Karla

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

A mi Padre Fabio Meza Zela y a mi madre Séfora Triveños Félix por su amor, cariño, comprensión, paciencia y su apoyo incondicional en la parte moral y económica para poder ser un profesional.

A mis Hermanos Favio Shesman y Mary Cielo por su apoyo y paciencia.

A mi compañero de vida Tycho por sus consejos, paciencia y a mi princesa mi hija Massiel por motivarme a ser mejor cada día

En especial a mi gran amiga Lizbeth Karla por su cariño, comprensión y paciencia.

Séfora Fabiola

AGRADECIMIENTO

Agradecemos principalmente a Dios por habernos guiado a lo largo de nuestra carrera, y por darnos la fortaleza necesaria para cumplir este objetivo.

Al Dr. Fernando Torres Vela, quien es una gran persona, nuestro asesor y nos orientó en la elaboración del presente trabajo de investigación.

A los Doctores de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por sus enseñanzas y consejos que nos orientaron en nuestra formación profesional.

En especial a la Mgter. María Elena Guillen Núñez, por sus enseñanzas y consejos que nos sirvieron en toda nuestra formación profesional.

A la Dra. Gaby Velasco Lozano; Mgter. María Elena Guillen Núñez y Dra. Rita Nieto Montesinos, nuestro especial agradecimiento por sus consejos que nos sirvieron para culminar el presente trabajo de investigación.

Lizbeth Karla y Séfora Fabiola

ÍNDICE

RESUMEN	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUCCIÓN	xi
OBJETIVOS	xiii
HIPÓTESIS	xiv
CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO	1
1. MATICO <i>Buddleja globosa</i>	1
1.2. Clasificación taxonómica	2
1.3. Composición química.....	2
1.4. Usos tradicionales	3
2. HUITO <i>Genipa americana</i>	3
2.2. Clasificación taxonómica	4
2.3. Composición química.....	4
2.4. Usos tradicionales	5
3. INFLAMACIÓN	5
3.1. Signos clínicos de la inflamación.....	6
3.2. Clasificación de la inflamación	7
4. INFLAMACIÓN EXPERIMENTAL (MÉTODOS)	8
4.1. Inactivación de radicales superóxidos (O ₂ [*])	8
4.2. Efecto sobre la síntesis de prostaglandinas “in vivo”.....	9
4.3. Edema plantar inducido por carragenina en ratas.....	9
4.4. Carragenina	9
5. GEL	10
6. EXTRACCIÓN POR SOXHLET	11
7. PLETISMOMETRO	12
CAPÍTULO II	13
MATERIALES Y MÉTODOS	13
1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN.....	13

2. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	13
3. MATERIALES.....	13
4. MÉTODOS.....	16
4.1. Recolección y acondicionamiento de <i>Buddleja globosa</i> (MATICO) y <i>Genipa americana</i> (HUITO).....	16
4.1.1 Recolección.....	16
4.1.2 Selección y lavado.....	16
4.1.3 Trituración	16
4.2. Obtención de extractos por Soxhlet	17
4.2.1. Fundamento	17
4.3. Identificación de metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina (TLC).....	17
4.3.1. Fundamento	17
4.4. Elaboración de extractos y geles	22
4.5. Producción y medición de la inflamación	23
4.5.1. Fundamento	23
4.6. Realización de la Prueba Piloto en hojas de <i>Buddleja globosa</i> (MATICO) y frutos de <i>Genipa americana</i> (HUITO).....	25
4.7. Determinación del efecto antiinflamatorio de los geles a base de extractos de las hojas de <i>Buddleja globosa</i> (MATICO) y frutos de <i>Genipa americana</i> (HUITO).....	26
4.8. Estadística.....	26
CAPITULO III.....	28
RESULTADOS Y DISCUSION	28
1. Identificación del material biológico.....	28
2. Obtención y concentración de los extractos de <i>Buddleja globosa</i> (MATICO) y <i>Genipa americana</i> (HUITO)	29
3. Resultados de la prueba piloto para evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto fluido y geles de <i>Buddleja globosa</i> (MATICO) y <i>Genipa americana</i> (HUITO)..	30
4. Identificación de los componentes fitoquímicos de <i>Buddleja globosa</i> (MATICO) y <i>Genipa americana</i> (HUITO)	36
4.1. Taninos	36
4.1.1. <i>Buddleja globosa</i> (MATICO).....	36
4.1.2 <i>Genipa americana</i> (HUITO).....	36
4.2. Flavonoides	38

4.2.1. <i>Buddleja globosa</i> (MATICO).....	38
4.2.2 <i>Genipa americana</i> (HUITO).....	38
4.3. Terpenos	39
4.3.1. <i>Buddleja globosa</i> (MATICO).....	39
4.3.2 <i>Genipa americana</i> (HUITO).....	39
4.4. Alcaloides.....	41
4.5. Aucubina en <i>Buddleja globosa</i> (MATICO).....	41
4.6. Geniposido en <i>Genipa americana</i> (HUITO).....	42
5. Producción de geles a base del extracto de <i>Buddleja globosa</i> (MATICO) y <i>Genipa americana</i> (HUITO).....	43
6. Determinación del efecto antiinflamatorio tópico del gel a base del extracto de <i>Buddleja globosa</i> (MATICO) y <i>Genipa americana</i> (HUITO) en animales de experimentación	44
CONCLUSIONES.....	60
RECOMENDACIONES.....	61
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
ANEXOS	68



RESUMEN

La medicina alternativa contribuye en la solución de problemas en la Salud Pública, los cuales son tan críticos como la falta de medicamentos o la cantidad de efectos adversos, sin embargo, actualmente se están realizando estudios para evaluar las propiedades de las diferentes plantas medicinales, es así que en el presente trabajo de investigación, se tiene como objetivo determinar el efecto antiinflamatorio tópico de los geles a base de extracto de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) en ratas albinas.

La metodología empleada se realizó a través de extracción por el método de Soxhlet, posteriormente se realizó el tamizaje fitoquímico de dichas plantas identificándose por cromatografía de capa fina la presencia de taninos, flavonoides, terpenos y aucubina en el extracto de *Buddleja globosa* (MATICO), en tanto, en el extracto de *Genipa americana* (HUITO), se identificaron la presencia de flavonoides, terpenos y geniposidos. Para determinar el efecto antiinflamatorio, se trabajó con 7 grupos experimentales denominados Control positivo - diclofenaco 1% (CP), Control Negativo - gel base (CN), Gel de HUITO al 20% (H20%), Gel de HUITO al 30% (H30%), Gel de MATICO al 20% (M20%), Gel de MATICO al 30% (M30%) y Gel mix de MATICO y HUITO al 20% (GMx20%). La inflamación fue producida tras la administración de 0.2mL de carragenina al 1% en la región subplantar de la pata

posterior derecha de las ratas, la máxima inflamación fue registrada a las 3 horas tiempo en el cual se les administraron los geles de los extractos y en seguida se midieron la inflamación cada hora por 4 horas haciendo uso de un Pletismómetro digital.

Los resultados según el análisis gráfico de las líneas de tendencia del porcentaje de inflamación en función del tiempo, se determinó que los geles a base de extractos de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO), poseen efecto antiinflamatorio en el siguiente orden CP > H30% > M30% > H20% > M20% > GMx20% > CN.

Se concluye que al realizar un análisis estadístico ANOVA al 95% de confianza todos los geles individuales poseen el mismo potencial antiinflamatorio, sin embargo, las concentraciones de H20% y H30% no difieren significativamente al efecto antiinflamatorio encontrado del diclofenaco. Además, los resultados de la aplicación del gel mix (extracto de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO)), en el grupo GMx20%, muestran que el efecto antiinflamatorio de ambas plantas no se incrementa al aplicarlos en conjunto.

Palabras clave: *Genipa americana*, *Buddleja globosa*, inflamación, carragenina, geniposido, aucubina

ABSTRACT

Alternative medicine contributes to the solution of problems in Public Health, which are as critical as the lack of medications or the amount of adverse effects, however, studies are currently underway to evaluate the properties of different medicinal plants, it is So in the present research work, the objective is to determine the topical anti-inflammatory effect of gels based on *Buddleja globosa* extract (MATICO) and *Genipa americana* (HUITO) in albino rats.

The methodology used was carried out through extraction by the Soxhlet method, subsequently phytochemical screening of these plants was carried out, identifying the presence of tannins, flavonoids, terpenes and aucubin in the extract of *Buddleja globosa* (MATICO), by thin layer chromatography. Meanwhile, in the extract of *Genipa americana* (HUITO), the presence of flavonoids, terpenes and geniposides were identified. To determine the anti-inflammatory effect, we worked with 7 experimental groups called Positive Control - 1% diclofenac (CP), Negative Control - base gel (CN), 20% HUITO Gel (H20%), 30% HUITO Gel (H30%), 20% MATICO Gel (M20%), 30% MATICO Gel (M30%) and 20% MATICO and HUITO Gel mix (GMx20%). The inflammation was produced after the administration of 0.2mL of 1% carrageen in the subplantar region of the right hind leg of the rats, the maximum inflammation was recorded at 3 hours in which time the gels of the extracts were administered and The inflammation was then measured every hour for 4 hours using a

digital plethysmometer.

The results according to the graphic analysis of the trend lines of the percentage of inflammation as a function of time, it was determined that gels based on extracts of *Genipa americana* (HUITO) and *Buddleja globosa* (MATICO), have an anti-inflammatory effect in the following order CP > H30% > M30% > H20% > M20% > GMx20% > CN.

It is concluded that when performing an ANOVA statistical analysis at 95% confidence, all the individual gels affected the same anti-inflammatory potential, however, the concentrations of H20% and H30% do not differ significantly from the anti-inflammatory effect found in diclofenac. In addition, the results of the application of the gel mix (extract of *Genipa americana* (HUITO) and *Buddleja globosa* (MATICO)), in the GMx20% group, show the anti-inflammatory effect of both plants does not increase when applied together.

Keywords: *Genipa americana*, *Buddleja globosa*, inflammation, carrageenan, geniposide, aucubin.

INTRODUCCIÓN

Se conoce que los lugareños de Tambopata utilizan la *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) como emplasto para desinflamar golpes, torceduras; y es por esta razón que decidimos estudiar el efecto antiinflamatorio de estas especies.

La Medicina Alternativa contribuye en la solución de problemas en la Salud Pública, los cuales son tan críticos como la falta de medicamentos, además de los altos precios de estos, en el mercado nacional e internacional que los hace inalcanzables para aquellas personas de menores recursos económicos, así como la gran diversidad de manifestaciones adversas y el incremento de interacciones medicamentosas (1).

Se sabe que el Perú al ser un país mega diverso posee diversas especies vegetales que podrían presentar actividad farmacológica, sin embargo, hasta la fecha existen muchas especies vegetales que aún no se han estudiado o hay muy poca información sobre sus posibles efectos benéficos ya sea individual o en asociaciones (2). El uso de fármacos como antiinflamatorios no esteroideos son usados para el tratamiento de lesiones, contusiones, desgarros que a su vez van acompañados de relajantes musculares como el pridinol mesilato, que muchas veces resultan presentar efectos secundarios no deseados (3). Desde la antigüedad las poblaciones se valieron en el uso de diversas plantas para tratar enfermedades y en la actualidad dicha actividad se sigue dando por los resultados positivos que generan. Por otro lado, el uso de especies vegetales para tratar signos, síntomas, así como infecciones, muchas veces se da lugar debido a que en zonas alejadas de la ciudad no hay acceso a medicamentos (4). Actualmente se están realizando estudios para evaluar los efectos de las diferentes plantas medicinales de acuerdo al uso popular que se les atribuye, e investigando los principios activos responsables de una determinada acción farmacológica y los metabolitos secundarios que presentan (4). Por lo expuesto es necesario realizar estudios en laboratorio para evaluar tanto el efecto farmacológico individual como en conjunto de diversas especies vegetales que

presenten propiedades farmacológicas similares, con el fin de demostrar, si existe sinergismo entre ellas para potenciar un efecto dado.



OBJETIVOS

A. Objetivo general

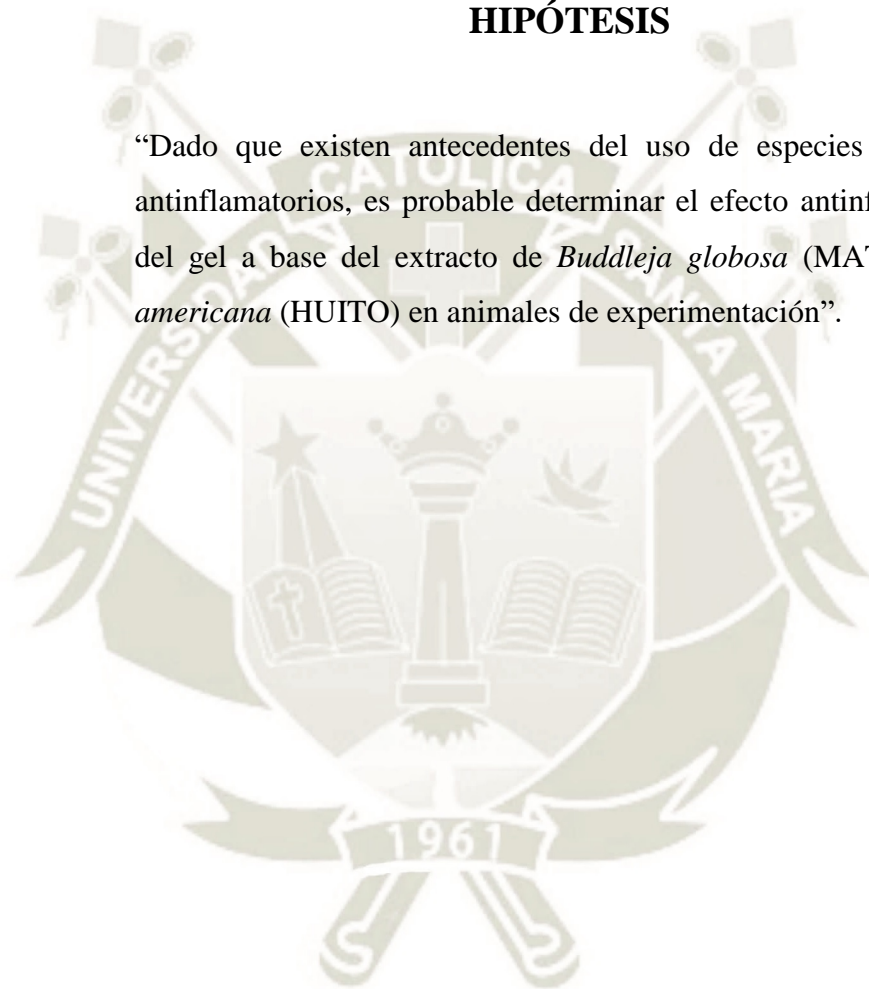
Determinar el efecto antiinflamatorio tópico del gel a base del extracto de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) en animales de experimentación.

B. Objetivos específicos

1. Identificar los componentes fitoquímicos presentes en los extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO).
2. Determinar el efecto antiinflamatorio tópico de los extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) en animales de experimentación.
3. Determinar el efecto antiinflamatorio tópico del gel a base de los extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) en animales de experimentación comparado con diclofenaco al 1 %.

HIPÓTESIS

“Dado que existen antecedentes del uso de especies vegetales como antiinflamatorios, es probable determinar el efecto antiinflamatorio tópico del gel a base del extracto de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) en animales de experimentación”.



CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. MATICO *Buddleja globosa*

1.1. Descripción

El MATICO es una planta oriunda de América del Sur crece entre 2600-2700 msnm, prefiere los sitios húmedos, las orillas de los riachuelos y fangos (5).

B. globosa Hope es un arbusto de 1,5 a 3 metros de altura con ramas jóvenes pubescentes amarillentas. Sus hojas son opuestas, lanceoladas y agudas, de 3 a 15 cm de ancho. La inflorescencia es en mono o bicabezuela, de 1 a 2 cm de diámetro, formando un racimo de 2 a 15 cabezuelas. Sus flores son numerosas, compactas, de color anaranjado, amarillo y rojo. El fruto es una capsula subglobosa. Florece desde noviembre a mayo (Navas, 1979) (5).

Algunos nombres comunes del MATICO son MATICO piper, palguil o pañil (6).



Figura N°1. *Buddleja globosa* (MATICO)

1.2. Clasificación taxonómica

Tabla N° 1 Clasificación taxonómica de *Buddleja globosa* (MATICO)

Reino:	<i>Plantae</i>
Familia:	<i>Buddlejaceae</i>
Género:	<i>Buddleja</i>
Especie:	<i>B. globosa</i>
Nombre Científico:	<i>Buddleja globosa</i> Hope (7)

1.3. Composición química

El componente activo más importante en la planta, desde el punto de vista cuantitativo y al que se atribuye en partes sus virtudes cicatrizantes, es el tanino. Esta sustancia se encuentra en una concentración de 5.7%. también contiene cumarinas, flavonoides, alcaloides, esteroides, triterpenos, saponinas y fenoles (8).

1.4. Usos tradicionales

La medicina tradicional la ha utilizado como infusión de las hojas y corteza en el tratamiento de quemaduras, úlceras internas y externas y en la cicatrización de heridas (9).

El decocto de las hojas es utilizado para lavar heridas y las hojas pulverizadas para curar úlceras y viejas heridas. La infusión de las hojas se administra oralmente para tratar disentería crónica, hemorroides, hepatitis y catarro. También se ha descrito el uso de jugos e infusiones de las hojas para el tratamiento de úlceras y verrugas. La infusión de las hojas también se ha empelado como antiséptico urogenital (10).

2. HUITO *Genipa americana*

2.1. Descripción

El HUITO es un arbusto que pertenece a la familia de las rubiaceae. Es una especie nativa bastante común en la región amazónica del Perú, Brasil, Venezuela y Colombia en la mayor parte de la cuenca de las amazonas, los árboles florecen de mayo a septiembre y dan frutos entre septiembre y abril. Los frutos tardan hasta un año para madurar (11).



Figura N°2. *Genipa americana* (HUITO)

La *Genipa americana* (*G. americana*) es un árbol de tamaño pequeño a mediano, de 8 a 20 m de altura, sin embargo, se encuentran especímenes de hasta 30 metros de altura. El diámetro del tronco es de 30 a 80 cm y tiene una

corteza gruesa y suave (11).

Cuenta con una copa densa y las ramas más bajas crecen más o menos en forma

horizontal, con 10 a 35 hojas en los extremos. En la mayoría de los árboles, las

abejas polinizan las flores. Su fruto es grande, tipo baya con alta tasa de germinación (12).

Algunos nombres comunes del HUITO son, yaguayagua (Perú); jenipapo, jenipapeiro (Brasil); bigrand (Bolivia); jagua (Colombia y Ecuador); caruto; xagua (Venezuela), genipap (inglés) (13,14).

2.2. Clasificación taxonómica

Tabla N° 2 Clasificación taxonómica de *Genipa americana* (HUITO)

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Asteridae</i>
Orden:	<i>Gentianales</i>
Familia:	<i>Rubiaceae</i>
Género:	<i>Genipa</i>
Especie:	<i>Genipa americana</i> L. (12)

2.3. Composición química

El fruto de HUITO, se caracteriza por el sabor ácido y aroma afrutado. Se detectaron los principales ácidos, como el octanoico (34,1%), 2-metilbutírico (9,1%), hexanoico (18,2%) y 2-metil-éster 2-(E)-butenoato de metilo (4, 1%), octanoato (3,2%) y 2-propilfurano (2,5%) y ácidos butírico, ácido 2-

metilbutírico y hexanoico responsable de las notas amargas y el sabor a fruta característico se atribuyó a la presencia del éster de 2 - y 3-metilbutirato de etilo (15).

2.4. Usos tradicionales

La pulpa se utiliza contra la ictericia, enfermedades del estómago, el bazo y el hígado. Hay referencias a la goma extraída de la *G. americana* tiene propiedades anticonvulsivas. El té de la raíz se utiliza como purgante, las semillas trituradas como emético, el té de las hojas como antidiarreico, la fruta verde se ralla para los asmáticos, y el zumo de la fruta madura es tónico estomacal y diurético (13,14).

3. INFLAMACIÓN

El cirujano escocés Hunter, destacó un aspecto que en la actualidad es considerado obvio: “La inflamación no es una enfermedad, sino una respuesta inespecífica que produce un efecto saludable en el organismo en que tiene lugar”, No obstante, el primero en detallar los cuatro signos cardinales de la inflamación fue Celsus (escritor romano del siglo I d.c.). Luego Virchow añadió el quinto signo clínico; actualmente se pueden reconocer que los cinco signos cardinales de la inflamación son: rubor, tumor, calor, dolor e impotencia funcional (signo de Virchow) (16).

Los autores de la actual revisión creen conveniente aclarar que los eventos vasculares, así como otros, no ocurren paso por paso, sino que se desarrollan colocándose uno sobre otro, prácticamente de manera simultánea. Sin embargo, continúan manifestándose de manera secuencial. Estos son: (16) (17)

1. Vasodilatación arteriolar y capilar, que provoca la apertura de capilares y vénulas, inducida por la acción de diferentes mediadores sobre el músculo liso vascular, principalmente histamina y óxido nítrico (16).
2. Aumento del flujo sanguíneo (hiperemia) por las arteriolas, que es la causa de la aparición de eritema (rubor) en el sitio de la inflamación (16).

3. Aumento de la permeabilidad de la microvasculatura, salida de un exudado inflamatorio hacia los tejidos extravasculares y aparición de edema inflamatorio (16).
4. Acumulación anormal y excesiva de sangre, la salida de líquido provoca un aumento de la viscosidad de la sangre, lo cual aumenta la concentración de los glóbulos rojos (congestión venosa) (16).
5. Disminución de la velocidad de la sangre en pequeños vasos (estasis sanguínea) (16).
6. Acumulación periférica de los leucocitos, marginación y pavimentación leucocitaria (16).
7. Al mismo tiempo, las células endoteliales son activadas por los mediadores de la inflamación, expresando moléculas en sus membranas que favorecen la adhesión de los leucocitos, fundamentalmente los neutrófilos polimorfonucleares (PMN) (16).
8. Paso de leucocitos (PMN en primer lugar, seguidos por los macrófagos) desde los vasos al intersticio: migración celular, con formación del infiltrado inflamatorio (17).

3.1. Signos clínicos de la inflamación

Los signos característicos de la inflamación son:

- a. Calor: o aumento local de la temperatura secundario a vasodilatación, y aumento de consumo local de oxígeno.
- b. Rubor: producido por el aumento de irrigación en la zona afectada, por incremento del flujo sanguíneo.
- c. Dolor: provocado por distensión de los tejidos y liberación de prostaglandinas como mediadores químicos.
- d. Edema: resultante del aumento de la permeabilidad capilar y consiguiente sufusión de líquido en el tejido intersticial.

A estos signos Rudolf Virchow, médico alemán, les sumó un quinto signo clínico, *function laesa*, que es la pérdida de funcionalidad, resultante de la limitación a la que conduce la conjugación de los cuatro signos ya

mencionados (18).

3.2. Clasificación de la inflamación

La clasificación de la inflamación se realiza tomando en cuenta el tiempo de duración, carácter del exudado, etiología, características morfológicas y localización:

1. Por la duración pueden ser:

- a) **Agudas:** Este tipo de inflamación es una respuesta inmediata al agente agresor cuya finalidad es liberar mediadores de defensa del organismo en el área de la lesión cuyo comienzo es rápido y cursa una duración corta (19).
- b) **Crónicas:** Es un proceso prolongado, existiendo en ese tiempo destrucción tisular, inflamación activa y un repetitivo intento de reparación (18).

2. Por el carácter del exudado pueden ser:

- a) **Trasudado:** se caracteriza por la presencia de líquido extravascular con bajo contenido proteico, producto de un ligero cambio en la permeabilidad vascular (18).
- b) **Exudado:** presencia de líquido inflamatorio extravascular con alto contenido proteico, lo cual denota bastante permeabilidad en los vasos sanguíneos (18).

3. Por la etiología, pueden ser:

- a) **Infecciosas:** ya sea por bacterias, virus, parásitos o por toxinas microbianas.
- b) **Traumáticas** como golpes intensos con respuesta inmediata o tardía, como ocurre con los esguinces o higromas (20).
- c) **Térmicas** resultantes de quemaduras por calor o congelamiento.
- d) **Irradiaciones.**
- e) **Por exposición a agentes químicos ambientales.**

- f) Necrosis tisular.
- g) Presencia de cuerpos extraños como astillas.
- h) Inmunitarias o reacciones de hipersensibilidad, a alérgenos comunes o procesos colagenopáticos (18).

4. Por sus características morfológicas, pueden ser:

- a) Serosa: por acúmulo de líquido tisular de bajo contenido proteico.
- b) Fibrinosa: con presencia de exudado con grandes cantidades de fibrinógeno.
- c) Supurativa o purulenta: se caracteriza por la producción de exudados purulentos que consta de leucocitos y células necróticas (19).
- d) Abscesos: presenta tejido inflamatorio purulento acompañado de necrosis licuefactiva.
- e) Úlceras: producidas por esfacelamiento de tejido necrótico inflamado.

5. Por su localización: Se dividen en:

- a) Focales: producidas en zonas y órganos específicos, en cuyo caso se utiliza el sufijo -itis, por ejemplo, faringitis, otitis, laringitis, conjuntivitis, peritonitis.
- b) Diseminados: resultado de la propagación de procesos inflamatorios persistentes ya sea por vía canalicular, fistulización o metástasis (18).

4. INFLAMACIÓN EXPERIMENTAL (MÉTODOS)

4.1. Inactivación de radicales superóxidos (O₂^{*})

El objetivo de esta prueba es valorar la cantidad de O₂^{*} generados a partir de macrófagos aislados de un exudado peritoneal formado por inyección intraperitoneal de aceite de parafina en cobayo. Después de tres días se extrae el exudado y se aíslan los macrófagos. (50) (51) (52) (53). Los O₂^{*} se

determinan espectrofotométricamente por disminución en la absorbancia de NADH como consecuencia de su oxidación a NAD⁺ en presencia de O₂^{*}. La disminución de la absorción es proporcional a la cantidad de O₂^{*} disponible en el medio de reacción (50) (51) (52) (53).

4.2. Efecto sobre la síntesis de prostaglandinas “in vivo”

Primero se induce una pleuritis experimental por inyección intrapleural de carragenina. El producto en estudio se administra una hora antes. Después de 24 horas los animales se sacrifican para extraerles el líquido pleural, el cual se centrifuga y se valora el contenido de PGE₂ por radioinmuno ensayo (RIA). Se compara la concentración media de PGE₂ en el exudado del grupo tratado con respecto al grupo control. (50) (51) (52) (53).

4.3. Edema plantar inducido por carragenina en ratas

Se basa en determinar la inhibición del edema inducido por carragenina en ratas tratadas con antiinflamatorios.

La pata posterior derecha se inyecta con 0.1 mL de carragenina al 1 % disuelto en una solución salina al 0,9 % en la región subplantar. Los extractos y la droga de referencia se aplican tópicamente dos horas después de la inyección de carragenina. La inflamación se cuantifica por medición del volumen desplazado por la pata, usando una columna de mercurio o un pletismómetro antes y 1, 3, 6, 12 y 24 horas después de aplicada la inyección de carragenina. La diferencia entre el volumen de la pata posterior derecha e izquierda indica el grado de inflamación. (50) (51) (52) (53).

4.4. Carragenina

La carragenina está ubicada en la pared de las células y en la matriz intercelular del tejido de las algas. Es un polisacárido de alto peso molecular con contenido de éster sulfato de 15% a 40% formado por unidades alternadas de D-galactosa y 3,6-anhidro-galactosa (3,6-AG) unidas por ligaduras α -1,3 y β -1,4-glucosídica. La posición y el número de grupos de éster sulfato, así como el contenido de 3,6-AG determinan las diferencias primarias entre los

tipos de carragenina kappa, iota y lambda. Los mayores niveles de éster sulfato implican en una menor fuerza de gelificación y baja temperatura de solubilización. La carragenina tipo kappa contiene de 25% a 30% de éster sulfato y de 28% a 35% de 3,6-AG. La carragenina tipo iota contiene de 28% a 35% de éster sulfato y de 25% a 30% de 3,6-AG. La carragenina tipo lambda contiene de 32% a 39% de éster sulfato y no contiene 3,6-AG (21).

La inflamación producida por la carragenina se debe fundamentalmente a que esta sustancia estimula la producción de prostaglandinas las cuales derivan del metabolismo del ácido araquidónico y promueven los procesos inflamatorios inmunológicos y angiogénicos. Para anular la inflamación producida por la carragenina puede usarse la Indometacina, un antiinflamatorio no esteroide que bloquea la síntesis de prostaglandinas (22).

5. GEL

Los geles o coloides transparentes son sistemas dispersos que se obtienen dispersando sustancias de naturaleza coloidal (generalmente polímeros) en un solvente (los más habituales son el agua y las soluciones hidroalcohólicas) (23).

5.1. Propiedades de los geles

Las principales propiedades de los geles son:

- Pueden presentar consistencia sólida o semisólida. Muchos geles fluidifican por agitación y al dejarlos en reposo un tiempo recobran su estructura de gel; este fenómeno se conoce con el nombre de tixotropía (24).
- Son elásticos, es decir, presentan la capacidad de recuperar su forma inicial tras una deformación ocasionada por la aplicación de una fuerza (24).
- En general tienen una buena extensibilidad, dando lugar a la formación de películas.
- Algunos de ellos tienen un tacto adhesivo.
- Son transparentes, aunque la transparencia varía según el polímero utilizado.

- Al estar constituidos en su mayor parte por agua son muy refrescantes.
- Admiten la incorporación de grandes cantidades de alcohol y otros disolventes hidromiscibles (24).
- Son estables en rangos muy concretos de pH, por lo que es importante realizar una correcta selección del polímero gelificante (24).

6. EXTRACCIÓN POR SOXHLET

El equipo Soxhlet tiene como función recircular los vapores condensados con ayuda de un sifón a la fuente de disolvente que se encuentra en evaporación continua, arrastrando consigo los principios activos de la materia prima contenido en los cartuchos desechables. La velocidad de reflujo depende directamente de la eficiencia y el tamaño del condensador (25).

Para la extracción con el equipo Soxhlet se deben tener en cuenta: la selección del solvente, la matriz sólida y las condiciones de operación.

Durante la extracción, la velocidad de reflujo depende directamente de la eficiencia y el tamaño del condensador.

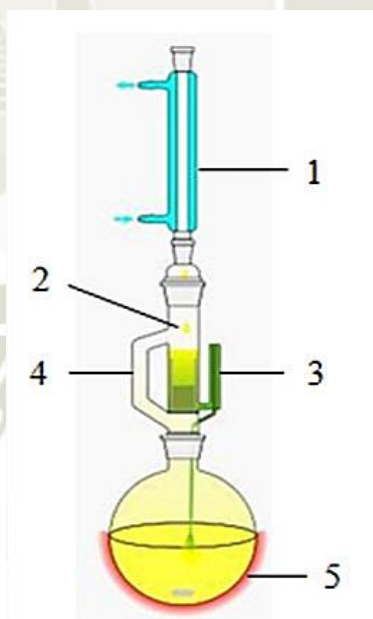


Figura N°3. Equipo Soxhlet (26)

La sustancia sólida se coloca en un cartucho poroso (generalmente hecho con papel de filtro, ya que este permite al solvente entrar y salir reteniendo al sólido) que se

introduce dentro del recipiente [2]. Se adosa un balón [5] a dicho recipiente donde se coloca el volumen de solvente que se usará en la extracción. Por el extremo superior de la cámara [2], se coloca un condensador [1]. El solvente se calienta, los vapores ascienden por el tubo [4], condensan en el refrigerante [1] y caen dentro de la cámara [2] impregnando al sólido que se encuentra en el cartucho [2]. La cámara [2] se va llenando lentamente de líquido hasta que llega al tope del sifón [3] y se descarga dentro del balón [5] repite automáticamente hasta que la extracción se completa. El solvente de extracción se evapora, recuperando así a la sustancia deseada (25).

7. PLETISMOMETRO

Es un instrumento utilizado para determinar la variación de volumen de las extremidades de roedores, midiendo la variación de nivel de líquido al introducir la extremidad en un depósito. La prueba del Pletismómetro permite el seguimiento de la evolución del proceso inflamatorio inducido experimentalmente en la pata de roedores y así detectar las propiedades antiinflamatorias o anti edema de sustancias farmacológicas. Básicamente, el transductor de volumen se compone de 2 depósitos de metacrilato interconectados (vasija volumétrica y sensora) y llenados con una solución conductora. La introducción de la pata del animal en la vasija volumétrica cambia el nivel de líquido y la conductividad entre dos electrodos de platino previamente introducidos en la vasija sensora. Este cambio de conductividad entre los dos electrodos genera una señal de salida indicando el valor del volumen desplazado y por consecuencia el volumen de la pata (1) (23).

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio H-103 y en el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño del presente trabajo es prospectivo y experimental fue planteado tras la realización de una prueba piloto en donde se evaluaron los efectos antiinflamatorios de diferentes extractos y concentraciones de las hojas de *Buddleja globosa* (MATICO) y el fruto de *Genipa americana* (HUITO).

Posteriormente, para el desarrollo de la investigación se trabajó con 7 grupos experimentales como se detalla en la tabla N°3.

3. MATERIALES

3.1. Material biológico

Se realizó la investigación con hojas de *Buddleja globosa* (MATICO) y con el fruto de *Genipa americana* (HUITO), dichos productos fueron recolectados de la comunidad de Sol naciente Fundo *Scinax pedromedinae* ubicado en el

kilómetro 4.5 del distrito de Tambopata, provincia de Tambopata y departamento de Madre de Dios.

Se trabajó para la prueba piloto con 13 ratas machos de la especie *Rattus norvegicus* de un peso promedio de 270 ± 10 g y 4 meses de edad aproximadamente, para trabajar con extractos a diferentes concentraciones para poder determinar que concentración se utilizara en la parte experimental. Por otra parte, se trabajó con un total de 35 ratas machos de la especie *Rattus norvegicus* de un peso promedio de 280 ± 10 g y 4 meses de edad aproximadamente, las cuales fueron divididas al azar en 7 grupos experimentales y distribuidas de la siguiente manera.

Tabla N°3. Grupos de experimentación

Grupos	Denominación
Control positivo	CP
Control negativo	CN
Gel de HUITO 20%	H20%
Gel de HUITO 30%	H30%
Gel de MATICO 20%	M20%
Gel de MATICO30%	M30%
Gel mix (MATICO + HUITO) 20%	GMx20%

Fuente: Elaboración propia

3.2. Material de vidrio y equipos de laboratorio

- Baguetas
- Balón
- Beacker
- Capilares
- Cuba cromatográfica
- Embudo de vidrio
- Mechero bunsen
- Pipetas
- Placas de silica gel

- Probetas
- Termómetro
- Vasos precipitados
- Balanza analítica (Ohaus Pionner Tm)
- Cocina eléctrica
- Equipo de extracción Soxhlet
- Estufa esterilizadora 854 (Shwabach –Germany)
- Lámpara de luz ultravioleta (Camag)
- Pletismometro digital LE7500
- Rotaevaporador (Buchz Switzerland R-114)

3.3. Reactivos e insumos

- Acetato de etilo (J.T Baker)
- Ácido acético
- Ácido fórmico (Merck)
- Agua destilada
- Carbopol 940
- Carragenina
- Cloroformo (ACS J.T. Baker)
- Cloruro de aluminio (Riedel-D-Haen)
- Cloruro de sodio
- Cloruro férrico (Merck)
- Diclofenaco 1% (Farminustria)
- Etanol al 96%
- Éter de petróleo (ACS J.T. Baker)
- Metanol (Merck)
- Metilparabeno (Nequinsa)
- Propilenglicol (Merck)
- Solución de Tritón
- Trietanolamina (Merck)
- Tolueno

4. MÉTODOS

4.1. Recolección y acondicionamiento de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

4.1.1 Recolección

Las hojas de *Buddleja globosa* (MATICO) y el fruto de *Genipa americana* (HUITO), se recolectan de la comunidad de sol naciente Fundo Scinax *pedromedinae* ubicado en el kilómetro 4.5 del distrito de Tambopata, provincia de Tambopata y departamento de Madre de Dios.

Los productos se transportan en papel Kraft a las instalaciones de la Facultad de Biología (Herbarium Arequipense) de la Universidad Nacional San Agustín para realizar el reconocimiento taxonómico y a la Universidad Católica de Santa María para la estabilización (lavado y secado a temperatura ambiente de la planta y desarrollo del trabajo total de la tesis.

4.1.2 Selección y lavado

Para realizar la investigación, se hace la selección de hojas de *Buddleja globosa* (MATICO) y frutos de *Genipa americana* (HUITO) en buen estado, se lavan con agua destilada y se secan bajo sombra a temperatura ambiente por un periodo de 10 días aproximadamente.

4.1.3 Trituración

Pasado dicho tiempo, ambos productos se trituran con ayuda de un mortero y luego se tamiza con un Tamiz N°20 para obtener un polvo fino y homogéneo.

4.2. Obtención de extractos por Soxhlet

4.2.1. Fundamento

El equipo Soxhlet tiene como función recircular los vapores condensados con ayuda de un sifón a la fuente de disolvente que se encuentra en evaporación continua, arrastrando consigo los principios activos de la materia prima contenido en los cartuchos desechables (25).

4.2.2. Procedimiento

- Se pesó 15g de cada material vegetal desecado y pulverizado.
- Se empaquetó en papel filtro para luego ser colocado dentro de la cámara de extracción del equipo Soxhlet.
- En el balón del equipo extractor se colocó de solvente 150ml de etanol 96°.
- Luego se sometió a calor constante de 70 °C (baño maría), dicho proceso se llevó por ciclos o sifoneo hasta el agotamiento de las muestras.
- El extracto obtenido se concentra a baño maría a temperatura constante de 70°C hasta obtener un volumen final de 15ml, este proceso se realiza por duplicado hasta obtener un volumen final de 30 ml.
- A partir de dichos extractos fluidos, se realizará el estudio a distintas concentraciones del extracto fluido y geles para la realización de la prueba piloto y de la investigación general.

4.3. Identificación de metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina (TLC)

4.3.1. Fundamento

La cromatografía en capa fina (en inglés thin layer chromatography o TLC) es una técnica analítica rápida y sencilla, muy utilizada en un

laboratorio de Química Orgánica. Entre otras cosas permite determinar el grado de pureza de un compuesto. Se puede determinar así, por ejemplo, la efectividad de una etapa de purificación, comparar muestras. Si dos muestras corren igual en placa podrían ser idénticas. Si, por el contrario, corren distinto entonces no son la misma sustancia y realizar el seguimiento de una reacción (28).

La muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina de plástico o aluminio que previamente ha sido recubierta de una fina capa de adsorbente (fase estacionaria). Entonces, la lámina se coloca en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados (eluyente o fase móvil). A medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente. (28).

La retención se puede explicar en base a la competencia que se establece entre el soluto a separar y la fase móvil por adsorberse a los centros activos polares de la fase estacionaria. Así, las moléculas de soluto se encuentran adsorbidas en la fase estacionaria y a medida que se produce la elución van siendo desplazadas por la fase móvil. La retención y la selectividad en la separación dependen de los valores respectivos de las constantes de los diferentes equilibrios químicos que tienen lugar, que están en función de: (28)

- La polaridad del compuesto, determinada por el número y naturaleza de los grupos funcionales presentes. Los solutos más polares quedarán más retenidos puesto que se adsorben más firmemente a los centros activos de la fase estacionaria, mientras que los no polares se eluirán con mayor facilidad (28).
- Naturaleza del disolvente. Así, para un mismo compuesto, un

aumento en la polaridad del disolvente facilita su desplazamiento en la placa (28).

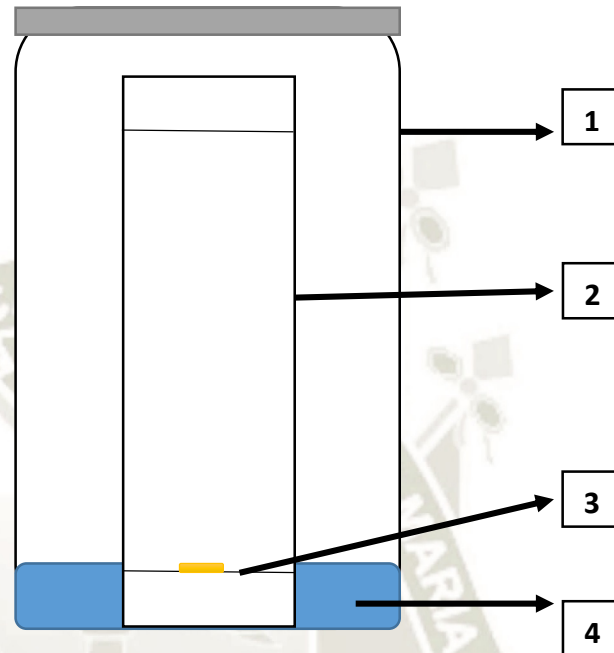


Figura N°4. Sistema de Cromatografía en Capa Fina (CCF). 1) Cuba Cromatográfica, 2) Fase estacionaria (Sílica gel), 3) Área de Sembrado y 4) Fase Móvil (Mezcla de solventes)

Fuente: Elaboración propia

La relación entre las distancias recorridas por el soluto y por el eluyente desde el origen de la placa se conoce como R_f , y tiene un valor constante para cada compuesto en unas condiciones cromatográficas determinadas (adsorbente, disolvente, tamaño de la cubeta, temperatura, etc.). Para calcular el R_f se aplica la siguiente expresión: $R_f = \text{distancia recorrida por el compuesto (X)} / \text{distancia recorrida por el eluyente (Y)}$ (28).

4.3.2. Procedimiento

- Para la identificación de taninos, flavonoides, terpenos, alcaloides, aucubina y geniposidos, se utilizan como fase estacionaria láminas

de silica gel de 2.5 cm x 10 cm, en las cuales se realiza un trazo ligero a 1 cm de distancia desde la base.

- Para el sembrado de las muestras, se realizará diluciones de los extractos (MATICO al 10% y HUITO al 60%).
- La siembra se hace 10 veces con la ayuda de un tubo capilar fino cuidando que el secado sea completo en cada siembra para luego introducirlo dentro de la cuba cromatográfica.
- Posteriormente se espera que las láminas se sequen por 20 minutos y luego se visualizarán las placas por radiación UV a 366 nm.

En la tabla N°4 se muestran las distintas fases móviles, las sustancias reveladoras e interpretaciones de los colores que se observan.

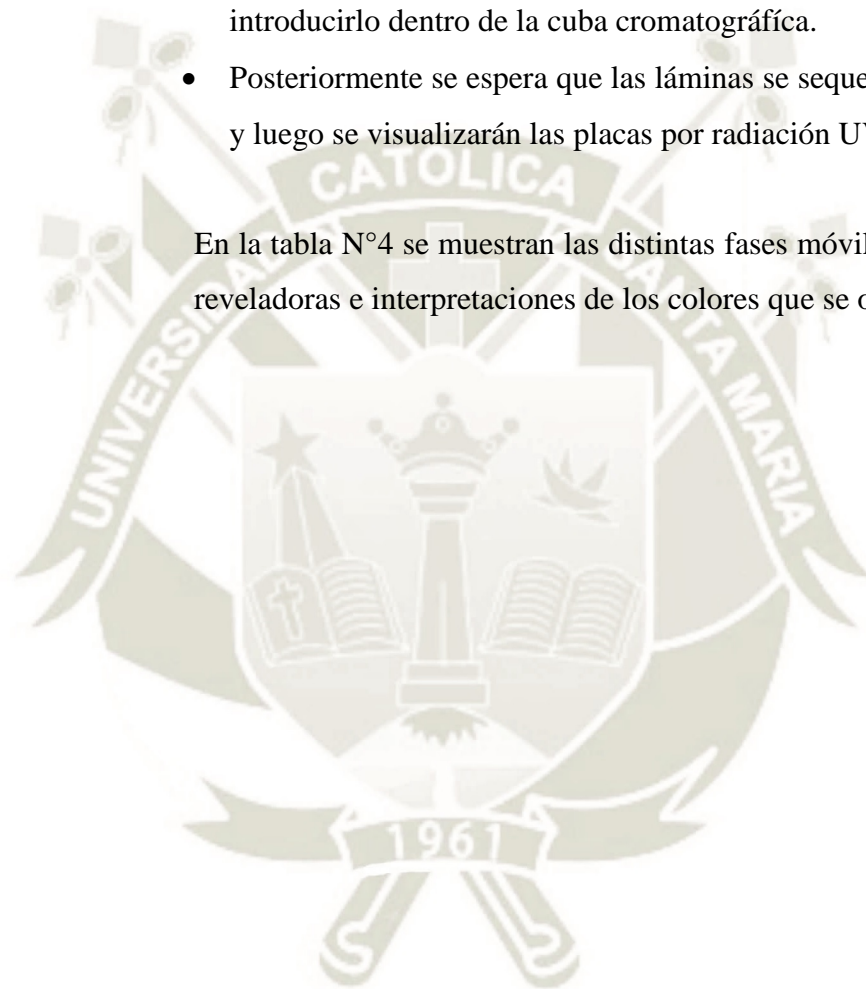


Tabla N°4 Fases móviles y reveladores de los principales metabolitos secundarios

Metabolito secundario	Fase móvil	Revelador	Color característico
Taninos	Metanol: agua (70:30)	Cloruro férrico (FeCl ₃) al 1% en etanol	Azules, verdes y rojizas, que indican la aparición de taninos (29)
Flavonoides	MATICO: Cloroformo, Acetona, Ac. Formico (3.75:0.825:0.425) Revelador: vainillina sulfúrica HUITO: Isopropanol, Metanol, Ac. Acético, Agua (9:5:2:2)	Vainillina sulfúrica	Verde, amarillo, rojo, azul, colores presuntivos que indican la aparición de flavonoides.
Terpenos	Tolueno: acetato de Etilo (90:10)	Liebermann-Burchard	Observar manchas verdes (triterpenos y esteroides), manchas rojas (saponinas), manchas azules (esteroles) (29)
Alcaloides	Cloroformo, Etanol (90:10)	Dragendorff	Observar manchas rojas – anaranjado
Aucubinas (MATICO)	n-Butanol, Ac. Acético, Agua (3:1:1)	Sin y con vapores de amoníaco.	Manchas con Rf: 0.45 a 0.75
Geniposidos (HUITO)	Metanol, Cloroformo, Ac. Acético (3:7:1)	Vainillina sulfúrica	Manchas con Rf: 0.73 a 0.91

Fuente: Adaptaciones (20) (19)

4.4. Elaboración de extractos y geles

Procedimiento

Para la preparación de la prueba piloto para hallar un aproximado de 20 ml de extractos de MATICO y HUITO al 5%, 10%, 20%, 30% y geles mix de MATICO y HUITO al 20 y 30%, se realizará los cálculos correspondientes a partir de los extractos concentrados como se muestra a continuación:

Volumen de extracto para 5%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \% \times V_1 = 5\% \times 20ml$$

$$V_1 = 1ml$$

Volumen de extracto para 10%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \% \times V_1 = 10\% \times 20ml$$

$$V_1 = 2ml$$

Volumen de extracto para 20%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \% \times V_1 = 20\% \times 20ml$$

$$V_1 = 4ml$$

Volumen de extracto para 30%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \% \times V_1 = 30\% \times 20ml$$

$$V_1 = 6ml$$

Volumen de extracto para gel mix
al 20%

$$2 ml = \text{Extracto de Matico}$$

$$2 ml = \text{Extracto de Huito}$$

Volumen de extracto para gel
mix al 30%

$$3 ml = \text{Extracto de Matico}$$

$$3 ml = \text{Extracto de Huito}$$

Una vez realizado los cálculos, se procede a la producción de los geles siguiendo la formulación general (29).

Formulación del gel base

Carbopol 940	1 g	0.2g
Propilenglicol	5 mL	1mL
Metilparabeno	0.1 g	0.02g
Propilparabeno	0.1 g	0.02g
Alcohol 70° c.s.p.	100 mL	20mL
Trietanolamina	Hasta pH 7	Hasta pH 7

- La formulación anterior se recalcula considerando un volumen final de 20 ml entre alcohol y extractos.
- Pesar los componentes y rotularlos.
- Disolver el carbopol 940 en alcohol de 70° en un volumen de 20 mL, agitando suavemente y constantemente que no se formen burbujas. (Solución A).
- Disolver los metilparabeno y propilparabeno junto con el propilenglicol y el extracto de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) (Solución B).
- Mezclar las dos soluciones A y B en un vaso de precipitado con agitación constante y por último agregar trietanolamina hasta conseguir un ajuste de pH de 7.

4.5. Producción y medición de la inflamación**4.5.1. Fundamento**

La inflamación se produce con la administración subcutánea de una solución de carragenina (un muco polisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondrus crispus* y *Gigartina stellata*) a nivel de la aponeurosis plantar de la rata o del ratón. La respuesta promovida por la carragenina es de tipo bifásica. La primera fase es mediada a través de la liberación de histamina, serotonina y quininas, mientras la segunda fase está asociada a la liberación de prostaglandinas, bradiquinina, proteasa y lisosoma, con un efecto máximo que se

presenta alrededor de 3 h luego de la inyección de carragenina (29) (20).

La medición de la inflamación se realiza con el Pletismómetro Digital LE 7500 que es un instrumento utilizado para determinar la variación de volumen de las extremidades de roedores. Este equipo mide la variación de nivel de líquido (solución de tritón) que se encuentra en la vasija volumétrica del equipo al introducir la extremidad en un depósito. La prueba del Pletismómetro permite el seguimiento de la evolución del proceso inflamatorio inducido experimentalmente en la pata de roedores y así detectar las propiedades antiinflamatorias o anti edema de sustancias farmacológicas (23) (32).

4.5.2. Procedimiento

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN

- La solución que necesitamos es a una concentración 0.1 % peso/volumen de NaCl,
- Pesamos 1 g de NaCl por cada litro de H₂O destilada, luego se añadió 15 gotas de tritón por cada litro de solución.

PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE CARRAGENINA

- Se pesó 0.05 g de carragenina y se diluyo en 5 mL de solución agua destilada.
- Sometiendo a baño marina hasta el momento de la aplicación

PROCEDIMIENTO DE LA INFLAMACIÓN

La inflamación se produjo administrando 0.2 ml de una solución de carragenina al 1 % en la región subplantar de la pata posterior derecha del animal, para luego hacer la medición usando un pletismómetro en diferentes tiempos por un intervalo de 7 horas como se muestra en la Figura N° 5

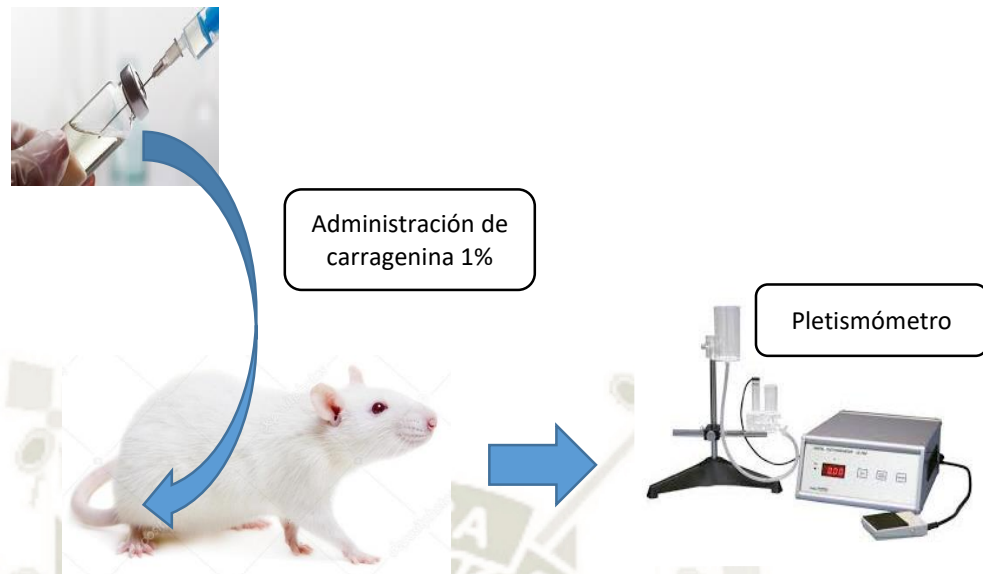


Figura N°5 Procedimiento de la producción y medición de la inflamación

Fuente: Elaboración propia

4.6. Realización de la Prueba Piloto en hojas de *Buddleja globosa* (MATICO) y frutos de *Genipa americana* (HUITO).

- Después de obtener los extractos de ambas plantas y realizar la preparación a distintas concentraciones se procedió a realizar una prueba piloto en la cual se midió la inflamación de 13 grupos: Extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) al 5%, 10%, 20% y 30% y extracto de *Genipa americana* (HUITO) al 5%, 10%, 20% y 30%, también gel mix de ambas plantas a concentración 20% y 30% comparando con el Diclofenaco al 1%, gel base y blanco.
- Luego se procedió a producir la inflamación a la rata mediante la aplicación de 0,2 ml de carragenina en la pata posterior derecha con la ayuda de una jeringa hipodérmica.
- Luego se esperó hasta alcanzar la inflamación máxima que se produjo a las 3 horas donde se midió con ayuda del pletismómetro.
- Después se colocó los distintos tratamientos con los extractos y gels para luego esperar una hora y comenzar hacer las mediciones a la 4, 5, 6, 7 hora.

4.7. Determinación del efecto antiinflamatorio de los geles a base de extractos de las hojas de *Buddleja globosa* (MATICO) y frutos de *Genipa americana* (HUITO)

Tras realizar la prueba piloto cuyos resultados se observan en el ANEXO 2, se procede a trabajar con 7 grupos experimentales, los cuales luego de la administración de carragenina al 1% y pasada 3 horas, se tratan como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla N°5. Grupos de experimentación y tipo de tratamiento

Grupos	Denominación	Tipo de tratamiento
Control positivo	CP	Diclofenaco en gel 1%
Control negativo	CN	Gel base
Gel de HUITO 20%	H20%	Gel de extracto etanólico de HUITO al 20%
Gel de HUITO 30%	H30%	Gel de extracto etanólico de HUITO al 30%
Gel de MATICO 20%	M20%	Gel de extracto etanólico de MATICO al 20%
Gel de MATICO 30%	M30%	Gel de extracto etanólico de MATICO al 30%
Gel mix (MATICO + HUITO) 20%	GMx20%	Gel de extracto etanólico de HUITO y MATICO al 20%

Fuente: Elaboración propia

Finalmente, tras la administración de cada tipo de tratamiento, se mide la inflamación durante la cuarta, quinta, sexta y séptima hora con el pletismómetro.

4.8. Estadística

El análisis de varianza (ANOVA) es un método utilizado para estimar y probar hipótesis respecto a las medias de las poblaciones, sin embargo, es necesario precisar que las poblaciones respecto a las medias dependen de la magnitud de las varianzas observadas. Como resultado brinda una probable diferencia

significativa en por lo menos un grupo de datos lo que podría requerir una prueba confirmatoria como el test de comparaciones múltiples desarrollado por Tukey, el cual permite comparar las medias de los t niveles de un factor después de haber rechazado la Hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA. Esta prueba confirmará que grupos son igual o diferentes al 95 % de confianza (34).



CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la determinación del efecto antiinflamatorio tópico del gel a base del extracto de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) en animales de experimentación se muestran a continuación.

1. Identificación del material biológico

Las hojas de *Buddleja globosa* (MATICO) y el fruto de *Genipa americana* (HUITO), recolectados de la comunidad de sol naciente ubicado en el kilómetro 4.5 del distrito de Tambopata, provincia de Tambopata y departamento de Madre de Dios fueron transportados en papel Kraft a las instalaciones de la Facultad de Biología (Herbarium Arequipense) de la Universidad Nacional San Agustín en donde se realizó el reconocimiento taxonómico que se muestra a continuación.

Tabla N°6 Clasificación taxonómica de *Buddleja globosa* (MATICO)

Reino:	<i>Plantae</i>
Familia:	<i>Buddlejaceae</i>
Género:	<i>Buddleja</i>
Especie:	<i>B. globosa</i>
Nombre Científico:	<i>Buddleja globosa</i> Hope

Fuente: Herbarium Arequipense (HUSA)- UNSA

Tabla N°7 Clasificación taxonómica de *Genipa americana* L (HUITO)

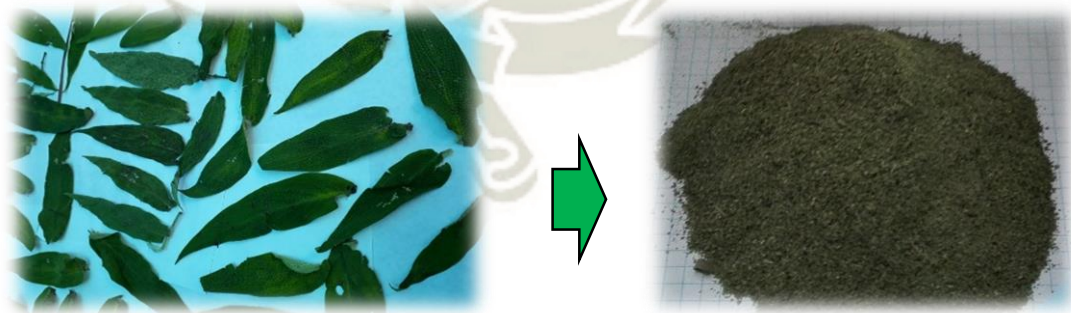
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Asteridae</i>
Orden:	<i>Gentianales</i>
Familia:	<i>Rubiaceae</i>
Género:	<i>Genipa</i>
Especie:	<i>Genipa americana</i> L.

Fuente: Herbarium Arequipense (HUSA)- UNSA

2. Obtención y concentración de los extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

Tras la identificación taxonómica de las plantas, en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María se realizó la selección de hojas de *Buddleja globosa* (MATICO) y frutos de *Genipa americana* (HUITO) en buen estado.

Los cuales posteriormente fueron lavados con agua destilada y secados bajo sombra a temperatura ambiente por un periodo de 10 días. Pasado dicho tiempo, ambos productos fueron triturados en un mortero, finalmente, las muestras fueron tamizadas (Tamiz N°20) para la obtención de un polvo fino y homogéneo.

**Figura N°6** Hojas de *Buddleja globosa* (MATICO)

Fuente: Elaboración propia



Figura N°7 Fruto de *Genipa americana* (HUITO)

Fuente: Elaboración propia

- Los extractos fueron obtenidos por el método Soxhlet, para lo cual se pesaron 15 g del material vegetal.
- Se empaquetó en papel filtro y se colocó en la cámara de extracción del equipo, en el balón del equipo extractor se midió 150ml de etanol 96° a continuación se procedió a la extracción por ciclos hasta el agotamiento de las muestras (12 ciclos).
- El extracto obtenido se concentró a baño maría a temperatura constante de 70°C hasta obtener un volumen final de 15ml. (este proceso se realizó por duplicado hasta obtener un volumen final de 30 ml).
- A partir de dichos extractos fluidos, se realizó el estudio a diferentes concentraciones para la prueba piloto y geles a diferentes concentraciones para la realización de la investigación general.

3. Resultados de la prueba piloto para evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto fluido y geles de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO).

En la Tabla N°8 se observan los resultados de la evaluación del efecto antiinflamatorio de la prueba piloto en los siguientes grupos de tratamiento.

- i. Los extractos fluidos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) a las concentraciones de 5, 10, 20 y 30%.

- ii. Los Geles mix a base de los Extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) a concentraciones del 20 y 30%.
- iii. Diclofenaco al 1 % como control positivo
- iv. Gel base como control negativo

Nótese que se realizó la medición a tiempo cero para observar los volúmenes basales en ml correspondientes al tamaño de la pata antes de la aplicación de la carragenina 1%.



Tabla N° 8. Resultados (n=3) del efecto de los tratamientos sobre la inflamación (ml) inducida con carragenina al 1 % en ratas

Condición	Hora	Ex-Ma 5%	Ex- Ma 10%	Ex-Ma 20%	Ex-Ma 30%	Ex-Hu 5%	Ex-Hu 10%	Ex-Hu 20%	Ex-Hu 30%	Gel-Mix 20 %	Gel-Mix 30 %	Diclofenaco 1 %	Gel Base	Blanco
Basal	0	0.64 ± 0.01	0.71 ± 0.01	0.69 ± 0.01	0.76 ± 0.02	0.8 ± 0.02	0.69 ± 0.01	0.88 ± 0.02	0.73 ± 0.01	0.72 ± 0.01	0.81 ± 0.02	0.76 ± 0.02	0.78 ± 0.02	0.66 ± 0.01
Inf-Max/ App-Tto	3	1.73 ± 0.03	1.68 ± 0.03	2.19 ± 0.04	1.94 ± 0.04	1.52 ± 0.03	2.02 ± 0.04	1.56 ± 0.03	1.94 ± 0.04	2.2 ± 0.04	1.8 ± 0.04	1.84 ± 0.03	1.75 ± 0.04	1.73 ± 0.03
Seguimiento	4	1.49 ± 0.03	1.46 ± 0.03	1.74 ± 0.03	1.57 ± 0.03	1.51 ± 0.03	1.64 ± 0.03	1.37 ± 0.03	1.47 ± 0.03	1.92 ± 0.04	1.33 ± 0.03	1.48 ± 0.03	1.78 ± 0.04	1.74 ± 0.03
	5	1.45 ± 0.03	1.43 ± 0.03	1.68 ± 0.03	1.48 ± 0.03	1.35 ± 0.03	1.63 ± 0.03	1.34 ± 0.03	1.44 ± 0.03	1.74 ± 0.03	1.3 ± 0.03	1.33 ± 0.03	1.79 ± 0.04	1.76 ± 0.04
	6	1.43 ± 0.03	1.42 ± 0.03	1.62 ± 0.03	1.38 ± 0.03	1.33 ± 0.03	1.63 ± 0.03	1.33 ± 0.03	1.42 ± 0.03	1.72 ± 0.03	1.29 ± 0.03	1.27 ± 0.03	1.79 ± 0.04	1.77 ± 0.04
	7	1.41 ± 0.03	1.40 ± 0.03	1.53 ± 0.03	1.36 ± 0.03	1.31 ± 0.03	1.61 ± 0.03	1.31 ± 0.03	1.4 ± 0.03	1.45 ± 0.03	1.27 ± 0.03	1.25 ± 0.03	1.82 ± 0.04	1.78 ± 0.04

*Ex= Extracto, Ma= Matico, Mix= Mezcla de geles de matico y huito, Inf-Mac= Inflamación máxima y App-Tto= Aplicación de tratamientos, n=número de mediciones.

En la Figura N° 8 se puede observar que a las 3 horas se produce la inflamación máxima después de aplicar la carragenina al 1 % sin embargo la inflamación del grupo tratado con gel base (Control Negativo) continúa aumentando, así mismo todos los tratamientos presentan efecto antiinflamatorio debido a que desde su aplicación la inflamación disminuye en función del tiempo, aparentemente el gel mix al 20% y los extractos al 30% de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) presentan mayor efecto antiinflamatorio.

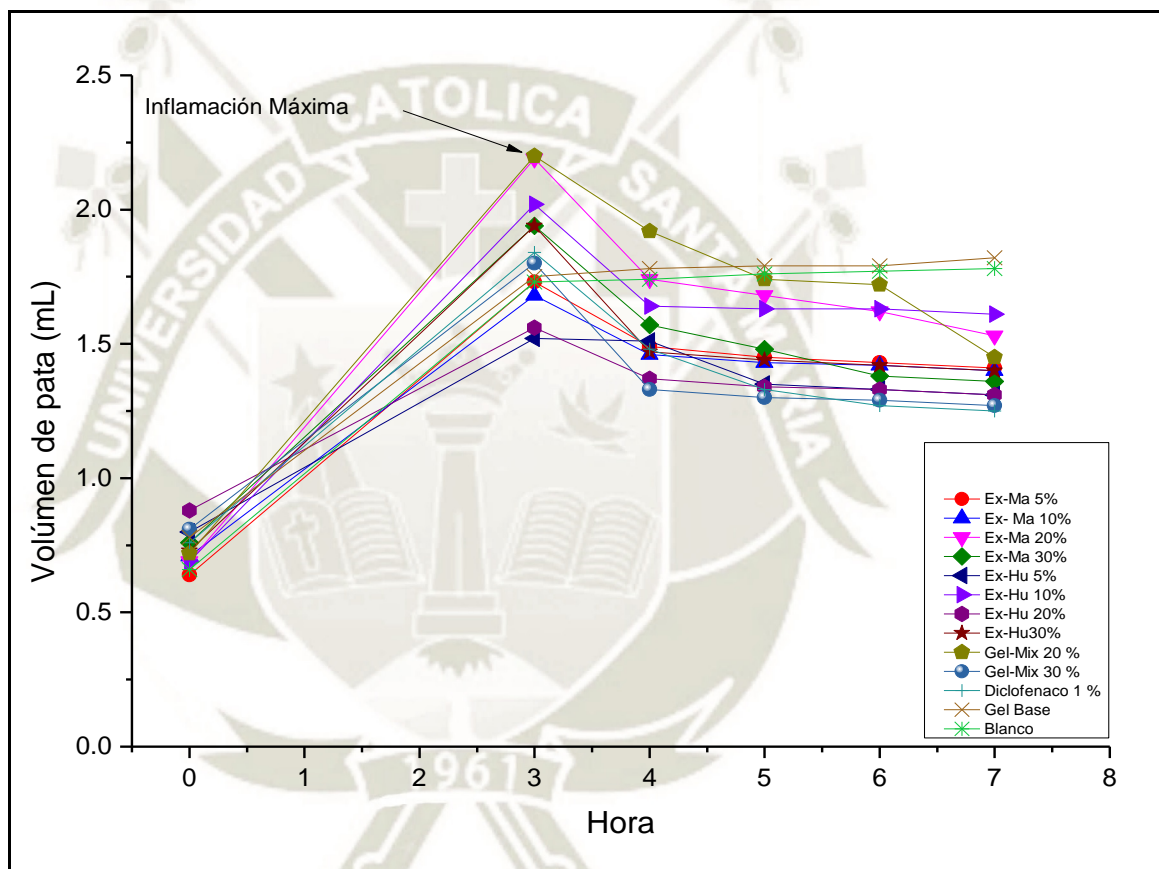


Figura N° 8. Efecto de los tratamientos sobre la inflamación (ml) inducida con carragenina al 1 % en ratas.

En la Tabla N° 9 podemos observar la inflamación producida en ml expresado en porcentaje de inflamación donde se obtuvo como resultado los valores de inflamación máxima y su disminución en función del tiempo.

Tabla N° 9. Disminución del porcentaje de inflamación (n=3) luego de la inducción de la inflamación con carragenina al 1 % en ratas

Hora	Ex-Ma 5%	Ex- Ma 10%	Ex-Ma 20%	Ex-Ma 30%	Ex-Hu 5%	Ex-Hu 10%	Ex-Hu 20%	Ex- Hu30%	Gel-Mix 20 %	Gel-Mix 30 %	Diclofenaco 1 %	Gel Base	Blanco
3	100.00 ± 0.55	100.00 ± 0.50	100.00 ± 0.58	100.00 ± 0.52	100.00 ± 0.51	100.00 ± 0.51	100.00 ± 0.58	100.00 ± 0.53	100.00 ± 0.51	100.00 ± 0.41	100.00 ± 0.562	100.00 ± 0.63	100.00 ± 0.21
4	77.98 ± 0.42	77.32 ± 0.42	70.00 ± 0.38	68.64 ± 0.37	98.61 ± 0.54	71.43 ± 0.39	72.06 ± 0.39	61.16 ± 0.33	81.08 ± 0.44	52.53 ± 0.29	66.67 ± 0.36	103.09 ± 0.56	100.93 ± 0.55
5	74.31 ± 0.40	74.23 ± 0.40	66.00 ± 0.36	61.02 ± 0.33	76.39 ± 0.42	70.68 ± 0.39	67.65 ± 0.37	58.68 ± 0.32	68.92 ± 0.38	49.49 ± 0.27	52.78 ± 0.29	104.12 ± 0.57	102.80 ± 0.56
6	72.48 ± 0.40	73.20 ± 0.40	62.00 ± 0.34	52.54 ± 0.34	73.61 ± 0.40	70.68 ± 0.39	66.18 ± 0.36	57.02 ± 0.31	67.57 ± 0.37	48.48 ± 0.26	47.22 ± 0.26	104.12 ± 0.57	103.74 ± 0.57
7	70.64 ± 0.38	71.13 ± 0.39	56.00 ± 0.31	50.85 ± 0.28	70.83 ± 0.39	69.17 ± 0.38	63.24 ± 0.34	55.37 ± 0.30	49.32 ± 0.27	46.46 ± 0.25	45.37 ± 0.25	107.22 ± 0.58	105.61 ± 0.58

*Ex= Extracto, Ma= Matico, Mix= Mezcla de geles de MATICO y HUITO, n=número de mediciones.

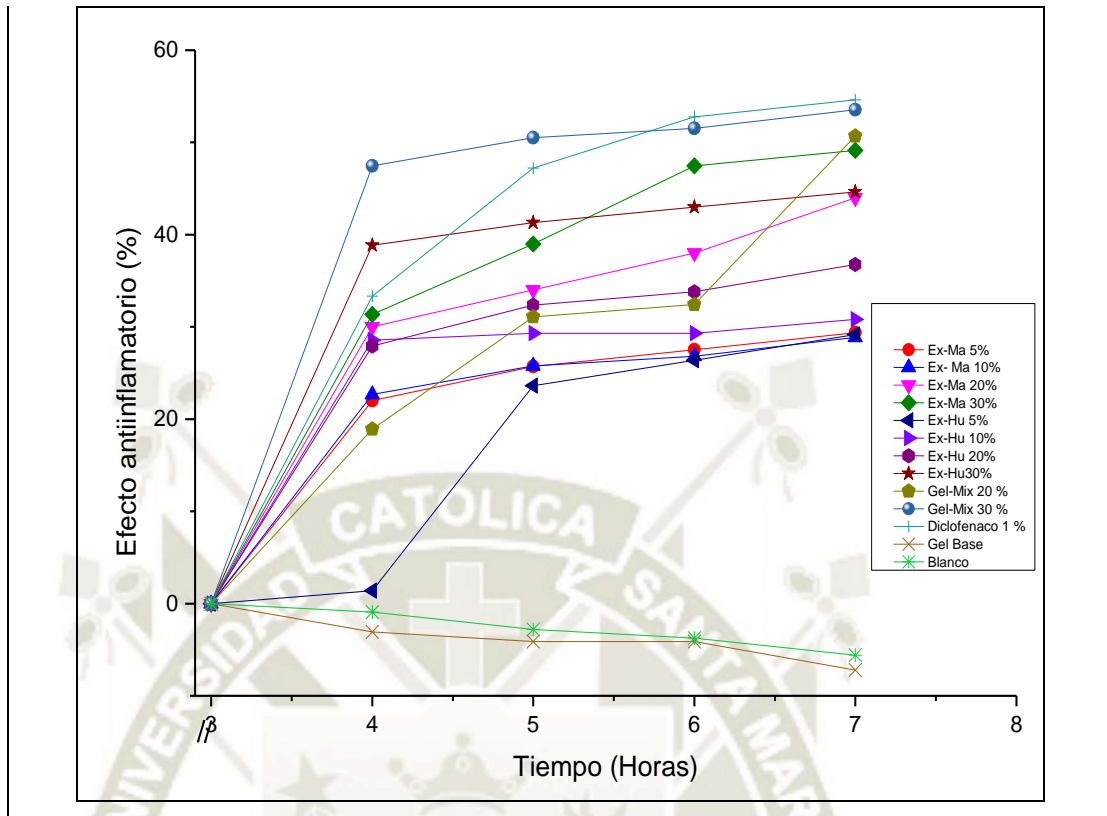


Figura N° 9. Efecto antiinflamatorio luego de la inducción de la inflamación con carragenina al 1 % en ratas

En la Figura N° 9 de la prueba piloto se puede observar que el grupo blanco al cual se le administro solo carragenina al 1% y no se le administró ningún tipo de tratamiento, presenta un porcentaje de desinflamación mínima, además, el grupo control negativo al cual tras la administración de carragenina al 1% se le administró solo gel base, también presenta un porcentaje de desinflamación mínima. Estos resultados indican que no existió ningún factor externo que pudo influir en nuestros resultados.

Por otro lado, en relación a los grupos que tras la administración de carragenina al 1%, si recibieron un tipo de tratamiento, ya sea con diclofenaco, extractos o geles a diferentes concentraciones de MATICO y HUITO, se puede mencionar que el diclofenaco presenta mayor efecto antiinflamatorio en comparación del resto de grupos. En relación a los tratamientos con los extractos se puede mencionar que los geles mix al 30% y 20% a base de los extractos de ambas plantas presentan mayor efecto antiinflamatorio en comparación de los extractos.

Por lo que se logró determinar que ambas especies vegetales presentan efecto antiinflamatorio frente a adema plantar inducido por carragenina al 1 % por lo cual, se procedió a realizar la parte experimental.

4. Identificación de los componentes fitoquímicos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

4.1. Taninos

4.1.1. *Buddleja globosa* (MATICO)

Tras realizar el sembrado de los extractos diluidos de *Buddleja globosa* (MATICO) al 10% y al ser revelados con cloruro férrico al 1%, se observó unas manchas de color rojo con un factor de retención de 0.71 como se observa en la figura N°5 lo que indica la presencia de taninos en *Buddleja globosa* (MATICO).

4.1.2 *Genipa americana* (HUITO)

Después de realizar el sembrado de los extractos diluidos de *Genipa americana* (HUITO) al 60% y al ser revelados con cloruro férrico al 1%, no se logró identificar taninos.

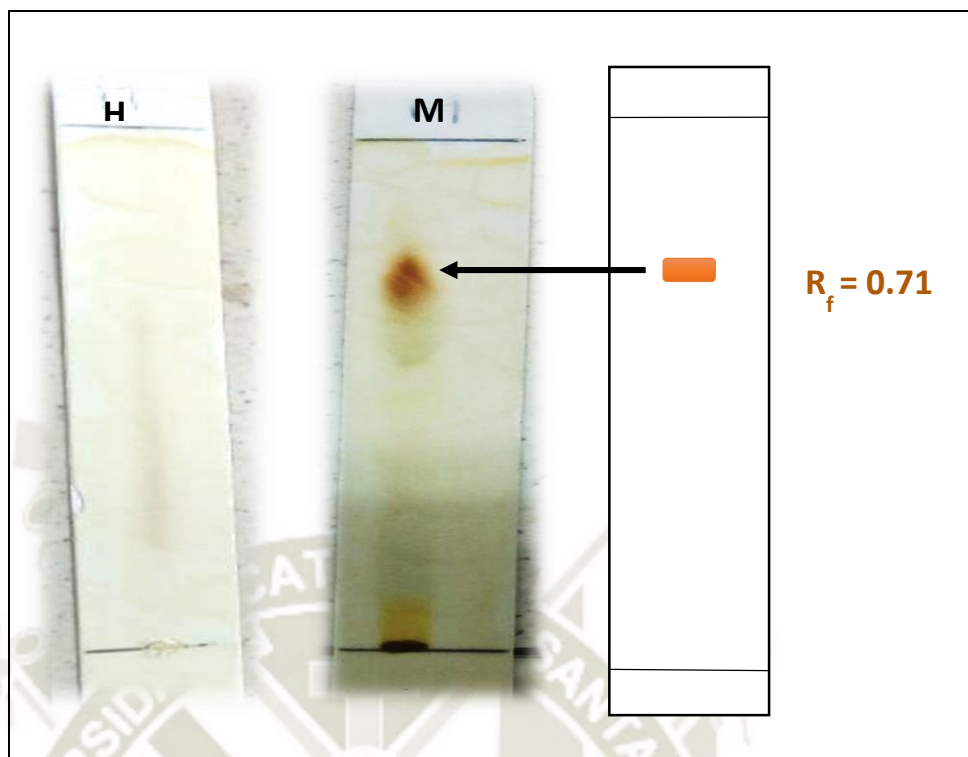


Figura N°10 Placas cromatográficas en capa fina de la identificación de taninos en extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

Fuente: Elaboración propia

Es importante mencionar que los resultados de algunas investigaciones indican que los principales compuestos bioquímicos que contiene la *Genipa americana L.* son: manitol, genipina, taninos, ácido tartárico, ácido geniposídico, hidantoína, cafeína y calcio; contiene también iridoides de genipina que reaccionan con proteínas produciendo un color azul y dos compuestos antibióticos con estructura de monoterpenos ciclopentanoicos (35). Sin embargo, la presente investigación difiere de lo encontrado por Rivas en su investigación titulada “Obtención y caracterización del entrecruzante natural genipina a partir del fruto del caruto (*Genipa americana L.*)”, ya que no se identificaron taninos (36). Lo cual, se podría deber a la procedencia de los frutos estudiados ya que Rivas desarrolló su estudio usando frutos obtenidos de Venezuela y la composición de los metabolitos secundarios pueden variar dependiendo de las condiciones ambientales, estrés, tipo de suelo, etc.

4.2. Flavonoides

4.2.1. *Buddleja globosa* (MATICO)

Tras realizar el sembrado de los extractos diluidos de *Buddleja globosa* (MATICO) al 10%, al ser revelados con vainillina sulfúrica y observada en luz UV (336nm), se observó unas manchas de colores rojo y verde con factores de retención de 0.59, 0.70 y 0.90 como se observa en la figura N°11 lo que indica la presencia de flavonoides en *Buddleja globosa* (MATICO).

4.2.2 *Genipa americana* (HUITO)

Después del sembrado de los extractos diluidos de *Genipa americana* (HUITO) al 60%, al ser revelados con vainillina sulfúrica y observada en luz UV (336nm), se observó una mancha de color azul con un factor de retención de 0.70 lo que indica que el extracto de HUITO tiene flavonoides.

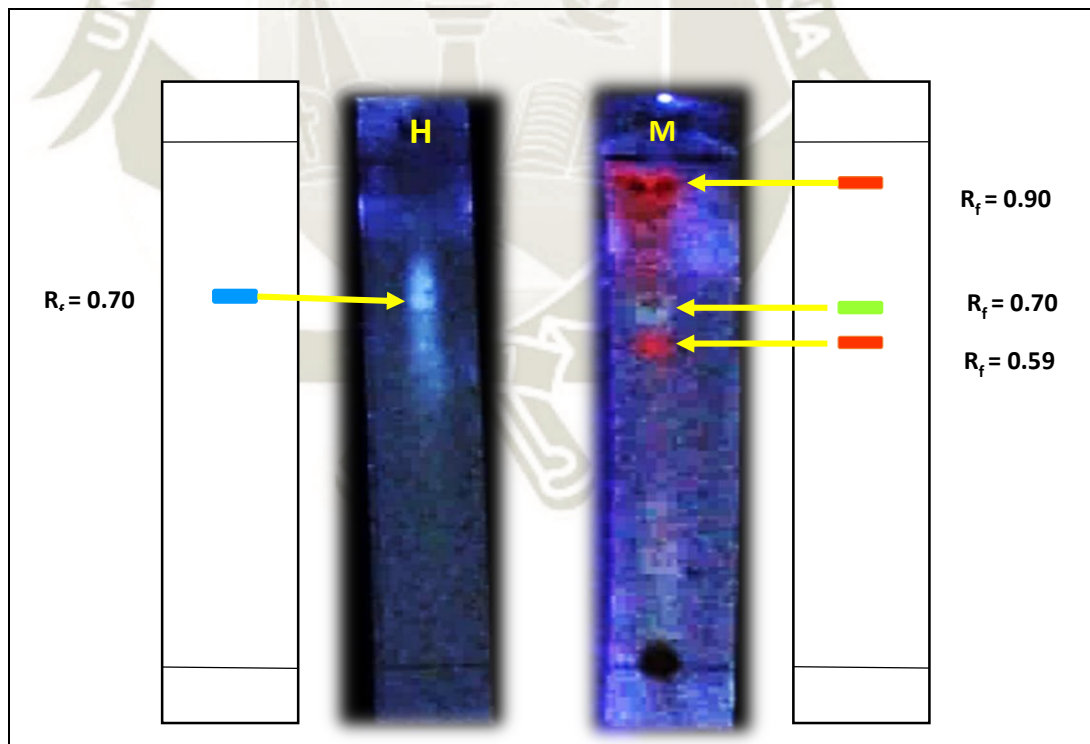


Figura N°11 Placas cromatograficas en capa fina de la identificación de Flavonoides en extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

Fuente: Elaboración propia

Nuestros resultados se asemejan al trabajo de investigación titulado “Fundamentación básica al uso etnomédico de MATICO (*Buddleja globosa Hope*)”, reportan que MATICO presenta en su composición fitoquímica, flavonoides, terpenos y éster feniletanoides (37).

En relación a la identificación de flavonoides en *Genipa americana* (HUITO), trabajos de investigación reportan la existencia de flavonoides no-antocianínicos, los cuales se caracterizan por dar un color amarillo al fruto, además, mencionan que los flavonoides en general se caracterizan por ser polifenoles solubles en agua (12).

4.3. Terpenos

4.3.1. *Buddleja globosa* (MATICO)

Tras realizar el sembrado de los extractos diluidos de *Buddleja globosa* (MATICO) al 10%, al ser revelados con Liebermann-Burchard y observado en luz UV (336nm), se observó unas manchas de colores rojos con factores de retención de 0.44, 0.56 y 0.79 como se observa en la figura N°7 lo que indica la presencia de Terpenos en *Buddleja globosa* (MATICO).

4.3.2 *Genipa americana* (HUITO)

Por otro lado, tras realizar el sembrado de los extractos diluidos de *Genipa americana* (HUITO) al 60%, al ser revelados con Liebermann-Burchard y observado en luz UV (336nm), se observó una mancha de color azul con un factor de retención de 0.21 lo que indica que el extracto de HUITO tiene Terpenos en *Genipa americana* (HUITO).

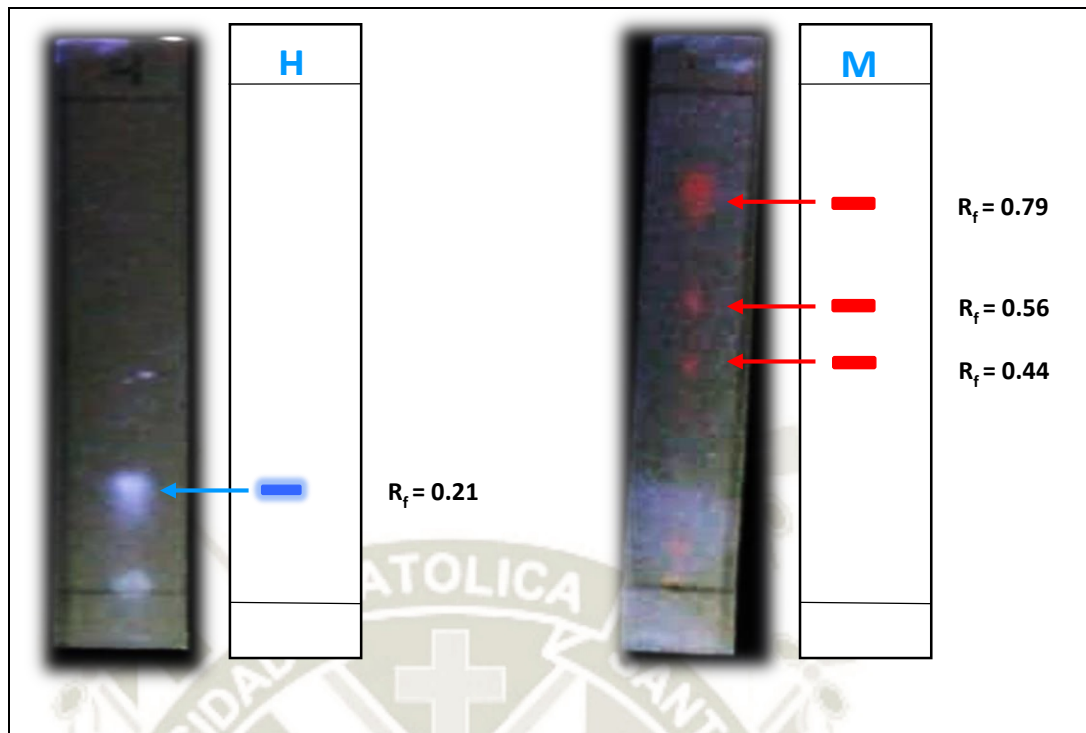


Figura N°12 Placas cromatograficas en capa fina de la identificación de Terpenos en extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

Fuente: Elaboración propia

Existen referencias bibliográficas que mencionan la existencia de geniposidos en la *Genipa americana* (HUITO), este metabolito es descrito como un iridoide glicosídico que posee una gran variedad de actividades biológicas como neuroprotector, anti-diabético, antiproliferativo y antioxidante. Por lo tanto, considerando que los iridoidees son compuestos monoterpénicos que estructuralmente se distinguen por estar formados por un anillo básico de dihidropirano fusionado a un ciclopentano (36) (38), así mismo, en la presente también se encontró presencia de terpenos en los extractos obtenidos del fruto de Huito.

En relación a la identificación de terpenos en *Buddleja globosa* (MATICO), nuestros resultados se asemejan al trabajo de investigación titulado “Fundamentación básica al uso etnomédico de MATICO (*Buddleja globosa* Hope)” en donde reportan que MATICO presenta en su composición fitoquímica, flavonoides, terpenos y éster feniletanoides (37).

4.4. Alcaloides

Tras realizar la marcha analítica para la identificación de alcaloides, no se logró identificar la presencia de dichos metabolitos en *Buddleja globosa* (MATICO) ni en *Genipa americana* (HUITO).

4.5. Aucubina en *Buddleja globosa* (MATICO)

Tras realizar el sembrado de los extractos diluidos de *Buddleja globosa* (MATICO) al 10%, al ser revelados con vapores de amoníaco y observado en luz UV (254nm), se observó unas manchas color marrón con factor de retención de 0.44, 0.70 como se observa en la figura N°8 lo que indica la presencia de Aucubina en *Buddleja globosa* (MATICO).

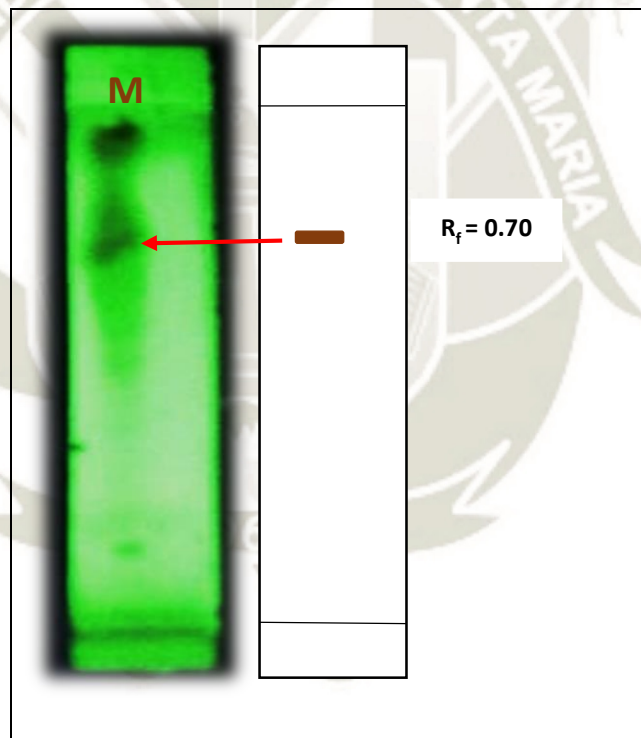


Figura N°13 Placas cromatograficas en capa fina de la identificación de Aucubina en extractos de *Buddleja globosa* (MATICO)

Fuente: Elaboración propia

Según la revisión bibliográfica indica que la aucubina es un metabolito secundario muy común, del grupo de los iridoides. Es el glucósido formado por la combinación de la aglicona aucubigenina y una unidad de glucosa. Al

igual que los otros monoterpenos, se compone de dos unidades de isopreno, cada una con cinco átomos de carbono, sintetizados en la planta. Sin embargo, a diferencia de la mayoría de los iridosidos, de diez carbonos, la estructura de la aucubina contiene sólo nueve (37).

4.6. Geniposido en *Genipa americana* (HUITO)

Tras realizar el sembrado de los extractos diluidos de *Genipa americana* (HUITO) al 60%, al ser revelados con vainillina sulfúrica y observado en luz UV (336nm), se observó unas manchas de color azul con factor de retención de 0.83 como se observa en la figura N°9 lo que indica la presencia de Geniposido en *Genipa americana* (HUITO).

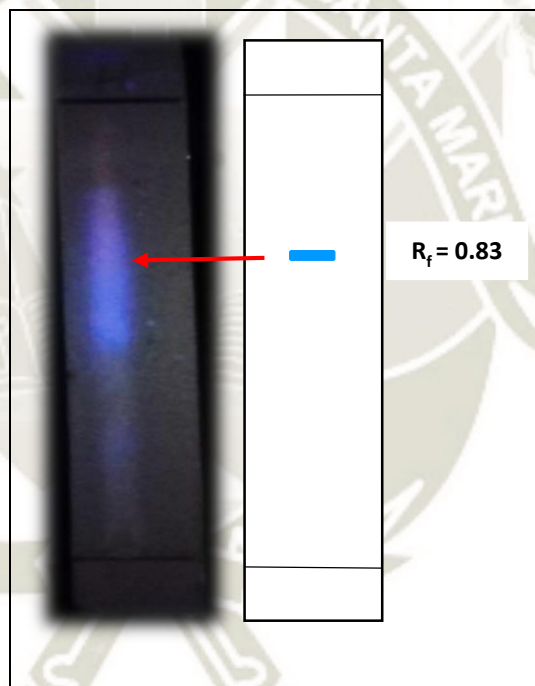


Figura N°14 Placas cromatograficas en capa fina de la identificación de Geniposido en extractos de *Genipa americana* (HUITO)

Fuente: Elaboración propia

El Genipósido es un metabolito secundario propio de *Genipa americana* (HUITO), el cual es un iridoide glicosilado que mediante hidrólisis con beta glucosidasa se descompone en Genipina y O-glucosa. La estructura de la Genipina fue descubierta en 1960 por Ojerassi y col. a partir de la fruta madura de *Genipa americana* L. se menciona que esta sustancia es responsable de la coloración azul violeta que se observa al reaccionar espontáneamente con

aminoácidos, en general con aminas primarias (12).

Existen amplios estudios sobre las propiedades antiangiogénico, antiinflamatoria y antioxidante de este iridoide, además se lo considera un potente reticulante no tóxico de proteínas, cuya aplicación inmediata es la elaboración de un biopolímero para sistemas de liberación controlada de fármacos (12).

Tabla N°10 Resultados de metabolitos secundarios identificados en los extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

Metabolitos secundarios	Resultados	
	<i>Buddleja globosa</i> (MATICO)	<i>Genipa americana</i> (HUITO)
Taninos	+	-
Flavonoides	+	+
Terpenos	+	+
Alcaloides	-	-
Aucubina	+	-
Geniposido	-	+

(+) Presencia, (-) Ausencia

Fuente: Elaboración propia

5. Producción de geles a base del extracto de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

Para la formulación de los geles, se recalculo la cantidad considerando un volumen final de 20 ml entre alcohol y extractos, en tal sentido para la preparación de gel, a cierta cantidad de alcohol se le agregó metilparabeno y propilparabeno, se agitó y posteriormente se adicionó carbopol 940 hasta disolución total, propilenglicol, extracto y por último trietanolamina hasta conseguir un ajuste de pH de 7 (31).

Formulación del gel base recalculado

Carbopol 940	0.2g
Propilenglicol	1mL
Metilparabeno	0.02g
Propilparabeno	0.02g
Alcohol 70° c.s.p.	20mL
Trietanolamina	Hasta pH 7

Luego de preparar los geles, se dejó reposando los preparados por un periodo de 24 horas para verificar si mantenía su estabilidad. Pasado este tiempo, se evaluó algunas características organolépticas de los geles como son: (31)

- Color: la coloración de los extractos fueron verdes oscuros.
- Consistencia: la consistencia fue coloidal y fluido al tacto.
- pH: el pH no varió y se mantuvo en 7.
- Alcohol volátil: para determinar si por el contenido etanólico (volátil) se perdió o no, se comparó por diferencia de peso el contenido inicial frente al contenido después de las 24 horas, no observándose pérdida en el contenido (31).

6. Determinación del efecto antiinflamatorio tópico del gel a base del extracto de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) en animales de experimentación

6.1. Producción de la inflamación

Después de revisar fuentes bibliográficas y haber realizado una prueba piloto se determinó que el tiempo adecuado para producir la máxima inflamación con carragenina al 1% fue de 3 horas, dicho proceso inflamatorio se observa en la Figura N° 15.



Figura N°15 Inflamación producida por carragenina al 1%

Fuente: Elaboración propia

La medición de la inflamación se realizó en volúmenes en el pletismómetro. El tiempo y proceso de inflamación producida en nuestro presente trabajo de inflamación son similares a los hallados en el trabajo de investigación titulado “Anti-inflammatory effect of hydroalcoholic extract from *Oenothera rosea* (yawar socco) in rats with induction to acute and chronic inflammation”, en donde para producir la inflamación utilizaron al igual que nosotros el Método del Edema subplantar, haciendo uso de un pletismómetro, administraron por vía subcutánea (VSC) o subplantar una pseudosolución de λ -carragenina, en la aponeurosis plantar de la rata, provocando una reacción inflamatoria (19). Por otro lado, el proceso inflamatorio producida por la carragenina se caracteriza por una fase temprana (0-1 h) y es provocada por la liberación de histamina, 5 - hidroxitriptamina y bradiquinina seguido de una fase tardía (1-6 h) sostenida principalmente por las PGs (prostaglandinas) y NO (óxido nítrico), sin embargo, se determinó el efecto antiinflamatorio de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) en animales de experimentación, se consideraron los resultados obtenidos en la prueba piloto en donde se observó que el grupo blanco, al cual se le administró carragenina

al 1% pero no se le administró ningún tipo de tratamiento, presenta un porcentaje de desinflamación mínima, además, el grupo gel base, al cual tras la administración de carragenina al 1% se le administró solo gel base, también presenta un porcentaje de desinflamación mínima. Estos resultados indican que no existió ningún factor externo que pudo influir en nuestros resultados. Por otro lado, en relación a los grupos que tras la administración de carragenina al 1% si recibieron un tipo de tratamiento con diclofenaco, extractos o geles de MATICO y HUITO a diferentes concentraciones, se puede mencionar que el diclofenaco presenta mayor efecto antiinflamatorio en comparación del resto de grupos. En relación a los tratamientos con los extractos de MATICO y HUITO, se puede mencionar que los geles al 30% y 20% a base de los extractos de ambas plantas presentan mayor efecto antiinflamatorio en comparación de los extractos por lo tanto para el desarrollo del presente trabajo de investigación se optó por determinar el efecto antiinflamatorio tópico de los geles a base del extracto de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) en animales de experimentación.

6.2. Aplicación de los tratamientos con los geles de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

Tras la producción de la inflamación, se aplicaron los geles (0.2 ml aproximadamente) de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) utilizando una jeringa de tuberculina y esparciendo el contenido con un hisopo estéril.



Figura N°16 Aplicación del tratamiento

Fuente: Elaboración propia

Las mediciones posteriores del edema plantar se realizaron utilizando un pletismómetro manual y se midieron los volúmenes inflamados (en ml) de la pata posterior derecha de las ratas previamente marcadas, a 4, 5, 6 y 7 horas de aplicado los geles producto de los extractos.

6.3. Efecto antiinflamatorio de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO)

En la tabla N°11 se observa los resultados en volumen promedio de las 5 ratas de los 7 grupos, dichos datos se obtuvieron tras la medición de la inflamación de las patas en el pletismómetro expresadas en volúmenes (ml).

Tabla N° 11 Inflamación promedio (mL) +/- DS (n=5) antes y después de los tratamientos aplicados frente a la inflamación inducida con carragenina al 1 % en ratas.

TIEMPO (Horas)	CP (Diclofenaco 1%) Promedio (mL)	DS	CN (Gel Base) Promedio (mL)	DS	H30% Promedio (mL)	DS	H20% Promedio (mL)	DS	M30% Promedio (mL)	DS	M20% Promedio (mL)	DS	GMx20 % Promedio (mL)	DS
0	0.75	±0.0 1	0.75	±0.0 3	0.83	±0.0 3	0.80	±0.0 7	0.80	±0.0 4	0.75	±0.0 8	0.77	±0.0 3
3	1.98	±0.2 1	1.88	±0.1 8	2.10	±0.1 2	1.98	±0.1 6	2.05	±0.1 6	2.07	±0.0 2	1.94	±0.0 6
4	1.38	±0.0 8	1.91	±0.1 8	1.84	±0.0 8	1.8	±0.1 0	1.82	±0.0 9	1.82	±0.1 2	1.78	±0.0 9
5	1.10	±0.0 9	1.90	±0.1 5	1.56	±0.1 2	1.47	±0.1 5	1.66	±0.0 7	1.62	±0.0 3	1.66	±0.0 7
6	0.98	±0.0 2	1.93	±0.1 8	1.32	±0.0 8	1.17	±0.1 3	1.31	±0.1 5	1.21	±0.0 7	1.25	±0.1 1
7	0.80	±0.0 3	1.90	±0.1 1	1.09	±0.0 4	0.97	±0.0 2	1.05	±0.0 5	0.94	±0.0 3	1.16	±0.0 5

DS: Desviación estándar, **n:** número de ratas.

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 11 a la hora cero, se observa el promedio de volumen inicial que ocupaba las patas de las ratas antes de aplicarles carragenina al 1%, a las tres horas, se observa el incremento de los promedios de volúmenes de todos los grupos debido a la aplicación de carragenina, ese tiempo se consideró como el tiempo máximo al cual se produce la máxima inflamación, las horas 4, 5, 6 y 7, son los tiempos a los cuales se midieron las patas tras la aplicación de los geles.

En general se puede observar que el grupo Control negativo (CN) al cual se le inyectó carragenina al 1% y se le aplicó gel base, el volumen no varía en función del tiempo, en relación al grupo Control positivo (CP) al cual se le inyectó carragenina al 1% y se le aplicó Diclofenaco en gel al 1%, el volumen disminuye en función del tiempo lo que indica un efecto antiinflamatorio ampliamente conocido de dicho producto farmacéutico.

En relación al resto de grupos a los cuales se les aplicó carragenina al 1% y luego concentraciones diferentes de extractos de *Buddleja globosa* (MATICO) y *Genipa americana* (HUITO) bajo la forma de gel, se observa que los volúmenes promedio van disminuyendo en función del tiempo lo que indica el efecto antiinflamatorio de dichos extractos.

Los datos de la tabla N°11 se recalcularon restando los volúmenes medidos en el pletismometro menos los volúmenes basales para hallar el volumen de inflamación, estos datos se explican a detalle con la siguiente figura N°17 en donde se observan las líneas de tendencia de los volúmenes promedio en mililitros en función del tiempo en horas de los diferentes grupos de tratamiento.

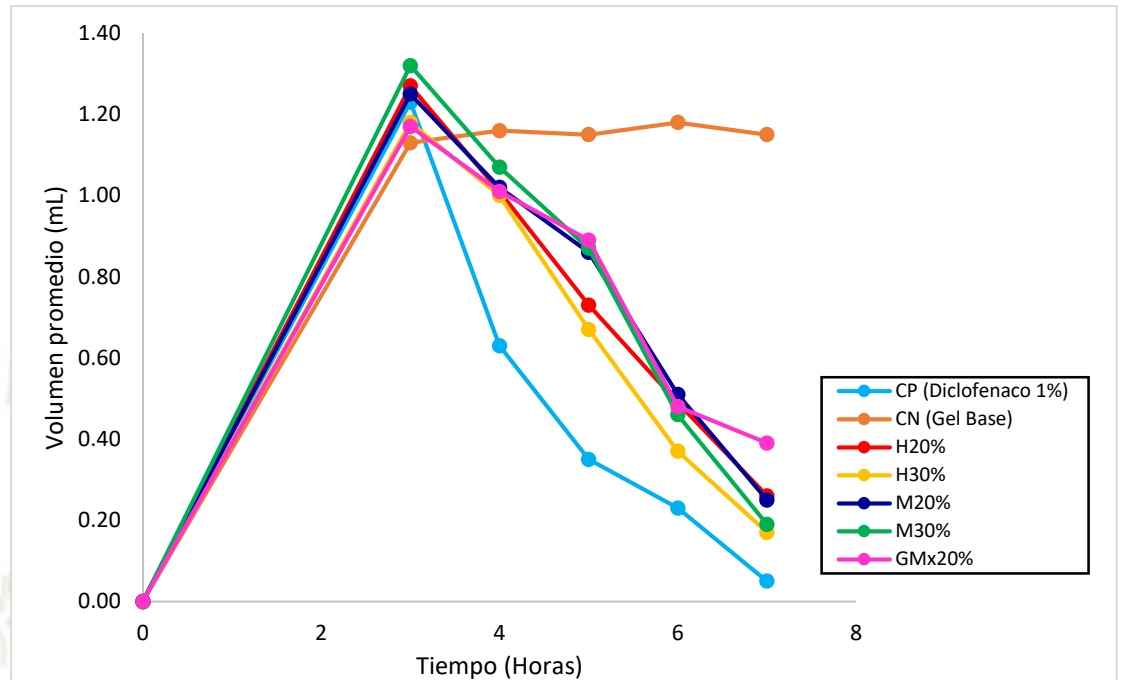


Figura N°17 Volumen promedio (ml) antes y después de los tratamientos aplicados frente a la inflamación inducida con carragenina al 1 % en ratas.

Fuente: Elaboración propia

En la figura N°17 se puede observar que tras la administración de carragenina al 1% a todos los grupos de experimentación, todos sufrieron la inflamación esperada dentro de las 3 horas, después de este tiempo, se puede observar que el grupo CN al cual solo se le administro gel base, los volúmenes promedio no varían en función del tiempo por lo que podemos mencionar que no hay influencia positiva o negativa de los excipientes del gel sobre el efecto antiinflamatorio.

En relación al grupo CP al cual se le administró diclofenaco en gel al 1%, los volúmenes promedio van disminuyendo en función del tiempo, dichos resultados son los esperados debido a que el diclofenaco en esa presentación es un antiinflamatorio ampliamente utilizado, los grupo H20% y H30% a los cuales se les administraron geles a base de extracto *Genipa americana* (HUITO) al 20% y 30% respectivamente, se observa que los volúmenes promedio van disminuyendo en función del tiempo y que si se compara ambas líneas de tendencia, se puede mencionar que los volúmenes promedio del grupo H30% disminuyen más que el grupo H20%, lo que indicaría que el

tratamiento del grupo H30% tiene mayor efecto antiinflamatorio que el grupo H20%, por otro lado, el grupo M20% y M30% a los cuales se les administraron geles a base de extracto *Buddleja globosa* (MATICO) al 20% y 30% respectivamente, se observa que los volúmenes promedio van disminuyendo en función del tiempo y que si se compara ambas líneas de tendencia, se puede mencionar que los volúmenes promedio del grupo M30% disminuyen más que el grupo M20%, lo que indicaría que el tratamiento del grupo M30% tiene mayor efecto antiinflamatorio que el grupo M20%. En relación al grupo GMx20%, al cual se le administro el gel mix al 20% a base de extracto de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO), los resultados obtenidos en la línea de tendencia indica que este gel mix tiene efecto antiinflamatorio pero menor en comparación con la línea de tendencia de M30% y H30%.

A continuación, se muestran resultados promedio de los porcentajes de inflamación y desinflamación de todos los grupos de tratamiento.

Tabla N°12 Efecto de los tratamientos sobre la inflamación inducida con carragenina al 1 % en ratas.

TIEMPO (Horas)	CP (Diclofenaco 1%) (%)	CN (Gel Base) (%)	H20% (%)	H30% (%)	M20% (%)	M30% (%)	GMx20% (%)
3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
4	51.22	102.65	79.53	84.75	81.60	81.06	86.32
5	28.46	101.77	57.48	56.78	68.80	65.91	76.07
6	18.70	104.42	38.58	31.36	40.80	34.85	41.03
7	4.07	101.77	20.47	14.41	20.00	14.39	33.33

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N°12, se muestran los porcentajes promedio de inflamación de todos los grupos de experimentación, se puede ver que para el caso de grupo CP el porcentaje de inflamación disminuye de 100% hasta un 4.07%, en relación al grupo CN no se observa la disminución de la inflamación, sino que

por el contrario esta se mantiene durante todo el periodo de evaluación de los grupos.

En cuanto a los grupos H20% Y H30%, los porcentajes de inflamación van disminuyendo del 100% hasta 20.47% y 14.41% respectivamente, un efecto similar se muestra en los porcentajes de los grupos M20% y M30% en donde la inflamación disminuye del 100% hasta un 20.00% y 14.39% respectivamente. Finalmente, el porcentaje promedio del grupo GMx20% disminuye del 100% hasta un 33.33%.

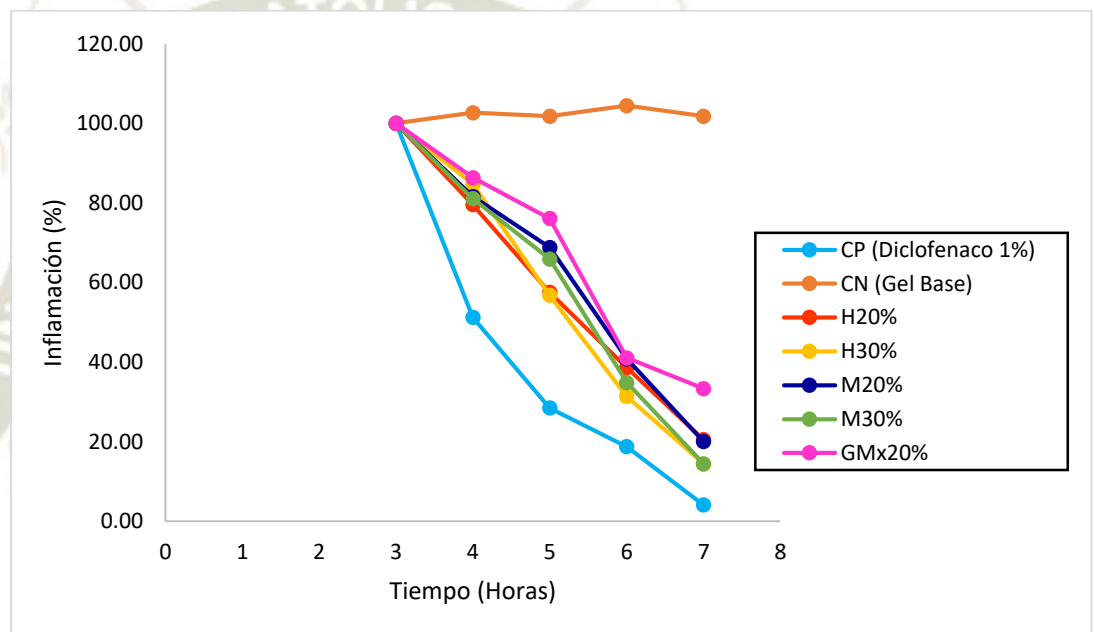


Figura N°18 Efecto de los tratamientos (n=5) sobre la inflamación inducida con carragenina al 1 % en ratas.

Fuente: Elaboración propia

En la figura N° 18 se observa gráficamente las líneas de tendencia de los porcentajes de inflamación en función del tiempo, se puede observar que el grupo CP en comparación con el resto de grupos de tratamiento, presenta menores porcentajes de inflamación mientras transcurre las horas, estos resultados son satisfactorios debido a que el grupo CP recibió como tratamiento diclofenaco en gel al 1%, por otro lado, los porcentajes promedio del grupo CN en comparación con el resto de grupos de tratamiento, se mantienen estables y no varían en función del tiempo por lo que se puede

mencionar que no hay injerencia de los excipientes del gel o algún otro factor interno o externo mientras se realizó la investigación. Finalmente, las líneas de tendencia de los grupos de tratamiento con los geles a base de extractos de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO), indican que los porcentajes promedio de todos estos grupos disminuyen en función del tiempo, observándose un menor porcentaje inflamación de H30% < M30% < H20%, < M20% y GMx20% respectivamente.

Tabla N°13 Porcentaje promedio de desinflamación producida por los tratamientos sobre la inflamación inducida con carragenina al 1 % en ratas.

TIEMPO (Horas)	CP (Diclofenaco 1%) (%)	CN (Gel Base) (%)	H20% (%)	H30% (%)	M20% (%)	M30% (%)	GMx20% (%)
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	48.78	-2.65	20.47	15.25	18.40	18.94	13.68
5	71.54	-1.77	42.52	43.22	31.20	34.09	23.93
6	81.30	-4.42	61.42	68.64	59.20	65.15	58.97
7	95.93	-1.77	79.53	85.59	80.00	85.61	66.67

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N°13, se muestra los porcentajes promedio de desinflamación de todos los grupos de experimentación, se puede ver que para el caso de grupo CP el porcentaje de desinflamación incrementa de 0.00% hasta un 95.93%, en relación al grupo CN, no se observa la disminución de la inflamación, sino que por el contrario esta incrementa ligeramente durante todo el periodo de evaluación de los grupos. En cuanto a los grupos H20% Y H30%, los porcentajes de desinflamación incrementan hasta 79.53% y 85.59% respectivamente, un efecto similar se muestra en los porcentajes de desinflamación de los grupos M20% y M30% en donde la desinflamación incrementa hasta un 80.00% y 85.61% respectivamente. Finalmente, el porcentaje promedio de desinflamación del grupo GMx20% incrementa hasta un 66.67%.

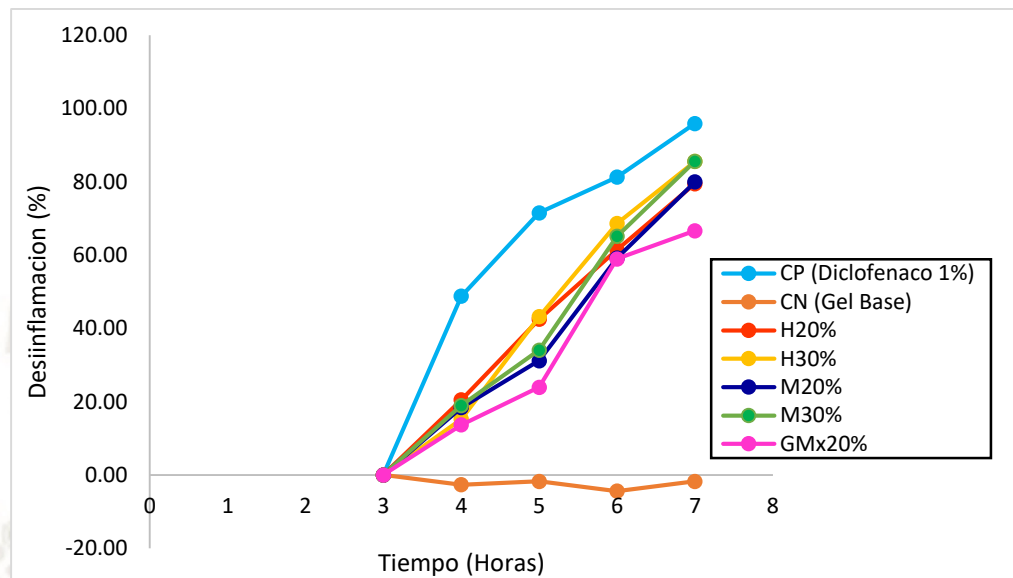


Figura N°19 Porcentaje promedio de desinflamación producida por los tratamientos sobre la inflamación inducida con carragenina al 1 % en ratas.

Fuente: Elaboración propia

En la figura N° 19 se observa gráficamente las líneas de tendencia de los porcentajes de desinflamación en función del tiempo, se puede observar que el grupo CP en comparación con el resto de grupos de tratamiento, presenta mayores porcentajes de desinflamación mientras transcurre las horas, estos resultados son satisfactorios debido a que el grupo CP recibió como tratamiento diclofenaco en gel al 1%, por otro lado, los porcentajes promedio del grupo CN en comparación con el resto de grupos de tratamiento, se mantienen estables y no varían en función del tiempo por lo que se puede mencionar que no hay injerencia de los excipientes del gel o algún otro factor interno o externo mientras se realizó la investigación. Finalmente, las líneas de tendencia de los porcentajes de desinflamación de los grupos de tratamiento con los geles a base de extractos de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO), indican que los porcentajes promedio de desinflamación de todos estos grupos incrementan en función del tiempo, observándose un mayor porcentaje desinflamación de CP > H30% < M30% > H20% > M20% > GMx20% > CN respectivamente.

Los resultados del análisis estadístico de comparación múltiple de ANOVA de una sola vía a un nivel de confianza del 95% ($p > 0.05$) son mostrados a continuación con la finalidad de ver si existe alguna diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes grupos de tratamiento y si así fuera el caso determinar qué tipo de tratamiento es el que tiene mayor efecto antiinflamatorio según el test de confirmación como es la prueba HSD de Tukey.

Tabla N°14 Análisis de varianza de una vía de los grupos de experimentación

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	35655.2	6	5942.54	231.26	0.0000	2.57
Dentro de los grupos	719.50	28	25.6965			
Total	36374.7	34				

Fuente: Elaboración propia

Los valores de F experimental y el F crítico del resultado de ANOVA, indican que existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los grupos experimentales, por lo que al menos uno de los 7 grupos es diferente lo que significa que los tipos de tratamiento tienen diferente porcentaje de efecto antiinflamatorio, para determinar que grupos son iguales y cuáles son los diferentes, se realizó la prueba de comparación múltiple HSD de Tukey.

Tabla N°15 Prueba HSD de Tukey

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
CN (Gel Base)	5	-6.32	A
GMx20%	5	66.54	B
M20%	5	79.25	C
M30%	5	80.19	C
H20%	5	85.41	C D
H30%	5	85.65	C D
CP (Diclofenaco 1%)	5	95.01	D

Fuente: Análisis estadístico Statgraphics Centurion XVI

En la tabla N°15 se muestran los resultados de la Prueba HSD de Tukey, dichos datos muestran que el grupo CN es diferente al resto de grupos, lo que indica que no hubo factores internos o externos al experimento que influenciaron nuestros resultados, en relación al grupo CP al cual se le administró diclofenaco en gel al 1%, el resultado de Tukey indica que este grupo NO DIFIERE significativamente de los tratamientos con HUITO al 20 y 30 %, el resto de grupos presentan resultados homogéneos excepto el mix de MATICO y HUITO, además se nota que los geles a base de extractos de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO), poseen efectos antiinflamatorios de la misma potencia.

A continuación, se muestra el diagrama de Caja y Bigotes en donde se determina la no existencia de dispersión y simetría de los datos analizados en los resultados estadísticos

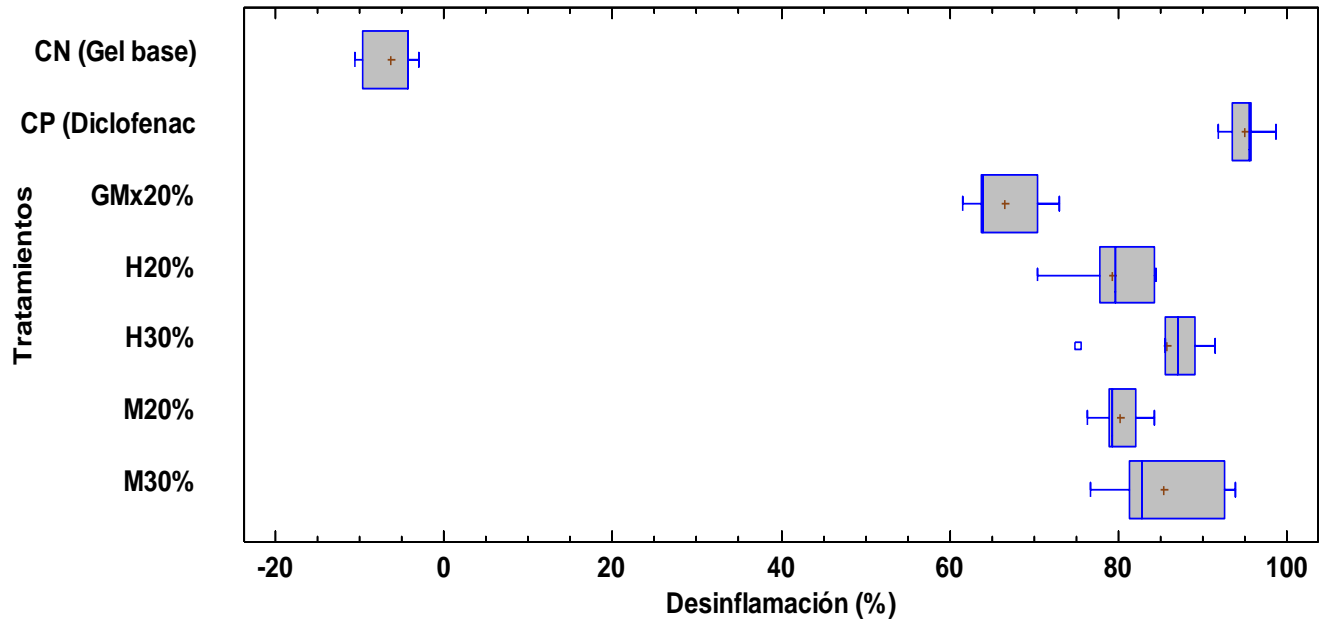


Figura N°20 Diagrama caja y bigotes de los grupos experimentales.

Fuente: Análisis estadístico Statgraphics Centurion XVI

Los resultados de comparación múltiple de Tukey del grupo GMx20%, muestra que el efecto antiinflamatorio de dicho grupo difiere significativamente con el efecto antiinflamatorio del resto de grupos, esto indica que los extractos de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO) si bien es cierto poseen efecto antiinflamatorio, sin embargo, al ser aplicados de manera conjunta, no se evidencia la potenciación sus efectos, por lo que, usar un extracto u otro, una concentración u otra, no influye en el efecto antiinflamatorio.

Los resultados del efecto antiinflamatorio de *Buddleja globosa* (MATICO) hallados en el presente trabajo de investigación, guarda relación con lo reportado el trabajo de investigación titulado “Fundamentación básica al uso etnomédico de matico (*Buddleja globosa* Hope)”, en dicho informe mencionan que el Ministerio de Salud de Chile reconoce al matico como medicamento herbario tradicional, basado en el conocimiento ancestral y la sólida evidencia preclínica por sus efectos analgésicos y antiinflamatorios, además mencionan que actualmente está en desarrollo un estudio clínico

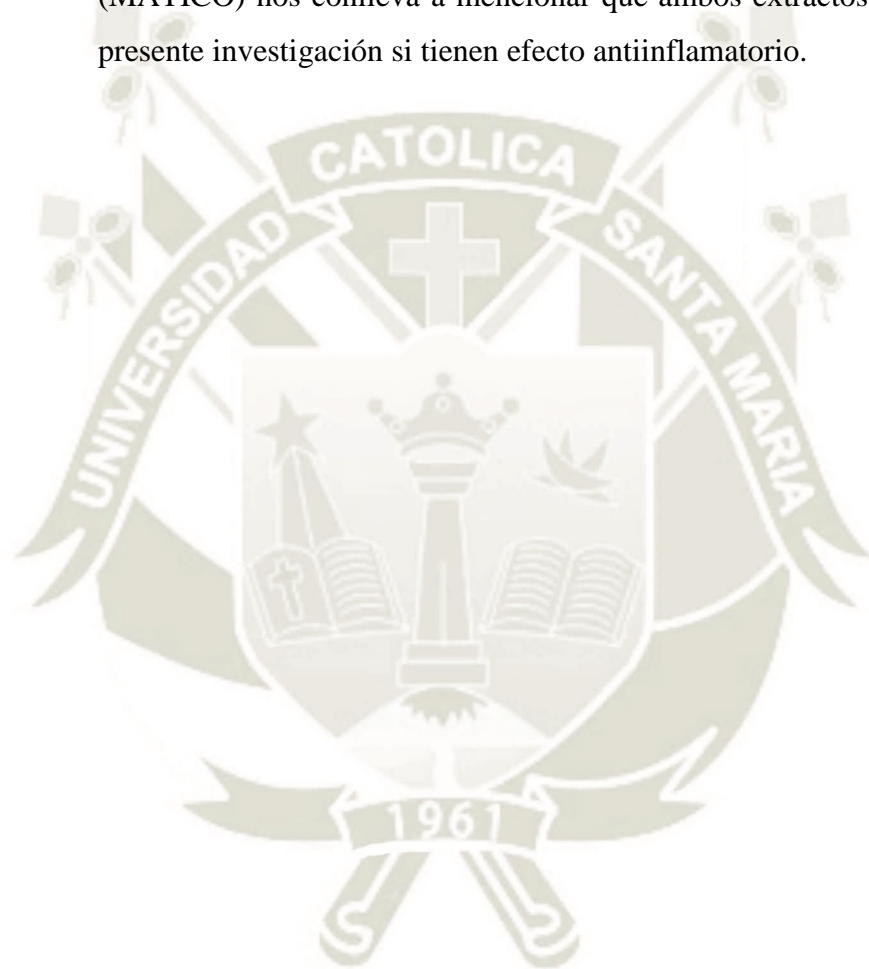
pionero en Chile con *Buddleja globosa* Hope como cicatrizante de heridas (37).

Por otro lado, en otro ensayo similar *Buddleja globosa* (Matico) mostró actividad antiinflamatoria en todos los extractos, en distinta intensidad, siendo el extracto con diclorometano (EDCM) más activo en todos los ensayos de actividad antiinflamatoria vía oral y tópica, en dichos extractos se detectaron como metabolitos predominantes, esteroides y triterpenos, y en menor proporción flavonoides y cumarinas (42). Además, reportan que el EDCM de *Buddleja globosa*, resultó no tóxico, necrótico y moderado inhibidor de NK-kB (42). En un trabajo parecido se utilizaron fármacos de referencia, naproxeno sódico en la actividad analgésica y antiinflamatoria (oral), indometacina y nimesulida, para la actividad antiinflamatoria tópica. Todas fueron sometidas a los controles de calidad correspondientes y a una evaluación sensorial para determinar su aceptación. Además, se realizó un estudio de irritación y sensibilidad dérmica. Como resultado la Monografía Oficial Instituto Salud Pública de Chile 10 extracto de diclorometano (EDD) de *Buddleja globosa* fue uno de los más activos antiinflamatorios tanto tópico como oral, como analgésico (43). Además, en otros ensayos parecidos reportan que los extractos con efectos analgésicos y antiinflamatorios más significativos, son los extracto etanólico purificado de *Buddleja globosa* (44). Se ha informado, además que dichos extractos etanolicos poseen propiedades inhibitorias de la COX y 5-LOX, poseen capacidad de inducir la proliferación y capacidad de reducción de la contracción del colágeno (42), finalmente, en un trabajo realizado por Budledina A y Acacetina R, reportaron efectos inhibitorios del extracto de *Buddleja globosa* sobre la COX y un efecto inhibitorio sobre 5-LOX (45).

En relación en el tamizaje fitoquímico de *Genipa americana* (HUITO) se halló que el extracto presenta compuestos Geniposidos, terpenos, flavonoides. Las propiedades antiinflamatorias de los flavonoides han sido reportados por diversos estudios (46) (47) (48), así como propiedades antioxidantes con capacidad de atrapar radicales libres como superóxidos, radicales oxidrilos, peróxidos o inhibir enzimas oxidativas como las ciclooxigenasas, fosfolipasa

A2 involucradas en procesos inflamatorios, además, existen reportes que los flavonoides previenen la peroxidación lipídica y favorecen el funcionamiento de las neuronas (47).

Finalmente, considerando las acciones bioquímicas de los metabolitos secundarios antes explicadas comparado con los metabolitos hallados en los extractos etanólicos de la *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO) nos conlleva a mencionar que ambos extractos estudiados en la presente investigación si tienen efecto antiinflamatorio.



CONCLUSIONES

Primero: Según las líneas de tendencia, se logró determinar que los geles a base de extractos de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO), poseen efecto antiinflamatorio en el siguiente orden CP > H30% > M30% > H20% > M20% > GMx20% > CN, sin embargo, al realizar un análisis estadístico, se concluye que todos los geles individuales poseen el mismo potencial antiinflamatorio.

Segundo: Tras realizar el tamizaje fitoquímico de los extractos, en *Buddleja globosa* (MATICO) se logró identificar taninos, flavonoides, terpenos y aucubina; en el extracto de *Genipa americana* (HUITO) se logró identificar flavonoides, terpenos y geniposidos. No se identificaron alcaloides en ningún extracto.

Tercero: Tras realizar una prueba piloto se determinó que los extractos a base de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO) si poseen efecto antiinflamatorio, las cuales se demostraron luego de la aplicación de carragenina produciendo edema subplantar en animales experimentales y de la aplicación de los extractos.

Cuarto: Se logró determinar al realizar la prueba de Tukey que los tratamientos con HUITO al 20 y 30 % en comparación con el diclofenaco no difieren significativamente.

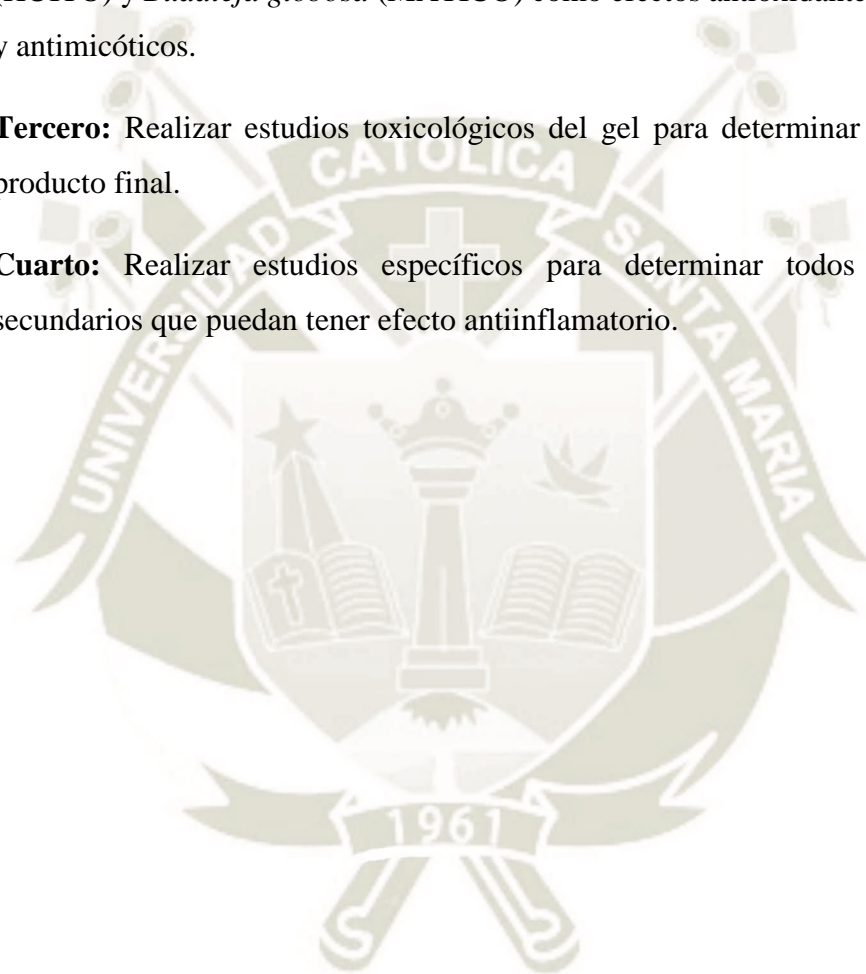
RECOMENDACIONES

Primero: Difundir el uso tópico de los geles de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO) por sus propiedades antiinflamatorias.

Segundo: Realizar estudios para determinar otras propiedades de *Genipa americana* (HUITO) y *Buddleja globosa* (MATICO) como efectos antioxidantes, antibacterianos y antimicóticos.

Tercero: Realizar estudios toxicológicos del gel para determinar la inocuidad del producto final.

Cuarto: Realizar estudios específicos para determinar todos los metabolitos secundarios que puedan tener efecto antiinflamatorio.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Castañeda C, Manrique M, Ibañez V, Gamarra C, Galan L, Quispe H. Evaluación del Efecto Antiinflamatorio del Extracto Acuoso de las Semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi, Chocho), en Animales de Experimentación. Trabajo de Investigación Doctoral. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002.
2. Gutiérrez F, Canales R. Comparative evaluation of the diversity in relation to altitude of wild flora from the island of Taquile and mount Chiani, Puno, Perú. *Ecol. apl.* 2012; 11(2): p. 39-46.
3. Machado J, Carvajal V, Cataño E. Machado J., Carvajal V., Cataño E. Estudio farmacoepidemiológico de uso de anti-inflamatorios no esteroideos en pacientes de alto riesgo cardiovascular. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2013; 30(4): p. 626-629.
4. Del Campo M, Canales A. Pervivencia de los remedios vegetales tradicionales americanos en la terapéutica española actual. Universidad Complutense De Madrid. Universidad Complutense De Madrid; 2014.
5. Navas L. Flora de la cuenca de Santiago de Chile, Tomo 111 Santiago: Universidad de Chile; 1979.
6. Montes M, Wilkomirsky T. Medicina tradicional chilena Concepción: Universidad de Concepción 1985.
7. Chávez L. MATICO (*Buddleja globosa*) y extracto de uña de gato y sábila en la cicatrización de heridas cutáneas inducidas en cuyes (*cavia porcellus*). Tesis de título profesional. Huánuco: Universidad Nacional Hermilio Valdizan; 2015.
8. Sbarbati S. norma estabilidad de medicamentos Buenos Aires: El ateneo.; 1975.
9. Pardo F. Isolation of Serbascoside, an antimicrobial constituent of *Buddleja globosa* leaves. *Journal of Ethnopharmacology.* 1993; 39: p. 221-222.

10. Houghton P. Ethnopharmacology of some Buddleja species. *Journal of Ethnopharmacology*. 1984; 11(3): p. 293-308.
11. Mielke M, De Almeida A, Gomez F, Aguilar M, Magabeira P. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of. *Environmental and Experimental*. 2003; 50: p. 221-231.
12. Miranda C, Cárdenas G. Evaluación de la potencialidad del fruto de HUITO (Genipa americana) como fuente de colorante natural. Tesis de Título Profesional. Puerto Maldonado: Genipa americana; 2015.
13. Epstein L. Cultivo e aproveitamento do jenipapo. *Bahia Agricola*. 2001; 4(3): p. 23-24.
14. Gottieb O, Mors W. Potential Utilization Of Brazilian Wood Extractives. *Journal of Agricultura! and food Chemistry*. 1980; 28(2): p. 196-215.
15. Borges E, Rezende C. Min aroma constituents of genipap (Genipa. *Journal of EssentiaiOiiResearch*. 2000; 12: p. 71-74.
16. León Regal ML, Alvarado Borges A, De Armas García O, Miranda Alvarado, Varens Cedeño, Cuesta del Sol. Inflammatory Acute Response. *Biochemical and Cellular Considerations. Rev. Finlay*. 2015; 5(1): p. 47-62.
17. Gómez R, Guerra T, Dita L, Fernández J, Cabrera M. Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares. *Medisur*. 2011; 9(2).
18. Villalba Herrera W. Inflamacion. *Act. Clin. Med*. 2014;; p. 2261-2265.
19. Villena, Arroyo JL. Anti-inflammatory effect of hydroalcoholic extract from *Oenothera rosea* (yawar socco) in rats with induction to acute and chronic inflammation. *Ciencias e Investigacion*. 2012;; p. 15-19.
20. Jacobo D, Zúñiga G. Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico de la asociación del extracto de Púnica granatum "Granada" y Plantago major "Llanten" en animales de experimentación-Arequipa 2016. Tesis de grado. Arequipa:

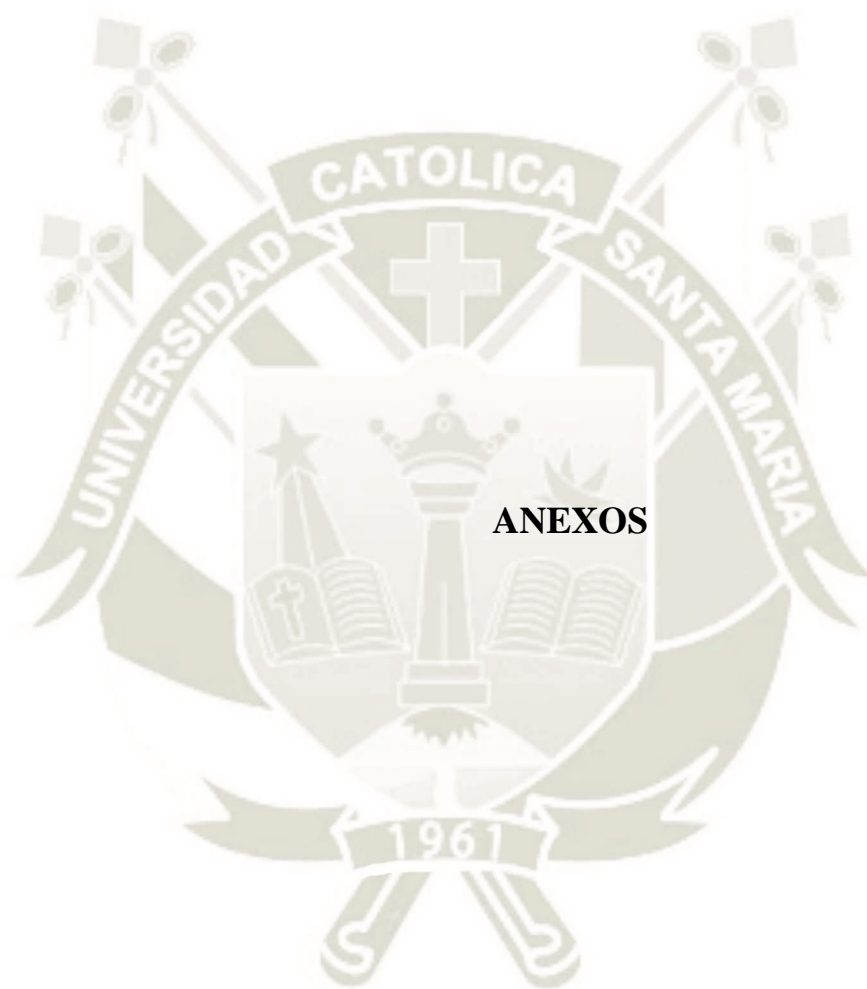
Universidad Católica de Santa María; 2016.

21. Salas de la Torre N, Córdova Castañeda C, Lengua Calle , Anaya Meléndez F. Cuantificación de κ y λ -carragenanos a partir de la macroalga *Chondracanthus chamissoi*. Rev. Soc. Quím. Perú. 2009; 75(4): p. 414-421.
22. Vitalone H, Torres Nieto G, Valdes JC, Davolio M. Efecto de la carragenina e indometacina sobre el crecimiento de un fibrosarcoma murino. 2010; 60(2).
23. Vega R, Lagarto A. Evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto de *Piper auritum* H.B.K. y toxicidad aguda oral. Rev Cubana Plant Med. 1999.
24. López García B, Ortonobes Roig S, García Rebollar CA. Ungüentos, pomadas, cremas, geles y pastas. Form Act Pediatr Aten Prim. 2015; 8(4): p. 183-187.
25. Caldas Avila AP. Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido. Ecuador; 2012.
26. Caldas Avila P. "Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido". Universidad de la Cuenca. 2012;: p. 1-48.
27. Gonzalez A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del amazonas. ; 2004.
28. Quattrocchi O, Abelaira S, Laba E. Introducción al HPLC - Aplicación y Práctica. Universitaria de Buenos Aires. 1992.
29. Condori Hanco C, García Puma T. "Efecto antiinflamatorio tópico de *Oenothera rosea* (YAHUAR CHONKA) Y *Caiophora cirsiifolia* (ORTIGA COLORADA) en animales de experimentación. Tesis. Arequipa: Universidad Católica de Santa María, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.
30. Gallego V, Arango S, Cano D, Puerta J, Cardona W. Geles con acción espermicida a base de plantas. Rev Cubana Plant Med. 2015 Junio; 20(2): p. 212-215.
31. Alejandro A. Elaboración de gel antibacterial. Revista Enlace Químico. 2009

- Noviembre; 2(6): p. 1-49.
32. Hurtado N, Rodriguez C. Estudio cualitativo y cuantitativo de la flora medicinal del minucipio de copandaro de Galeana. Polibotanica. 2006; 22: p. 21-50.
 33. Cárdenas J. Acción Analgésica, Antiinflamatoria De La Infusión Acuosa De Grindelia Boliviana Rusby (Chiri Chiri) En Ratones Albinos. ; 2014.
 34. Miller J, Miller J. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4th ed. Madrid: Madrid; 2002.
 35. Francis J. Genipa americana L. Jagua, genipa. 2005;; p. 231-235.
 36. Rivas A. Obtención y caracterización del entrecruzante naturalgenipina a partir del fruto del caruto (Genipa americana L.). Laboratorio de Polímeros. 2014;; p. 3-99.
 37. Bustamante S, Alvarez N, Mendiburen R, Vergara F, Zarate I, Collado C, et al. Fundamentación básica al uso etnomédico de MATICO (Buddleja globosa Hope). Revista de Fitoterapia. 2015; 15: p. 37-51.
 38. Romo A. Química de la Flora Mexicana. Investigaciones en el Instituto de Química UNAM. 2006;; p. 50.
 39. Leal Toro MA. Evaluación del efecto antiinflamatorio de un concentrado de frutos de aristotelia chilensis en un modelo de inflamación aguda subplantar inducida por carragenina en ratas. Instituto de Farmacología y Morfología. 2009;; p. 3-45.
 40. Goodman , Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena ed. Mexico: McGraw-Hill; 1996.

41. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin induced edema in the hind paw of the rat as assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med.* 2001; 141: p. 544-47.
42. Backhouse N, Erazo S, Negrete R, Rosales L, Ramirez F. Avances en la búsqueda de compuestos antiinflamatorios y antiartríticos en especies chilenas: *Buddleja globosa* y *Fabiana densa*. *I Congreso iberoamericano de Química Fina Farmaceutica CYTED.* 2002.
43. Backhouse N, Erazo S, Negrete R, Correa O, Costa E, Fernández M, et al. Evaluación farmacológica y química de *Buddleja globosa* Hope, *Buddlejaceae*. Diseño y evaluación de un preparado dermatológico Estandarización de su cultivo. *Encuentro De Investigación y Creacion.* 2003.
44. Delporte C, Negrete R, Saavedra A, Peredo N, Aguirre M. Impacto de la variación estacional en la eficacia de *Ugni molinae* y *Buddleja globosa*, especies nativas chilenas. *Simposio FAPRONATURA.* 2006.
45. Mensah, A, Houghton P, Bloomfield, S, Vlietinck A, Berghe D. Novel and Known Constituents from *Buddleja* Species Novel and Known Constituents from *Buddleja* Species. 1999;: p. 1241 – 1245.
46. Enciso E, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (MATICO de puna) en un modelo experimental en ratas. *An Fac med.* 2011; 4(72): p. 231-7.
47. Arroyo A, Villena N. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. *Ciencia e Investigación.* 2012; 1(15): p. 15-19.
48. Dominguez C, Fernández P, Figueredo P, Hernández I, Sanabria M, González R, et al. Echevarría M. Efecto antiinflamatorio del Extracto Acuoso Liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. en ratas. *Acta Farm. Bonaerense.* 2004; 4(23): p. 492-7.

49. Garibay Ayala E, Villacorta Grandez J. Efecto antiinflamatorio del extracto etanolico del fruto de genipa americana “wito” en animales de experimentación. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2018.
50. Vogel, gerhard h.: “Drug discovery and evaluation” pharmacological assays 2ª edicion, 2002.editorial springer-verlag Berlin heidelberg printed in Germany.
51. Guadarrama Flores, Berenice.: “Determinación de la actividad antiinflamatoria de dos muestras de sphaeralcea angustifolia y la interacción del extracto activo con fármacos de uso clínico” México diciembre, 2006
52. M. Poma, Elizabeth.: “Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la annona muricata l. (guanábana) de cuzco” Facultad de Farmacia y Bioquimica UNMSM 2011.
53. Matiz, Eduardo Germán.: “Anti-inflammatory activity of flowers and leaves of caesalpinia pulcherrima l. (swartz)” Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Cartagena 2011.



ANEXOS

ANEXO 1

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS MUESTRAS SEGÚN
HERBARIUM AREQUIPENSE DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN
AGUSTÍN



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



CONSTANCIA N° 040-2019-HUSA

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

HACE CONSTAR:

Que la muestra preservada del espécimen presentada por Lizbeth Karla Macedo Riquelme y Señora Fabiola Meza Triveños egresado de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María, para la ejecución de su Tesis "Efecto antiinflamatorio tópico del gel a base del extracto de *Buddleja globosa* (matico) y *Genipa americana* (huito) en animales de experimentación". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico seco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino	Plantae
Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Scrophulariaceae
Genero	<i>Buddleja</i>
Especie	<i>Buddleja globosa</i> Hope

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

Arequipa 06 de mayo del 2019.




Blgo. Leoncio Mariño Herre
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
Teléfono: (054) 237755 / 993659045
Apartado Postal: 0028
AREQUIPA – PERÚ



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



CONSTANCIA N° 077-2018-HUSA

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

HACE CONSTAR:

Que la muestra fresca presentada por Señora Fabiola Meza Triveños y Lizbeth Karla Macedo Riquelme bachilleres de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María, fueron traídas al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para la realización de su trabajo de investigación "Efecto antiinflamatorio tópico del gel a base del extracto de *Budleja globosa* (matico) y *Genipa americana* (huito) en animales de experimentación – Arequipa 2018". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente especie.

Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Gentianales
Familia	Rubiaceae
Subfamilia	Ixoroideae
Genero	Genipa
Especie	<i>Genipa americana</i> L "Huito"

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

Arequipa 18 de diciembre del 2018.


Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR



Herbarium Arequipense (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
Teléfono: (054) 237755 / 993659045
Apartado Postal: 0028
AREQUIPA – PERÚ

ANEXO 2

RESULTADOS DE LA PRUEBA PILOTO

Tabla 1. Resultados en mL de Inflamación

Condición	Hora	Ex-Ma 5%	Ex- Ma 10%	Ex-Ma 20%	Ex-Ma 30%	Ex-Hu 5%	Ex-Hu 10%	Ex-Hu 20%	Ex-Hu 30%	Gel-Mix 20 %	Gel-Mix 30 %	Diclofenaco 1 %	Gel Base	Blanco
Basal	0	0.64	0.71	0.69	0.76	0.8	0.69	0.88	0.73	0.72	0.81	0.76	0.78	0.66
Inf-Max/ App-Tto	3	1.73	1.68	2.19	1.94	1.52	2.02	1.56	1.94	2.2	1.8	1.84	1.75	1.73
	4	1.49	1.46	1.74	1.57	1.51	1.64	1.37	1.47	1.92	1.33	1.48	1.78	1.74
Seguimiento	5	1.45	1.43	1.68	1.48	1.35	1.63	1.34	1.44	1.74	1.3	1.33	1.79	1.76
	6	1.43	1.42	1.62	1.38	1.33	1.63	1.33	1.42	1.72	1.29	1.27	1.79	1.77
	7	1.41	1.40	1.53	1.36	1.31	1.61	1.31	1.4	1.45	1.27	1.25	1.82	1.78

*Ex= Extracto, Ma= MATICO, Mix= Mezcla de geles de MATICO y HUITO, Inf-Mac= Inflamación máxima y App-Tto= Aplicación de tratamientos

Tabla 2. Inflamación producida

Hora	Ex-Ma 5%	Ex- Ma 10%	Ex-Ma 20%	Ex-Ma 30%	Ex-Hu 5%	Ex-Hu 10%	Ex-Hu 20%	Ex-Hu 30%	Gel-Mix 20 %	Gel-Mix 30 %	Diclofenaco 1 %	Gel Base	Blanco
3	1.09	0.97	1.5	1.18	0.72	1.33	0.68	1.21	1.48	0.99	1.08	0.97	1.07
4	0.85	0.75	1.05	0.81	0.71	0.95	0.49	0.74	1.2	0.52	0.72	1	1.08
5	0.81	0.72	0.99	0.72	0.55	0.94	0.46	0.71	1.02	0.49	0.57	1.01	1.1
6	0.79	0.71	0.93	0.62	0.53	0.94	0.45	0.69	1.00	0.48	0.51	1.01	1.11
7	0.77	0.69	0.84	0.60	0.51	0.92	0.43	0.67	0.73	0.46	0.49	1.04	1.12

*Ex= Extracto, Ma= MATICO, Mix= Mezcla de geles de MATICO y HUITO

Tabla 3. Porcentaje de Inflamación

Hora	Ex-Ma 5%	Ex- Ma 10%	Ex-Ma 20%	Ex-Ma 30%	Ex-Hu 5%	Ex-Hu 10%	Ex-Hu 20%	Ex-Hu 30%	Gel-Mix 20 %	Gel-Mix 30 %	Diclofenaco 1 %	Gel Base	Blanco
3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
4	77.98	77.32	70.00	68.64	98.61	71.43	72.06	61.16	81.08	52.53	66.67	103.09	100.93
5	74.31	74.23	66.00	61.02	76.39	70.68	67.65	58.68	68.92	49.49	52.78	104.12	102.80
6	72.48	73.20	62.00	52.54	73.61	70.68	66.18	57.02	67.57	48.48	47.22	104.12	103.74
7	70.64	71.13	56.00	50.85	70.83	69.17	63.24	55.37	49.32	46.46	45.37	107.22	105.61

*Ex= Extracto, Ma= MATICO, Mix= Mezcla de geles de MATICO y HUITO

Tabla 4. Efecto antiinflamatorio

Hora	Ex-Ma 5%	Ex- Ma 10%	Ex-Ma 20%	Ex-Ma 30%	Ex-Hu 5%	Ex-Hu 10%	Ex-Hu 20%	Ex-Hu 30%	Gel-Mix 20 %	Gel-Mix 30 %	Diclofenaco 1 %	Gel Base	Blanco
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	22.02	22.68	30.00	31.36	1.39	28.57	27.94	38.84	18.92	47.47	33.33	-3.09	-0.93
5	25.69	25.77	34.00	38.98	23.61	29.32	32.35	41.32	31.08	50.51	47.22	-4.12	-2.80
6	27.52	26.80	38.00	47.46	26.39	29.32	33.82	42.98	32.43	51.52	52.78	-4.12	-3.74
7	29.36	28.87	44.00	49.15	29.17	30.83	36.76	44.63	50.68	53.54	54.63	-7.22	-5.61

*Ex= Extracto, Ma= MATICO, Mix= Mezcla de geles de MATICO y HUITO

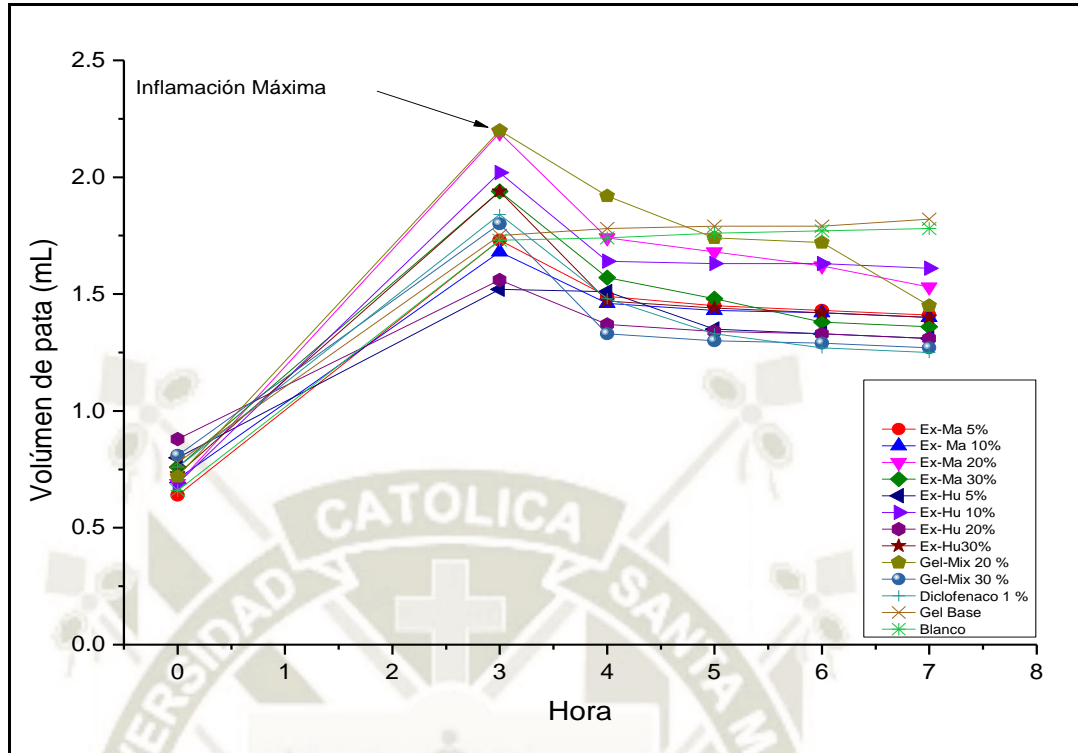


Figura 1. Volumen de pata (mL) en función del tiempo

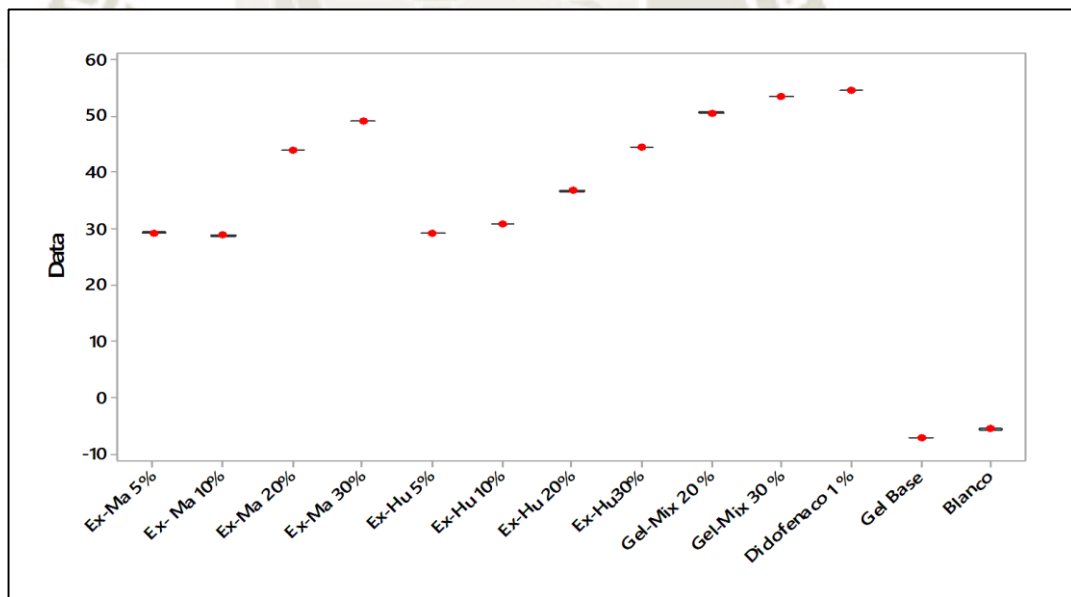


Figura 2. Diagrama de cajas para la comparación de grupos experimentales

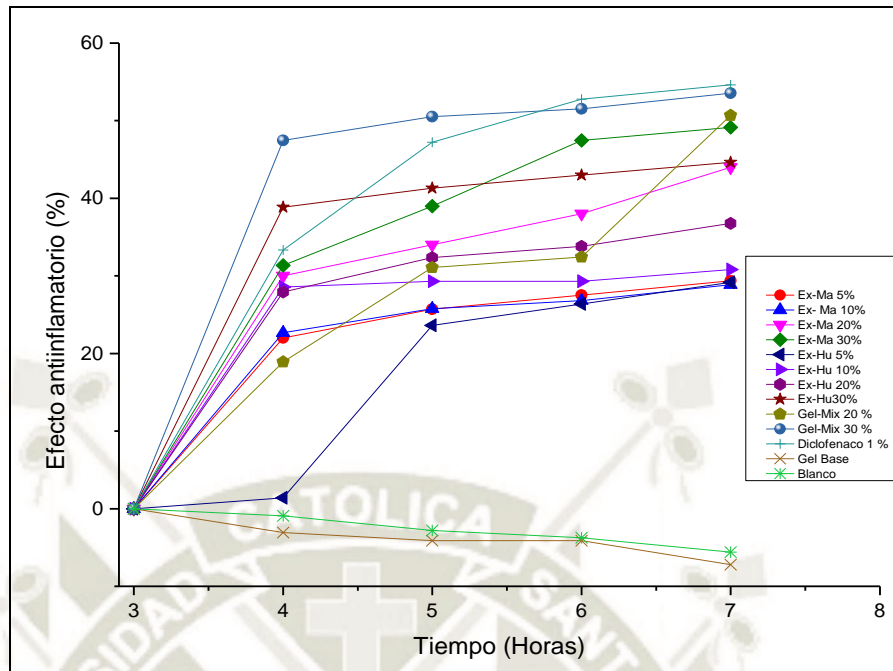


Figura 3. Efecto antinflamatorio de los tratamientos

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Diclofenaco 1 %	3	54.6296	A
Gel-Mix 30 %	3	53.5354	B
Gel-Mix 20 %	3	50.6757	C
Ex-Ma 30%	3	49.1525	D
Ex-Hu30%	3	44.6281	E
Ex-Ma 20%	3	44.0000	F
Ex-Hu 20%	3	36.7647	G
Ex-Hu 10%	3	30.8271	H
Ex-Ma 5%	3	29.3578	I
Ex-Hu 5%	3	29.1667	J
Ex- Ma 10%	3	28.8660	K
Blanco	3	-5.6075	L
Gel Base	3	-7.2165	M

Figura 4. Test de Tukey

ANEXO 3

DATOS GENERALES DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

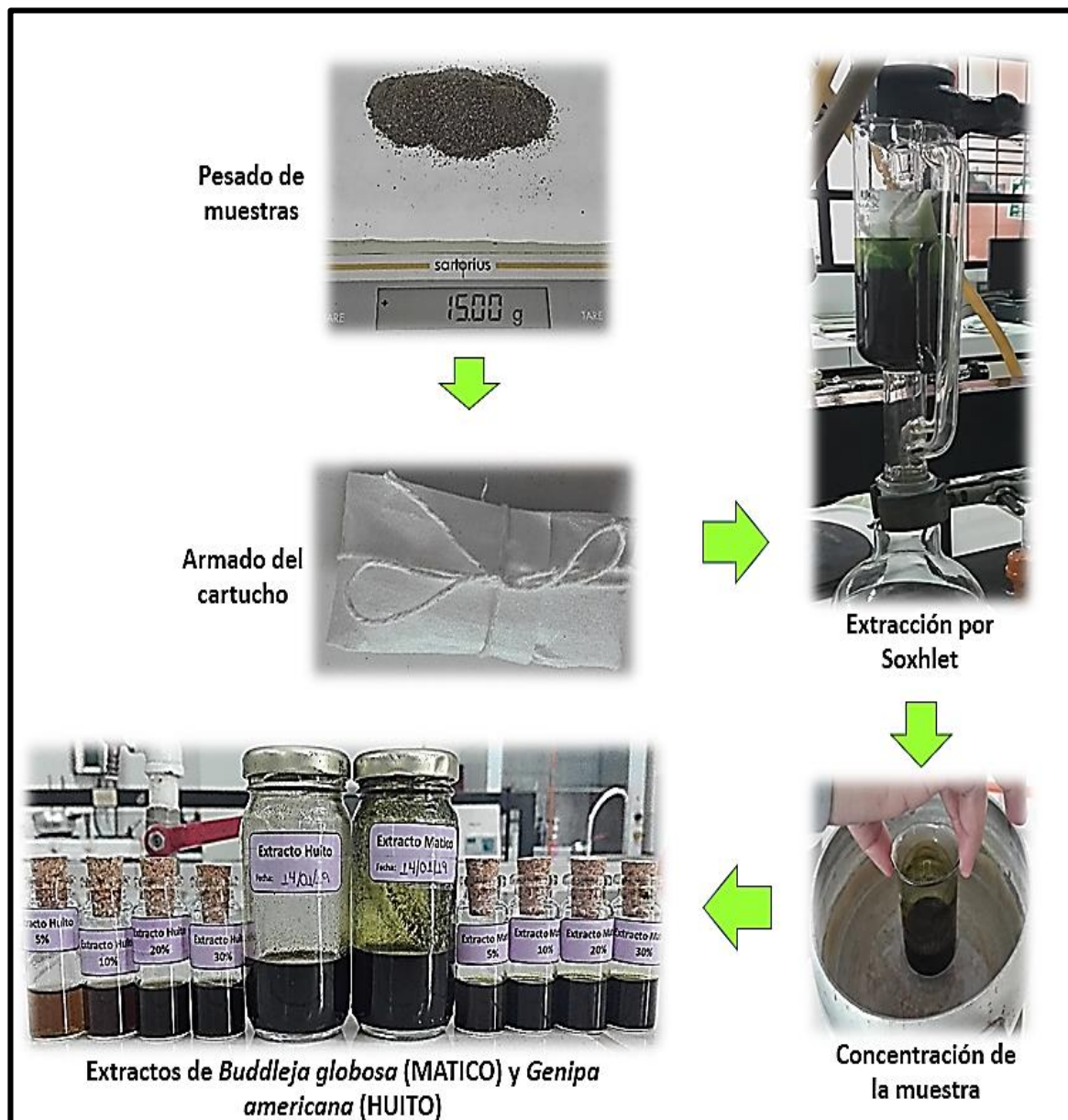
GRUPO	RATA	PESO	BASAL	APLIC. CARRAGENINA	1H	2H	3H	APLIC. GEL	4H	5H	6H	7H
H20%	Cabeza	390	0.86	0.2ml	2.02	2.11	2.25	HUITO 20%	1.98	1.61	1.30	1.08
	Dorso	370	0.85	0.2ml	1.75	1.86	2.00	HUITO 20%	1.78	1.75	1.40	1.03
	Cola	321	0.79	0.2ml	1.99	2.09	2.18	HUITO 20%	1.82	1.43	1.20	1.10
	Pata Anterior Derecha	324	0.80	0.2ml	1.78	1.87	1.98	HUITO 20%	1.78	1.51	1.30	1.15
	Pata Posterior Derecha	355	0.85	0.2ml	1.88	1.95	2.08	HUITO 20%	1.86	1.50	1.38	1.10
	PROMEDIO	352.00	0.83		1.88	1.98	2.10		1.84	1.56	1.32	1.09
	DS	29.67	0.03		0.12	0.12	0.12		0.08	0.12	0.08	0.04
H30%	Pata Anterior Izquierda	381	0.86	0.2ml	2.01	2.13	2.25	HUITO 30%	1.93	1.49	1.28	0.98
	Pata Posterior Izquierda	259	0.68	0.2ml	1.77	1.83	1.97	HUITO 30%	1.78	1.70	1.33	1.00
	Patas Lado Derecho	345	0.83	0.2ml	1.67	1.84	1.91	HUITO 30%	1.80	1.41	1.10	0.97
	Patas Lado Izquierdo	318	0.81	0.2ml	1.68	1.75	1.85	HUITO 30%	1.65	1.30	1.08	0.96
	Patas Delanteras	338	0.82	0.2ml	1.75	1.84	1.92	HUITO 30%	1.86	1.45	1.04	0.94
	PROMEDIO	328.20	0.80		1.78	1.88	1.98		1.80	1.47	1.17	0.97
	DS	44.89	0.07				0.16		0.10	0.15	0.13	0.02
M20%	Patas Posteriores	341	0.82	0.2ml	2.00	2.12	2.22	MATICO 20%	1.80	1.76	1.10	1.04
	Patas Cruzadas	356	0.86	0.2ml	1.98	2.11	2.20	MATICO 20%	1.97	1.63	1.38	1.10
	4 Patas	327	0.80	0.2ml	1.86	1.95	2.07	MATICO 20%	1.82	1.61	1.23	1.10
	Cabeza - Dorso	301	0.76	0.2ml	1.71	1.82	1.92	MATICO 20%	1.78	1.60	1.41	1.00
	Dorso - Cola	311	0.77	0.2ml	1.58	1.73	1.86	MATICO 20%	1.74	1.68	1.45	1.00
	PROMEDIO	327.20	0.80		1.83	1.95	2.05		1.82	1.66	1.31	1.05
	DS	22.19	0.04				0.16		0.09	0.07	0.15	0.05
M30%	Cabeza - Dorso - Cola	372	0.85	0.2ml	2.14	2.23	2.32	MATICO30%	1.97	1.61	1.20	0.96
	Cabeza Pata Ant. Derecha	340	0.82	0.2ml	1.97	2.04	2.12	MATICO30%	1.78	1.61	1.12	0.90

	Cabeza Pata Post. Derecha	270	0.70	0.2ml	1.76	1.83	1.98	MATICO30%	1.74	1.58	1.21	0.92
	Cabeza Pata Ant. Izquierda	258	0.68	0.2ml	1.71	1.86	1.92	MATICO30%	1.68	1.66	1.31	0.97
	Cabeza Pata Post. Izquierda	282	0.72	0.2ml	1.84	1.94	2.00	MATICO30%	1.91	1.62	1.21	0.96
	PROMEDIO	304.40	0.75		1.88	1.98	2.07		1.82	1.62	1.21	0.94
	DS	49.18	0.08				0.16		0.12	0.03	0.07	0.03
GMx20%	Cabeza Pata Lado Derecho	309	0.78	0.2ml	1.74	1.82	1.93	Mix 20%	1.82	1.73	1.23	1.12
	Cabeza Pata Lado Izquierdo	337	0.81	0.2ml	1.77	1.85	1.97	Mix 20%	1.78	1.63	1.10	1.23
	Cabeza Patas Delanteras	286	0.73	0.2ml	1.70	1.83	1.92	Mix 20%	1.74	1.61	1.38	1.16
	Cabeza Patas Posteriores	298	0.76	0.2ml	1.89	1.95	2.02	Mix 20%	1.91	1.75	1.31	1.10
	Cabeza Patas Cruzadas	284	0.75	0.2ml	1.63	1.76	1.87	Mix 20%	1.67	1.60	1.21	1.18
	PROMEDIO	302.80	0.77		1.75	1.84	1.94		1.78	1.66	1.25	1.16
	DS	21.60	0.03				0.06		0.09	0.07	0.11	0.05
CP	Cabeza 4 Patas	287	0.76	0.2ml	1.87	2.00	2.13	Diclofenaco	1.49	1.01	0.98	0.82
	Dorso Pata Ant. Derecha	293	0.74	0.2ml	1.91	2.12	2.22	Diclofenaco	1.39	1.02	1.01	0.76
	Dorso Pata Post. Derecha	282	0.75	0.2ml	1.78	1.87	1.99	Diclofenaco	1.40	1.20	1.00	0.83
	Dorso Pata Ant. Izquierda	280	0.74	0.2ml	1.69	1.78	1.85	Diclofenaco	1.30	1.11	0.97	0.79
	Dorso Pata Post. Izquierda	283	0.74	0.2ml	1.57	1.65	1.71	Diclofenaco	1.31	1.20	0.95	0.82
	PROMEDIO	285.00	0.75		1.76	1.88	1.98		1.38	1.11	0.98	0.80
	DS	5.15	0.01				0.21		0.08	0.09	0.02	0.03
CN	Dorso Patas Lado Derecho	299	0.76	0.2ml	1.78	1.81	1.92	Gel base	1.92	1.94	1.96	1.97
	Dorso Patas Lado Izquierdo	326	0.80	0.2ml	1.98	2.04	2.16	Gel base	2.19	2.10	2.22	2.03
	Dorso Patas Delanteras	289	0.74	0.2ml	1.58	1.68	1.76	Gel base	1.77	1.77	1.78	1.79
	Dorso Patas Posteriores	277	0.73	0.2ml	1.47	1.59	1.68	Gel base	1.72	1.74	1.76	1.78
	Dorso Patas Cruzadas	275	0.72	0.2ml	1.75	1.82	1.90	Gel base	1.93	1.93	1.95	1.95
	PROMEDIO	293.20	0.75		1.71	1.79	1.88		1.91	1.90	1.93	1.90
	DS	20.74	0.03				0.18		0.18	0.15	0.18	0.11

Fuente: Elaboración propia

ANEXO 4

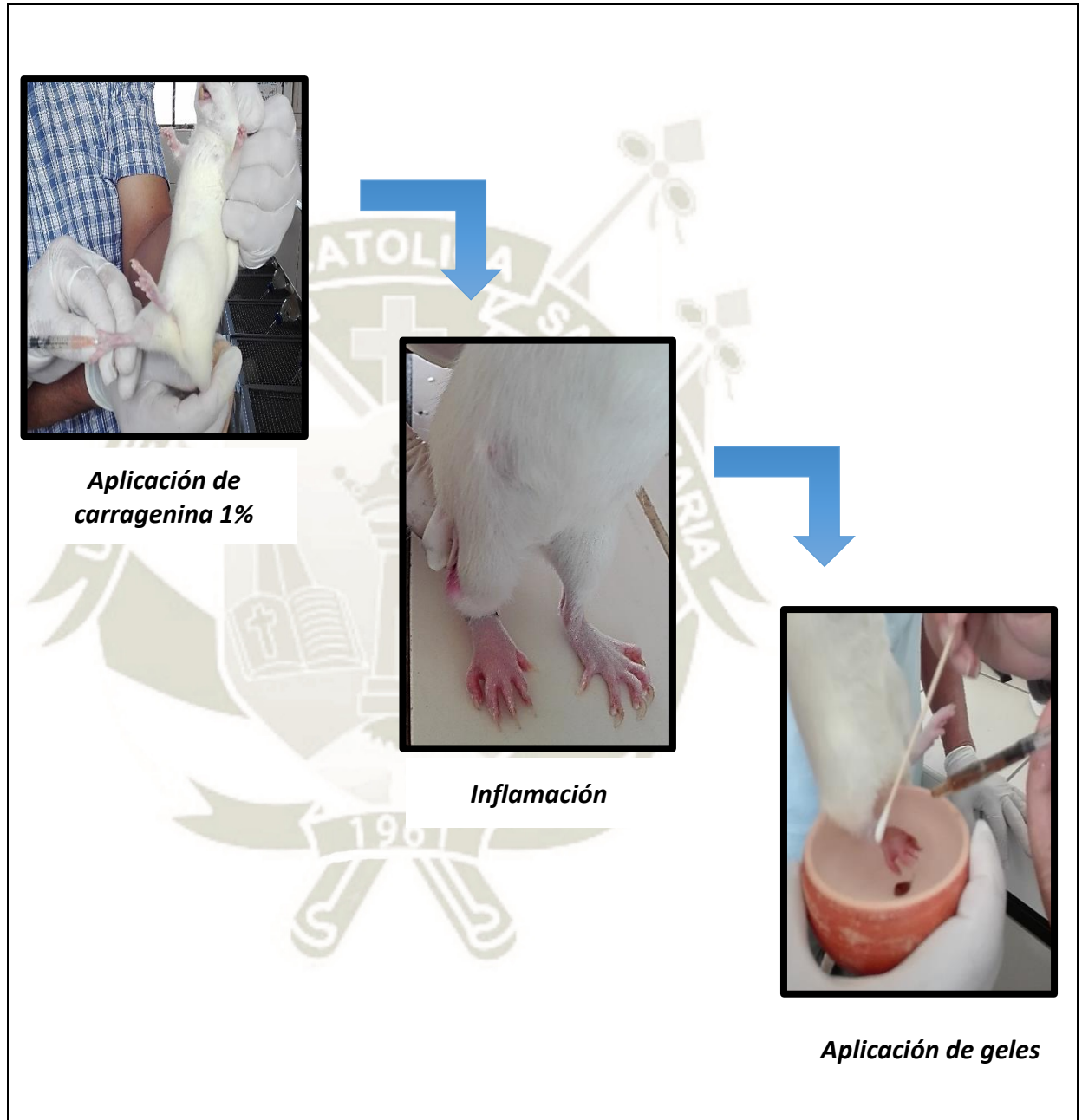
EXTRACCIÓN DE METABOLITOS EN EQUIPO SOXHLET



Fuente: Elaboración propia

ANEXO 5

PRODUCCIÓN DE LA INFLAMACIÓN Y APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO



Fuente: Elaboración propia

ANEXO 6

MEDICIÓN DE LA INFLAMACIÓN EN EL PLETISMÓMETRO



Fuente: Elaboración propia

ANEXO 7

GRUPOS EXPERIMENTALES



Fuente: Elaboración propia