

# Universidad Católica de Santa María

## Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

### Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



### “EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO LOCAL DE LOS EXTRACTOS Y EL GEL DE *AGERATINA* *STERNBERGIANA* (D.C.) K & H ROBINSON “MARMAKILLA” EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. AREQUIPA-2019”

Tesis presentado por el bachiller:

**Manchego Vera, Daniel Tony**

Para optar el Título profesional de:

**Químico farmacéutico**

Asesor: Q.F. Fernando Torres Vela

**AREQUIPA – PERÚ**

**2019**

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

Expediente N°. 20190000007505

N° Trámite en Fac. 1782-2019

Fecha 02-04-2019

**FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL**

DE: **MANCHEGO VERA, Daniel Tony**

**TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:**

**"EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO LOCAL DE LOS  
EXTRACTOS Y EL GEL DE Ageratina sternbergiana (D.C.) K & H Robinson  
"marmakilla" EN ANIMALES DE LABORATORIO, AREQUIPA 2019"**

**DICTAMINADORES: 1) Mgter. Maria Elena Guillén Núñez 2) Dra. Karin Vera López**

**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 los recurrentes, se ha procedido a la revisión del trabajo de investigación y hechas las observaciones y sugerencias correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad

Atentamente

Firmas:



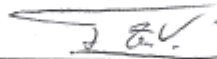
Fecha

**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 16-09-2019

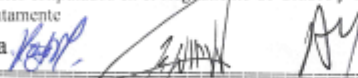
**DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:**

- 1) Mgter. Angélica Corzo Salas 3) Dra. Karin Vera López  
2) Mgter. Maria Elena Guillén 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 recurrentes, y luego de haber verificado el cumplimiento de los objetivos, la redacción del informe, de los resultados, discusión y conclusiones correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente

Firma



Fecha 12-11-19

**JURADOS: Presidente MAG. ANGELICA CORZO SALAS  
Vocal MAG. MARIA ELENA GUILLÉN NUÑEZ  
Secretario DRA. KARIN VERA LOPEZ**

**SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:**

Fecha: 2/12/19 Hora: 19.00 Local: C-402 (SUM)

DECANO



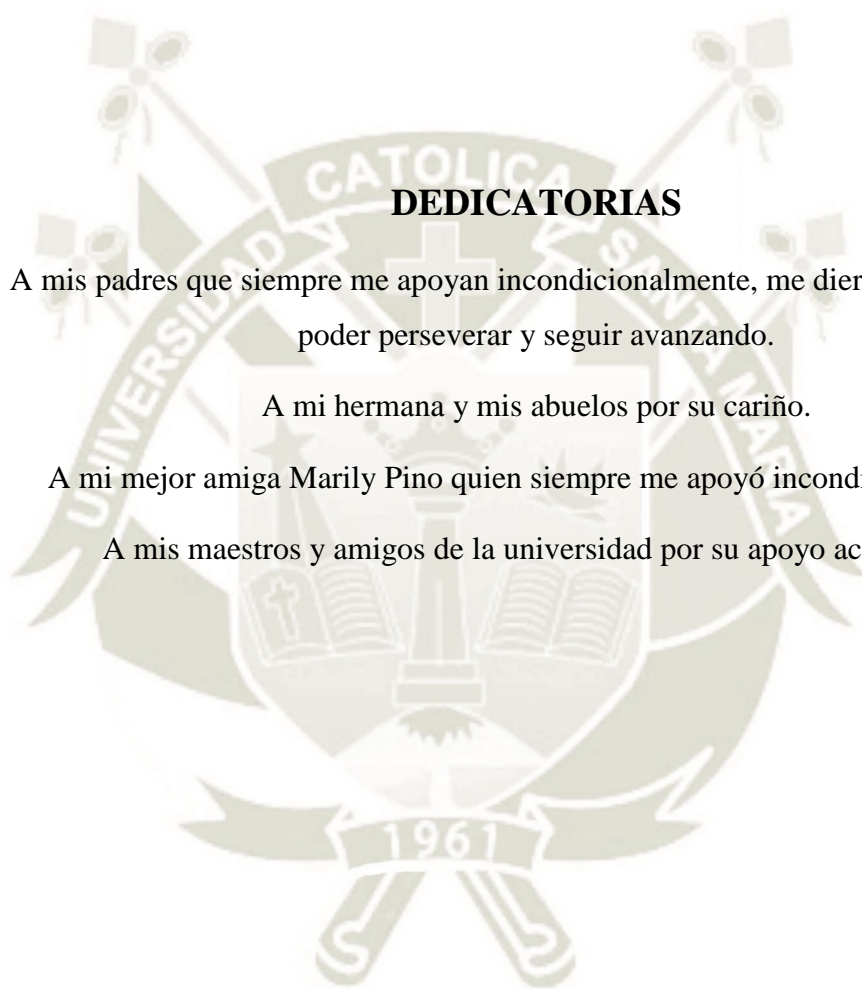
## **DEDICATORIAS**

A mis padres que siempre me apoyan incondicionalmente, me dieron ánimos y así poder perseverar y seguir avanzando.

A mi hermana y mis abuelos por su cariño.

A mi mejor amiga Marily Pino quien siempre me apoyó incondicionalmente

A mis maestros y amigos de la universidad por su apoyo académico





## AGRADECIMIENTOS

A mis maestros de la universidad por sus enseñanzas y consejos

Exaltar la labor de todos mis amigos, todos aquellos que estuvieron presentes durante toda o la mayor parte de la realización y el desarrollo de esta tesis, gracias a aquellos que con respeto y decencia realizaron aportes a esta

## INTRODUCCIÓN

Ante una lesión orgánica, independientemente de su etiología, se desencadena un proceso inflamatorio mediado por diferentes factores, tanto humorales como celulares, que conducen o intentan conducir hacia la limitación y reparación del proceso nosológico (1).

La inflamación localizada es una respuesta fisiológica de protección estrechamente controlada por el organismo en el lugar de la lesión. La pérdida de este control local o la presencia de una respuesta superactivada condiciona una exagerada respuesta sistémica, es decir, la inflamación o hinchazón en una zona específica es una respuesta de defensa, la pérdida de este control en una zona específica o el aumento de esta hinchazón puede causar daño o dolor (1).

Varias dolencias son producto o desencadenan un proceso inflamatorio, otras provienen de traumatismos o malas posturas durante la vida cotidiana, o finalmente puede tratarse de enfermedades propias de la vejez. Todas ellas tienen como factor común el proceso inflamatorio, que se manifiesta en la población como una “hinchazón” y dolor en la zona, es decir, que ante una inflamación puede causar dolor, también ante un golpe o una mala posición al caminar puede causar dolor o también cuando ya eres un adulto mayor puede ser causa de dolor. Ante esta situación la población recurre a plantas medicinales, por lo que el presente trabajo de investigación evalúa una de estas plantas que crecen en nuestra localidad y sobre la que hay un conocimiento etnobotánico que no ha sido puesto en evidencia bajo la metodología de la investigación (5).

La planta bajo estudio es *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” y su droga corresponde a sus hojas, esta especie luego de ser plenamente identificada, su droga fue utilizada mediante dos tipos de extracciones utilizando dos disolventes de diferente naturaleza, además de ello se evaluaron geles con el extracto de la droga. Todo ello bajo un marco experimental preclínico en animales de experimentación, a los que se les indujo un proceso inflamatorio local, mediante la administración de carragenina vía subcutánea causando un edema subplantar. Este

trabajo no quiso pasar desapercibido en la composición de la planta para ello detalla un análisis fitoquímico preliminar mediante el método de cromatografía en capa fina.



## RESUMEN

La planta *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K & H Robinson es una planta semiarbustiva con hojas opuestas agudas en el ápice y redondeadas en la base y aserradas en el margen, se utiliza en casos de inflamación. A continuación la inflamación es una respuesta defensiva local ante cualquier tipo de lesión en los tejidos. Seguidamente el objetivo fue evaluar el efecto antiinflamatorio local de los extractos y el gel de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K&H Robinson “marmakilla” en animales de experimentación, a continuación la unidad de estudio fue la planta *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K & H Robinson, seguidamente el sitio donde se recolectó la planta fue la localidad de Cari Cari, ubicado en el distrito de Chiguata, este distrito está dentro de la provincia de Arequipa. A continuación el procedimiento empleado fué recolectar la planta, posteriormente se seleccionó sus hojas, se estabilizó, desecó y se trituro las hojas seca, luego se procedió a la extracción por el método continuo soxhlet con etanol, además se extrajo por el método anteriormente mencionado pero con cloroformo, también se extrajo por el método percolación con etanol y el mismo método con cloroformo, obteniéndose 4 extractos, posteriormente se concentró los extractos por baño maría. Además se evaluó el efecto antiinflamatorio de los extractos, esta evaluación fué dividida en dos partes, En la

primera parte se trabajó con los cuatro extractos y un control negativo, utilizando un pletismómetro, que permite medir volúmenes basales y de inflamación de la pata del animal, se utilizó 25 ratas divididas en 5 grupos de 5 cada grupo, para la evaluación del efecto antiinflamatorio se utilizó el modelo de inflamación subplantar (pata del animal) inducida con carragenina, luego en la segunda parte se procedió a elaborar el gel al 3 % y el de 1.5% de concentración, a partir del extracto más eficaz de la primera parte. Se hizo una identificación por cromatografía en capa fina para compuestos terpénicos, alcaloides, flavonoides y taninos.

Posteriormente se obtuvo como resultado, en la primera parte el extracto con mayor efecto antiinflamatorio fue el extracto por método soxhlet con cloroformo, ya que al utilizar el test de tukey demostró tener una tasa media de variación porcentual menor y por lo tanto menor inflamación a la quinta hora, con un valor de 2.75%, en la segunda parte, a partir del extracto más eficaz, se hizo los geles los cuales fueron evaluados junto con el extracto de mayor eficacia, el que tuvo mayor eficacia fue el extracto clorofórmico por método soxhlet ya que tiene una tasa media de variación porcentual menor y por lo tanto menor inflamación a la quinta hora de 4.15 % , luego en la cromatografía de capa fina se identificó a los compuestos terpénicos , flavonoides, saponinas, esteroles, triterpenos y esteroides.

Finalmente se evaluó y demostró el efecto antiinflamatorio local de los extractos clorofórmico y etanólico obtenidos mediante Soxhlet y percolación a partir de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” en animales de experimentación

*Palabras clave: Gel, Extracto, Antiinflamatorio.*

## ABSTRACT

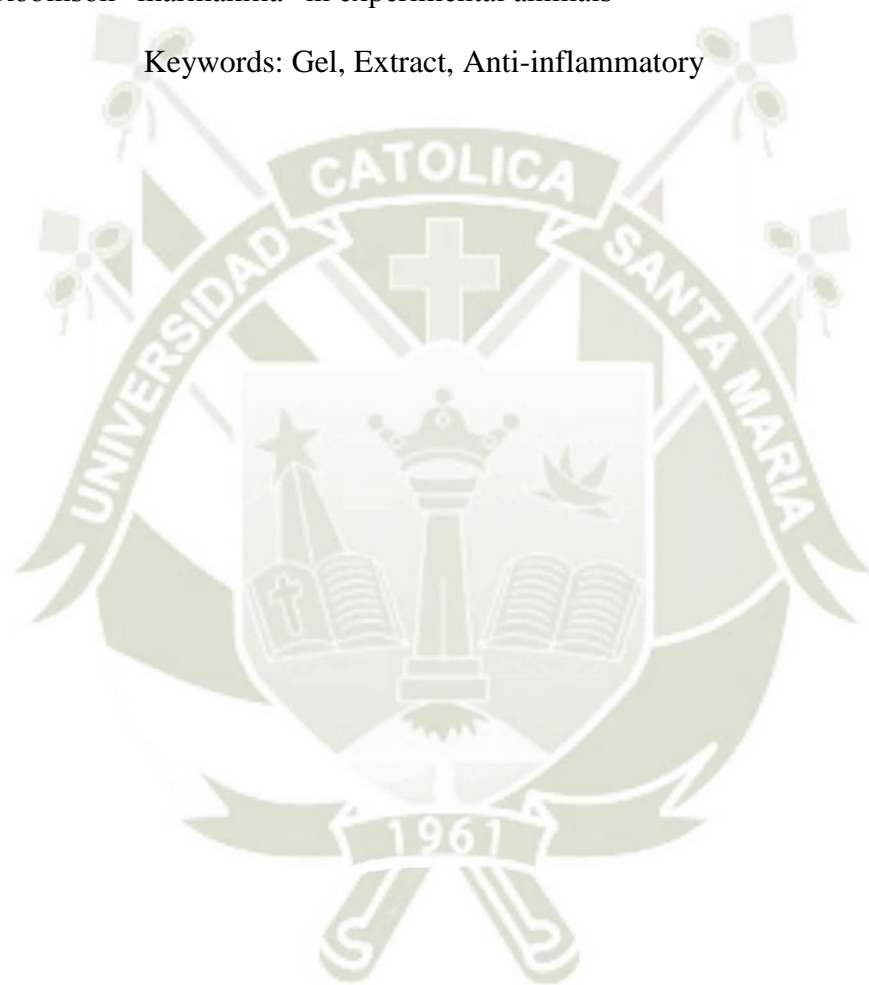
The *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K&H Robinson plant is a semi-bushy plant with opposite sharp leaves at the apex and rounded at the base and sawn at the margin, it is used in cases of inflammation. Inflammation is a local defensive response to any type of tissue injury. The objective was to evaluate the local anti-inflammatory effect of the extracts and the gel of *Ageratina sternbergiana* (DC) K&H Robinson “marmakilla” in experimental animals, then the unit of study was the plant *Ageratina sternbergiana* (DC) K & H Robinson, then the site where the plant was collected was the town of Cari Cari, located in the district of Chiguata, this district is within the province of Arequipa. Then the procedure used was to collect the plant, then its leaves were selected, it was stabilized, dried and the leaves crushed dry, then it was extracted by the continuous method soxhlet with ethanol, it was also extracted by the aforementioned method but With chloroform, it was also extracted by the percolation method with ethanol and the same method with chloroform, obtaining 4 extracts, then the extracts were concentrated by a water bath. In addition, the anti-inflammatory effect of the extracts was evaluated, this evaluation was divided into two parts. In the first part, we worked with the four extracts and a negative control, using a plethysmometer, which allows measuring basal and inflammation volumes of the animal's leg, 25 rats divided into 5 groups of 5 each group were used, for the evaluation of the anti-inflammatory effect the subplantar inflammation model (animal's paw) induced with carrageenan was used, then in the second part the 3% gel was made and 1.5% concentration, from the most effective extract of the first part. Identification was done by thin layer chromatography for terpenic compounds, alkaloids, flavonoids and tannins.

Subsequently it was obtained as a result, in the first part the extract with the highest anti-inflammatory effect was the extract by soxhlet method with chloroform, since when using the tukey test it showed to have a lower average percentage variation rate and therefore less inflammation at the Fifth hour, with a value of 2.75%, in the second part, from the most effective extract, the gels were made which were evaluated together with the extract of greater efficacy, the one that was most effective was the chloroform extract by soxhlet method since it has a lower average

percentage variation rate and therefore less inflammation at the fifth hour of 4.15%, then in the thin layer chromatography the terpenic compounds, flavonoids, saponins, sterols, triterpenes and steroids were identified.

Finally, the main conclusion is: The evaluation of the local anti-inflammatory effect of the chloroform and ethanolic extracts obtained by Soxhlet and percolation was made from the leaves of *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K & H Robinson “marmakilla” in experimental animals

Keywords: Gel, Extract, Anti-inflammatory



## ÍNDICE

DEDICATORIAS	
AGRADECIMIENTOS	
INTRODUCCIÓN	
RESUMEN	
ABSTRACT	
OBJETIVOS	
HIPÓTESIS	
CAPÍTULO I .....	1
MARCO TEÓRICO .....	1
1.1. MARMAKILLA .....	2
1.1.1. Nombres vulgares .....	2
1.1.2. Nombre científico.....	2
1.1.3. Taxonomía botánica .....	2
1.1.4. Descripción.....	2
1.1.5. Parte empleada .....	2
1.1.6. Hábitat.....	3
1.1.7. Propiedades medicinales .....	3
1.1.8. Otras propiedades o usos .....	4
1.2. INFLAMACIÓN .....	4
1.2.1. Generalidades .....	4
1.2.2. Tipos de inflamación.....	4
1.2.2.1 Aguda.....	4
1.2.2.2 Crónica.....	5
1.2.3. Mediadores de la inflamación .....	5
1.2.4. Inflamación aguda.....	8
1.2.4.1 Fase vascular .....	8
1.2.4.2 Fase celular .....	11
1.2.5. Inflamación crónica .....	14
1.2.6. Reparación de la inflamación .....	15
1.3. DICLOFENACO .....	15
1.3.1. Farmacodinamia.....	15
1.3.2. Farmacocinética.....	16
1.3.3. Usos terapéuticos .....	16
1.3.4. Dosificación.....	17

1.3.5. Contraindicaciones.....	17
1.3.6. Efectos adversos .....	17
1.3.7. Precauciones y advertencias.....	17
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>19</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
2.1. MATERIALES UTILIZADOS .....	20
2.1.1. <i>Utilaje de laboratorio</i> .....	20
2.1.1.1 Equipos de laboratorio .....	20
2.1.1.2 Reactivos.....	20
2.1.1.3 Otros.....	21
2.1.2. <i>Material biológico</i> .....	22
2.1.2.1 Fuente vegetal .....	22
2.1.2.2 Fuente animal .....	22
2.1.3. <i>Material farmacológico</i> .....	22
2.2. PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO .....	23
2.2.1. <i>Tipo de estudio</i> .....	23
2.2.2. <i>Diseño de estudio</i> .....	23
2.3. METODOLOGÍAS UTILIZADAS .....	24
2.3.1. <i>Procesamiento de la materia vegetal</i> .....	24
2.3.1.1 Recolección.....	24
2.3.1.2 Selección.....	25
2.3.1.3 Estabilización .....	25
2.3.1.4 Dsecación.....	26
2.3.1.5 Trituración .....	26
2.3.2. <i>Procedimientos de extracción</i> .....	26
2.3.2.1 Método Continuo con Soxhlet .....	26
2.3.2.2 Método Continuo Percolación.....	28
2.3.3. <i>Concentración de los extractos</i> .....	30
2.3.3.1 Baño maría.....	30
2.3.4. <i>Métodos fitoquímicos</i> .....	30
2.3.4.1 Cromatografía en capa fina .....	30
2.3.5. <i>Elaboración del gel con extracto</i> .....	33
2.3.6. <i>Evaluación del efecto antiinflamatorio</i> .....	34
2.3.6.1 Control de influencias .....	34
2.3.6.2 Organización del estudio .....	35
2.3.6.3 Efecto antiinflamatorio.....	37
2.3.7. <i>Análisis de los datos recolectados</i> .....	38
2.3.7.1 Tasa de variación .....	38

2.3.7.2	Tasa media .....	39
2.3.7.3	Media.....	39
2.3.7.4	Análisis de Varianza .....	40
2.3.7.5	Análisis post hoc de tukey .....	40
<b>CAPÍTULO III .....</b>		<b>41</b>
<b>RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>		<b>41</b>
3.1.	ACONDICIONAMIENTO DE LA DROGA.....	42
3.2.	ELABORACIÓN DE GELES .....	45
3.3.	EFFECTO ANTIINFLAMATORIO .....	46
3.3.1.	<i>Primera etapa</i> .....	47
3.3.2.	<i>Segunda etapa</i> .....	56
3.4.	CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA .....	65
<b>DISCUSIÓN .....</b>		<b>68</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>		<b>72</b>
<b>SUGERENCIAS .....</b>		<b>74</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>		<b>75</b>
<b>ANEXOS .....</b>		<b>81</b>
<b>ANEXO 1: VARIACIONES PORCENTUALES .....</b>		<b>82</b>
<b>ANEXO 2: TAXONOMÍA VEGETAL .....</b>		<b>86</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: DISEÑO EXPERIMENTAL .....	24
TABLA 2: DATOS DESCRIPTIVOS DE LAS FÓRMULAS DE LOS GELES A DOS CONCENTRACIONES DE EXTRACTO DE MARMAKILLA.....	34
TABLA 3: DATOS PARA EL RENDIMIENTO DE LA PLANTA MEDICINAL DESPUÉS DE LA DESECACIÓN ..	42
TABLA 4: DATOS PARA LA EXTRACCIÓN MEDIANTE EQUIPO SOXHLET .....	43
TABLA 5: DATOS PARA LA EXTRACCIÓN MEDIANTE PERCOLACIÓN .....	44
TABLA 6: DATOS PARA EL EXTRACTO OBTENIDO MEDIANTE SOXHLET, A INCORPORAR EN EL GEL ...	45
TABLA 7: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO PERCOLACIÓN CON ETANOL.....	47
TABLA 8: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON ETANOL .....	49
TABLA 9: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO PERCOLACIÓN CON CLOROFORMO .....	51
TABLA 10: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON CLOROFORMO.....	52
TABLA 11: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO CONTROL NEGATIVO .....	54
TABLA 12: ANÁLISIS DE VARIANZA PRIMERA ETAPA-EVALUACIÓN DE EXTRACTOS .....	55
TABLA 13: TEST DE TUKEY PRIMERA ETAPA-EVALUACIÓN DE EXTRACTOS .....	55
TABLA 14: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO GEL CONCENTRACIÓN MENOR.....	57
TABLA 15: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO GEL CONCENTRACIÓN MAYOR .....	58
TABLA 16: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON CLOROFORMO.....	60
TABLA 17: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO CONTROL POSITIVO (GEL DICLOFENACO) .....	61
TABLA 18: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO CONTROL NEGATIVO .....	63
TABLA 19: ANÁLISIS DE VARIANZA SEGUNDA ETAPA-EVALUACIÓN DE GELES .....	64
TABLA 20: TEST DE TUKEY SEGUNDA ETAPA-EVALUACIÓN DE GELES .....	64

## ÍNDICE DE ILUSTRACIÓN

ILUSTRACIÓN 1: PLANTA AGERATINA STERNBERGIANA (D.C) K & H ROBINSON “MARMAKILLA” .....	3
ILUSTRACIÓN 2: SELECCIÓN DE HOJAS .....	25
ILUSTRACIÓN 3: EXTRACCIÓN CON EL EQUIPO SOXHLET UTILIZANDO ETANOL Y CLOROFORMO .....	28
ILUSTRACIÓN 4: EQUIPO DE PERCOLACIÓN .....	29
ILUSTRACIÓN 5: GEL PREPARADO A PARTIR DEL EXTRACTO .....	46
ILUSTRACIÓN 6: IDENTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA.....	65
ILUSTRACIÓN 7: IDENTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA.....	66
ILUSTRACIÓN 8: IDENTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA.....	67

## ÍNDICE DE GRÁFICO

GRÁFICO 1: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO PERCOLACIÓN CON ETANOL .....	48
GRÁFICO 2: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON ETANOL.....	50
GRÁFICO 3 VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO PERCOLACIÓN CON CLOROFORMO .....	51
GRÁFICO 4: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON CLOROFORMO .....	53
GRÁFICO 5: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO CONTROL NEGATIVO .....	54
GRÁFICO 6: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO GEL CONCENTRACIÓN MENOR .....	57
GRÁFICO 7: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO GEL CONCENTRACIÓN MAYOR.....	59
GRÁFICO 8: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON CLOROFORMO .....	60
GRÁFICO 9: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO CONTROL POSITIVO (GEL DICLOFENACO) .....	62
GRÁFICO 10: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO CONTROL NEGATIVO .....	63

## OBJETIVOS

### Objetivo General

- Evaluar el efecto antiinflamatorio local de los extractos y el gel de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” en animales de experimentación.

### Objetivos Específicos

- Obtener mediante procedimientos de extracción extractos de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”.
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” luego del análisis mediante cromatografía en capa fina.
- Elaborar un gel a partir de los extractos de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”.
- Establecer cuál de los extractos y/o el gel de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” presenta mayor efecto antiinflamatorio local en animales de experimentación.
- Comparar el efecto antiinflamatorio local de los extractos y el gel de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” con un medicamento comercial antiinflamatorio.

## HIPÓTESIS

Si las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” son utilizadas por la población en forma de emplastos para aliviar el reumatismo; es probable que los extractos y el gel administrados localmente en animales de laboratorio presenten efecto antiinflamatorio.



## **CAPÍTULO I**

### **MARCO TEÓRICO**

## **1.1. MARMAKILLA**

### **1.1.1.Nombres vulgares**

Marmakilla, marmakia (2) (3).

### **1.1.2.Nombre científico**

*Ageratina sternbergiana* (D.C.) K & H Robinson (4).

### **1.1.3.Taxonomía botánica**

Se realizó en la UNSA. (VER ANEXO)

### **1.1.4.Descripción**

Planta semiarbusiva poco ramificada, erecta de 50-70 cm de altura, de tallos delgados, glabros, laxamente hojosos. Hojas opuestas pecioladas, peciolo de 10 a 20 mm de longitud, lámina de 4cm de largo y 3 cm de ancho agudas en el ápice y redondeadas en la base, aserradas en el margen, 3-5 nervadas desde cerca de la base, glabras en ambas superficies. Capítulos pequeños numerosos dispuestas en cimas corimbiformes en los extremos de las ramas. Involucro acampanado de 3 mm de alto y 2 mm de diámetro, una imagen de esta planta se observa en la figura N°1. Flores 12-20 de color blanco rosado cortamente pentadentada en el limbo. El fruto es un aquenio de 2 mm de largo (3).

### **1.1.5.Parte empleada**

Hojas (2) (3).

ILUSTRACIÓN 1: PLANTA AGERATINA  
STERNBERGIANA (D.C) K & H Robinson  
“marmakilla”



Elaboración propia

#### 1.1.6.Hábitat

Planta perenne que crece en bordes de los caminos, cerca de los cultivos y siempre en lugares húmedos. Entre los 2500-3300 m de altitud (3).

#### 1.1.7.Propiedades medicinales

Para el reumatismo de las hojas de esta planta tomar mate diariamente. Fracturar, moler las ramas con hojas de “chanchaura” y colocar como emplasto. Dolor de dientes, masticar la hoja. Malestar general, calentar las ramas en la tostadora y sobar todo el cuerpo conjuntamente con “qopaqto”. Resfrío, calentar las hojas y colocar en el cuerpo (3).

### **1.1.8. Otras propiedades o usos**

Consumida por animales como forraje (3).

## **1.2. INFLAMACIÓN**

### **1.2.1. Generalidades**

La inflamación es una respuesta defensiva local ante cualquier tipo de lesión en los tejidos, como traumatismo e infección. Sus propósitos generales son:

- 1) Limitar la dispersión de patógenos y su destrucción final.
- 2) Eliminar los restos del tejido dañado.
- 3) Iniciar la reparación del tejido.

La inflamación se caracteriza por cuatro signos cardinales: enrojecimiento, hinchazón, calor y dolor. Algunas autoridades añaden la dificultad para el uso como un quinto signo, pero ésta puede ocurrir o no, y cuando lo hace, casi siempre se debe al dolor (5).

Incluye una secuencia de reacciones que al principio implican citocinas, neutrófilos, moléculas de adhesión, complemento e IgG. También participa el PAF, un agente con potentes efectos inflamatorios. Más tarde participan los monocitos y linfocitos. Las arteriolas del área inflamada se dilatan y la permeabilidad capilar aumenta. Cuando la inflamación ocurre en la piel o justo bajo ella, en forma característica hay enrojecimiento, hinchazón, dolor espontáneo y a la palpación. En otros sitios, es un componente clave del asma, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide y muchas otras enfermedades (6).

### **1.2.2. Tipos de inflamación**

#### **1.2.2.1 Aguda**

La fase aguda de la inflamación es sinónimo de reacción inmune innata. En la inflamación aguda distinguimos tres puntos clave: cambios hemodinámicos, alteración de la permeabilidad vascular y modificaciones leucocitarias. De

instauración rápida, autolimitada, caracterizada por fenómenos vasomotores y acúmulos de neutrófilos (7).

#### **1.2.2.2 Crónica**

Cuando la inflamación se mantiene durante un tiempo prolongado (semanas o meses), se habla de inflamación crónica, en la que coexisten el daño tisular y los intentos de reparación, en diversas combinaciones. Puede producirse por mantenimiento de la inflamación aguda (si no se resuelve su causa), o bien empezar de manera progresiva y poco evidente, sin las manifestaciones de la inflamación aguda. (7) Este segundo caso es el responsable del daño tisular de algunas de las enfermedades humanas más invalidantes, como la artritis reumatoide, la aterosclerosis, la tuberculosis o la fibrosis pulmonar. Además, es importante en el desarrollo del cáncer y en enfermedades que anteriormente se consideraban exclusivamente degenerativas, como el Alzheimer. Es más insidiosa, tiene una duración mayor y predomina en ella el acúmulo de linfocitos y macrófagos junto con proliferación fibroblástica (7).

En caso de no resolución se drenan también las bacterias y se extiende la infección por vía linfática: linfangitis (inflamación de los vasos linfáticos) y linfadenitis (inflamación de los ganglios linfáticos) (7).

La inflamación, aunque en principio representa un proceso universal e inespecífico encaminado a restaurar la homeostasis disturbada, puede elegir, según la causa desencadenante, diferentes escenarios de actuación para conseguir resultados determinados (7).

#### **1.2.3. Mediadores de la inflamación**

Es común que los mediadores inflamatorios se ordenen en clases en función de sus propiedades biológicas. Van desde quimiocinas, citocinas y proteínas de fase aguda hasta lípidos, pasando por aminas y péptidos vasoactivos, proteínas de la coagulación, proteasas y fragmentos del complemento (8).

Las quimiocinas, como su nombre lo indica, tienen actividad quimiotáctica y atraen a los leucocitos circulantes hacia el tejido dañado (8).

Las citocinas inflamatorias son un producto principalmente de macrófagos y mastocitos. Incluyen el TNF (del inglés Tumor Necrosis Factor, o factor de necrosis tumoral) y varias interleucinas, entre las que destacan IL-1, IL-6 y HMGB1. Participan en la activación del endotelio, en la activación de leucocitos y, en general, en el inicio de la respuesta inmunológica de fase aguda. Diversas citocinas antiinflamatorias, como IL-10 y TGF- $\beta$  (del inglés Transforming Growth Factor  $\beta$  o factor de crecimiento transformante), participan en la regulación a la baja de la respuesta inflamatoria (8).

Un tipo de proteínas plasmáticas que participan en la respuesta inflamatoria son las proteínas de fase aguda; destaca la proteína C reactiva, que se produce en el hígado en respuesta a citocinas inflamatorias, en particular la IL-6. Es parte de una familia de proteínas denominadas pentraxinas, se encuentra en el plasma en forma pentamérica y fue el primer PRR descrito. Se une a la lipofosfatidilcolina (presente en las células muertas o en proceso de apoptosis y algunos tipos de bacterias), y facilita su remoción por los fagocitos, de modo que funciona como una opsonina; también induce la activación parcial de la cascada del sistema del complemento. Tiene efectos directos sobre el endotelio vascular, induce la producción de citocinas y factores protrombóticos. Su estabilidad permite considerar su concentración plasmática como un marcador inespecífico de la presencia de inflamación (8).

Las aminas vasoactivas son liberadas por mastocitos y plaquetas al desgranularse. La histamina y la serotonina provocan vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular, pero puede haber vasoconstricción en ciertas circunstancias (8).

Los péptidos vasoactivos también causan vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular, ya sea de manera directa o al inducir la liberación de aminas vasoactivas. Un ejemplo de péptido vasoactivo es la sustancia P, liberada de vesículas en neuronas sensoriales. La cascada de coagulación y la inflamatoria tienen en el factor XII, o de Hageman, un elemento de convergencia que activa la cascada calicreína-cinina; ésta produce principalmente bradicinina que, además de ser un poderoso estimulante del dolor, tiene potentes propiedades vasodilatadoras (8).

El sistema de coagulación es necesario para controlar el sangrado en el sitio de la lesión al formar una proteína insoluble, la fibrina, la cual se origina cuando se activa su precursor, el fibrinógeno, gracias a la acción de la trombina. Este sistema trabaja en conjunto con las plaquetas para sellar el sitio del daño. Además, las plaquetas por sí mismas liberan una serie de moléculas que se encuentran lo mismo en su superficie que en su interior, y participan en el desarrollo del proceso inflamatorio. La fibrinólisis es el proceso opuesto a la coagulación y es preciso para controlar el tamaño de los trombos y evitar que se produzcan algunos de gran tamaño que pudieran obstruir vasos de mayor calibre y comprometer la circulación y, por tanto, la oxigenación de los tejidos adyacentes a la lesión (8).

Las proteasas o enzimas proteolíticas tienen papeles destacados en la inflamación, en especial por su capacidad de degradar proteínas de la matriz extracelular y de la membrana basal (8).

Los fragmentos del complemento participantes en el proceso inflamatorio (sobre todo C5a y de forma más limitada C3a) son llamados anafilatoxinas. Tienen capacidad quimiotáctica para granulocitos y monocitos, e inducen la desgranulación de los mastocitos. Otros componentes (por ejemplo C3b) funcionan como opsoninas y favorecen la fagocitosis, lo que ayuda a eliminar varios de los factores inductores (8).

Los mediadores lipídicos son fundamentales en la inducción y en la resolución del proceso inflamatorio. Al inicio de la respuesta, la fosfolipasa A2 se activa en consecuencia del incremento de  $Ca^{2+}$  intracelular. A partir de los fosfolípidos de membrana, esta enzima genera ácido araquidónico que, metabolizado a eicosanoides (ácidos grasos de 20 carbonos) por las ciclooxigenasas (COX1 y COX2), forma prostanooides (prostaglandinas y tromboxanos), y por las lipooxigenasas (LOX) forma leucotrienos y lipoxinas (8). La prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) tiene potentes acciones como vasodilatadora, inductora de dolor y de fiebre. La PGI<sub>2</sub>, llamada prostaciclina, también es vasodilatadora y tiene la capacidad de inhibir la agregación plaquetaria, funciones opuestas a las del tromboxano A<sub>2</sub> que es vasoconstrictor y favorece la agregación plaquetaria (8). Los leucotrienos tienen un papel en la regulación de la función de los fibroblastos y, con ello, en el remodelado del tejido conectivo. El leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), por ejemplo, estimula la migración de fibroblastos. Los cisteinil leucotrienos inducen la síntesis de colágena, la

diferenciación de fibroblastos a miofibroblastos, y estimulan a las células epiteliales a sintetizar el TGF- $\beta$ , que tiene un papel crucial en los procesos de fibrosis. Los leucotrienos también contribuyen a la regulación de la síntesis, secreción y activación de metaloproteinasas (MP), que a su vez tienen un papel clave en el remodelado del tejido conectivo. Se ha demostrado que 5-LOX y MP se coexpresan en la aterosclerosis de la arteria carótida (8). Otro producto de la actividad de la fosfolipasa A<sub>2</sub> sobre los fosfolípidos de membrana es el ácido lisofosfatídico, que al acetilarse forma PAF (del inglés Platelet Activating Factor, o factor activador de plaquetas). Además de activar plaquetas, PAF tiene otras acciones que incluyen el reclutamiento de leucocitos, el aumento de la permeabilidad vascular y la capacidad vasoconstrictora o vasodilatadora en distintas circunstancias. Las lipoxinas derivadas del ácido araquidónico, junto con las resolvinas y las protectinas (docosanoídes (22 C) derivados de los ácidos grasos  $\omega$ -3 eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico [DHA]), tienen un papel trascendente en la resolución de la inflamación y en la reparación de tejidos (8).

#### **1.2.4. Inflamación aguda**

Es de corta duración; empieza en minutos y dura varias horas o algunos días. Su principal función es llevar células y mediadores al sitio de la lesión por el torrente sanguíneo, de modo que la vasculatura es fundamental en la coordinación de la respuesta inflamatoria (9). Se puede considerar que la inflamación aguda comprende dos fases, una vascular y otra celular, que suelen coexistir en cualquier respuesta inflamatoria; la fase vascular tiene lugar en las primeras etapas, hasta que se fusiona con la fase celular, más tardía, de la inflamación aguda. El tejido inflamado presenta ciertas características morfológicas derivadas de los cambios vasculares y celulares descritos clásicamente como signos cardinales de la inflamación (9).

##### **1.2.4.1 Fase vascular**

###### **1.2.4.1.1 Cambios en el flujo sanguíneo**

Uno de los primeros indicios de la respuesta inflamatoria aguda es una alteración del flujo de sangre hacia el sitio lesionado, que consiste en una

vasoconstricción transitoria temprana mediada por la contracción de los músculos lisos de las arteriolas y la consiguiente reducción efímera del flujo sanguíneo hacia dicho punto. Este fenómeno va seguido de vasodilatación, producto de la relajación del músculo liso arteriolar y la dilatación de los capilares en el sitio de la lesión, la cual es más prolongada y puede durar muchas horas. También aumenta el flujo sanguíneo hacia el tejido inflamado, de ahí su color rojo y el característico aumento de la temperatura. Esta serie de eventos da lugar al incremento de moléculas y células de la inflamación aguda (9).

Después del incremento del flujo sanguíneo, la circulación por el tejido inflamado se hace gradualmente más lenta, en parte por la dilatación de los capilares y en parte, por los cambios de permeabilidad vascular conforme el endotelio capilar se torna más permeable a las proteínas plasmáticas. El escape de proteína hacia el intersticio contribuye a la formación del edema (9). El aumento de flujo por las arteriolas incrementa, a su vez, la presión hidrostática en el extremo arterial de la microcirculación hística. Combinado con la mayor permeabilidad capilar, se incrementa el movimiento de líquido de los vasos sanguíneos hacia los espacios de tejido. El líquido tiene un alto contenido de proteínas, de modo que se reduce el gradiente osmótico normal opuesto a la acumulación de líquido hístico (9).

#### **1.2.4.1.2 Aumento de la permeabilidad vascular**

Al aumentar la permeabilidad vascular, se produce un desplazamiento de líquido rico en proteínas e incluso células de la sangre hacia los tejidos extravasculares. Este hecho incrementa la presión osmótica del líquido intersticial, lo que permite un mayor flujo de salida del agua de la sangre hacia los tejidos. La acumulación de líquido rico en proteínas se denomina exudado (10). Se deben distinguir los exudados de los trasudados, que son acumulaciones de líquido intersticial secundarias al aumento de la presión hidrostática, en general como consecuencia de un menor retorno venoso. Los trasudados típicos contienen bajas concentraciones de proteínas y pocas células sanguíneas, o ninguna. La acumulación de líquido en los espacios extravasculares, tanto en forma de trasudado como de exudado, provoca edema tisular. Aunque los

exudados son típicos de la inflamación, el trasudado se acumula en distintos procesos no inflamatorios (10).

Varios mecanismos pueden contribuir al aumento de la permeabilidad vascular observado en las reacciones inflamatorias agudas (10):

- La contracción de las células endoteliales que genera hendiduras intercelulares en las vénulas poscapilares es la causa más frecuente de aumento de la permeabilidad vascular. La contracción de las células endoteliales tiene lugar rápidamente tras la unión de histamina, bradicinina, leucotrienos y muchos otros mediadores a receptores específicos y, en general, dura poco tiempo (15-30 min). Se puede observar una retracción más lenta y prolongada de las células endoteliales en relación con cambios del citoesqueleto, inducida por algunas citocinas, como el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina 1 (IL-1). Esta reacción puede tardar 4-6 h en desarrollarse tras el estímulo inicial y persiste 24 h o más (10).

- La lesión endotelial determina la extravasación vascular porque produce necrosis y desprendimiento de células endoteliales. Estas resultan lesionadas tras una agresión grave, como sucede en las quemaduras y algunas infecciones. En la mayor parte de los casos, la extravasación comienza inmediatamente después de la lesión y persiste varias horas (o días) hasta que los vasos lesionados sufren trombosis o son reparados. Se pueden afectar las vénulas, los capilares y las arteriolas, según el lugar de la lesión. (10) Asimismo, las lesiones directas de las células endoteliales pueden ocasionar una extravasación tardía prolongada, que comienza con un retraso de 2-12 h, dura varias horas o incluso días, y afecta a las vénulas y los capilares. Ejemplos de este tipo son las lesiones térmicas moderadas o leves, algunas toxinas bacterianas y la radiación X o ultravioleta (p. ej., una quemadura solar ha amargado a muchas personas la noche tras pasar un día al sol). Las células endoteliales pueden resultar dañadas como consecuencia de la acumulación de leucocitos a lo largo de la pared del vaso. Los leucocitos activados liberan muchos mediadores tóxicos, como se comenta más adelante, que pueden provocar lesiones o desprendimiento endotelial (10).

- El aumento de la transcitosis de proteínas por una vía vesicular intracelular hace que la permeabilidad de las vénulas sea mayor, sobre todo tras la exposición a determinados mediadores, como el factor de crecimiento endotelial

vascular (VEGF). La transcitosis se produce a través de unos canales formados por la fusión de vesículas intracelulares (10).

- Extravasación desde los vasos sanguíneos neoformados. Como se comenta más adelante, la reparación tisular implica la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogenia). Estos brotes vasculares siguen siendo permeables hasta que las células endoteliales que proliferan maduran lo suficiente como para formar uniones intercelulares. Las células endoteliales nuevas expresan más receptores para los mediadores vasoactivos, y algunos de estos factores estimuladores de la angiogenia (p. ej., VEGF) también inducen de forma directa un aumento de la permeabilidad vascular (10).

Aunque estos mecanismos de permeabilidad vascular son separables, todos ellos pueden participar en la respuesta frente a un estímulo concreto. Por ejemplo, en una quemadura térmica, la extravasación se debe a una contracción endotelial de mecanismo químico y también a las lesiones directas y mediadas por los leucocitos de las células endoteliales (10).

#### **1.2.4.2 Fase celular**

Los leucocitos (especialmente macrófagos y neutrófilos fagocíticos) son atraídos hacia los sitios de lesión, en los que reconocen los patógenos invasores y restos necróticos, los eliminan y producen factores de crecimiento que favorecen la reparación (11).

El tipo de leucocitos que migra a la localización de la lesión depende del estímulo original y de la duración de la respuesta inflamatoria. Las infecciones bacterianas tienden a atraer inicialmente neutrófilos, mientras que las infecciones víricas reclutan linfocitos, las reacciones alérgicas cursan con incremento de eosinófilos y las reacciones de hipersensibilidad inducen un infiltrado mixto (11).

La necrosis atrae al principio neutrófilos; los neutrófilos predominan durante las primeras 6-24 h y después son sustituidos por monocitos, al cabo de 24-48 h. La secuencia de incorporación de tipos celulares es una función del patrón sucesivo de expresión de moléculas específicas de adhesión y quimiocinas específicas. Tras la

migración, los neutrófilos tienen una vida corta; sufren apoptosis tras 24-48 h, mientras que los monocitos sobreviven más tiempo (11).

Los leucocitos se mueven desde la luz del vaso hacia el intersticio tisular en un proceso que consta de varios pasos (11):

- Marginación, rodamiento y adhesión de los leucocitos al endotelio.
- Transmigración a través del endotelio.
- Migración en los tejidos intersticiales hacia un estímulo quimiotáctico.

#### **1.2.4.2.1 Adhesión de leucocitos al endotelio**

En presencia de estasis progresiva, los leucocitos van distribuyéndose a lo largo de la periferia del vaso (marginación), sobre la cual pueden rodar, para luego adherirse firmemente a ella, antes de cruzar finalmente la pared vascular. El rodamiento, la adhesión y la transmigración se producen por interacciones entre las moléculas complementarias de adhesión sobre los leucocitos y el endotelio. La expresión de estas moléculas de adhesión se ve reforzada por proteínas segregadas, llamadas citocinas (11).

- El rodamiento se produce mediado por selectinas; estas se unen mediante dominios de lectina (de unión a azúcares) a oligosacáridos (p. ej., Lewis X sialilado [sialil-Lewis X]) en glucoproteínas de la superficie celular (11).
- La adhesión firme tiene lugar mediada por moléculas de la familia de las inmunoglobulinas sobre las células endoteliales, que se unen a integrinas de la superficie de los leucocitos (11).
  - Las moléculas de inmunoglobulina son la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y la molécula de adhesión a células vasculares 1 (VCAM-1).
  - Las integrinas son heterodímeros; el antígeno 1 asociado a la función linfocítica (LFA-1) de las integrinas 2 y el antígeno 1 de los macrófagos (Mac-1) (también llamados CD11a /CD18 y CD11b/ CD18) se unen a ICAM-1; el antígeno muy tardío (VLA) 4 de la integrina 1 se une a VCAM-1 (11).

- Las moléculas quimiotácticas (quimiocinas) y citocinas afectan a la adhesión y a la transmigración mediante la modulación de la expresión de superficie o la avidéz de las moléculas de adhesión: (11)
  - Redistribución de las moléculas de adhesión preformadas hacia la superficie celular. Después de la exposición a la histamina, la selectina P se transloca rápidamente desde los cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales hasta la superficie celular, donde puede unirse a leucocitos (11).
  - Inducción de moléculas de adhesión sobre el endotelio. La IL-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF) aumentan la expresión endotelial de selectina E, ICAM-1 y VCAM-1 (11).

#### **1.2.4.2.2 Migración de leucocitos a través del endotelio**

La transmigración (también llamada diapédesis) se produce mediada por interacciones homotípicas entre las plaquetas y la molécula de adhesión a células endoteliales 1 (PECAM-1, CD31) en la superficie de leucocitos y células endoteliales; tiene lugar principalmente en las vénulas poscapilares (11).

#### **1.2.4.2.3 Quimiotaxia de los leucocitos**

Después de migrar a través de uniones interendoteliales y de atravesar la membrana basal, los leucocitos se dirigen hacia los sitios de lesión siguiendo gradientes de agentes quimiotácticos (quimiotaxia). Para los neutrófilos, estos agentes son productos bacterianos exógenos y mediadores endógenos (v. más adelante), tales como fragmentos de complemento (particularmente C5a), metabolitos del ácido araquidónico (AA) (sobre todo LTB<sub>4</sub>) y quimiocinas (p. ej., interleucina 8) (11).

Los quimiotácticos se unen a receptores específicos acoplados a la proteína de superficie G de leucocitos; estos desencadenan la producción de segundos mensajeros fosfoinositol, que inducen a su vez un aumento de la actividad de la GTPasa y del calcio citosólicos, que polimeriza la actina y favorece el movimiento celular. Los leucocitos se mueven extendiendo pseudópodos, que se unen a la matriz extracelular (MEC) y después tiran de la célula hacia delante (tracción delantera) (11).

### 1.2.5. In inflamación crónica

Existen tres razones fundamentales por las cuales la respuesta inflamatoria se perpetua, apareciendo un patrón de enfermedad crónica: la persistencia del agente causal (p. ej. virus B y V de la hepatitis), la dificultad para la degradación del agente inflamatorio (p. ej., cuerpos extraños) o la insuficiencia de la respuesta inmune (12).

El patrón característico de la inflamación crónica es la acumulación de linfocitos y macrófagos, que puede adoptar dos formas principales: distribución en el área lesionada, al adoptar patrones intersticiales (infiltración por «células redondas»), o disposición de forma ordenada (granulomas: constituidos por varios tipos celulares) (12).

El granuloma puede definirse como la acumulación local de células inflamatorias, sobre todo de estirpe mononuclear fagocítica, que tiene lugar como respuesta crónica a estímulos persistentes. Aunque existen formas mixtas, la mayor parte de los granulomas pueden incluirse en uno de estos dos grandes tipos: granulomas «tipo cuerpo extraño» y granulomas «tipo hipersensibilidad» (12).

Independientemente de su causa, las células que predominan en los granulomas son las de la serie mononuclear fagocítica. Atendiendo a sus características morfológicas pueden distinguirse tres variedades: (12)

a) macrófagos activados, caracterizados por el aumento en orgánulos citoplásmicos. Intensa expresión de receptores para la fracción FC de las inmunoglobulinas y para fragmentos del complemento y una gran capacidad fagocítica;

b) células epitelioides, de morfología poligonal, con un núcleo oval, un retículo endoplásmico rugoso y un aparato de Golgi intensamente desarrollado, en general, expresan pocos receptores de membrana y ejercen una escasa función fagocítica, sin embargo, segregan un gran número de enzimas, lo que hace suponer su papel activo en la destrucción de los irritantes que generaron el granuloma.

c) células multinucleadas, cuyo principal mecanismo de formación es la fusión de macrófagos uninucleados debido al intento de ingestión por varios macrófagos del mismo material o al efecto de citocinas (p. ej., interferón  $\gamma$ ) (12). De

esta última variedad se distinguen morfológicamente dos tipos: células gigantes (que aparecen en los granulomas «tipo cuerpo extraño») y células de Langhans (que aparecen en los granulomas tipo hipersensibilidad). Sin embargo, ambos tipos son similares funcionalmente a las células epitelioides, ya que poseen escasa capacidad fagocítica y elevada capacidad secretora (12).

### **1.2.6.Reparación de la inflamación**

En la inflamación se produce una destrucción de las células del parénquima y de las del estroma. El tejido lesionado se repara mediante tejido conectivo que va a producir la fibrosis y la escarificación. En este proceso intervienen los componentes siguientes: (13)

- Formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) (13)
- Migración y proliferación de fibroblastos (13)
- Depósito de matriz extracelular (13)
- Maduración y organización del tejido fibroso (remodelación) (13).

El proceso de reparación empieza a las 24 horas tras la lesión. Los fibroblastos y las células del endotelio vascular comienzan a proliferar formando el tejido de granulación en el cual se forman nuevos vasos (angiogénesis) (13).

## **1.3. DICLOFENACO**

El diclofenaco es un derivado del ácido fenilacético, que se encuentra entre los NSAID utilizados más a menudo en Estados Unidos. Tiene actividad analgésica, antipiréticos y es antiinflamatorio. Su potencia es sustancialmente superior a la de la indometacina, naproxeno y muchos otros NSAID (14).

### **1.3.1.Farmacodinamia**

El diclofenaco, a las dosis habituales, interfiere menos en la agregación plaquetaria que la mayoría de los AINE y es uricosúrico. Inhibe la síntesis de PG, pero, además, disminuye la concentración de ácido araquidónico en los leucocitos (15).

### **1.3.2.Farmacocinética**

Pese a que se absorbe bien por vía oral, posee una biodisponibilidad del 50% ya que sufre un extenso metabolismo de primer paso. También se lo administra por vía intramuscular y por vía endovenosa diluido. Se liga con gran avidez a proteínas plasmáticas, y se acumula en líquido sinovial; esta característica explica la mayor duración de sus efectos con respecto a su tiempo medio plasmático, que es de apenas 2 h. Se metaboliza en hígado a través del CYP 450 y sus metabolitos se eliminan por orina y bilis (16).

### **1.3.3.Usos terapéuticos**

El diclofenaco está aprobado en Estados Unidos para el tratamiento sintomático a largo plazo de la artritis reumatoide, la osteoartritis, la espondilitis anquilosante, el dolor, la dismenorrea primaria y la migraña aguda. Están disponibles múltiples formulaciones orales, que proporcionan una variedad de tiempos de liberación; la dosificación oral diaria es de 50-150 mg, administrada en varias dosis divididas. (17) Para el dolor agudo, como migraña, se disponen una forma en polvo para la disolución en agua y una solución para inyección intravenosa. El diclofenaco también está disponible en combinación con misoprostol, un análogo de PGE1; esta combinación conserva la eficacia del diclofenaco, mientras que reduce la frecuencia de úlcera GI y erosiones. (17) Para el tratamiento a corto plazo del dolor debido a torceduras menores, esguinces y hematomas existe un gel tópico a 1%, una solución tópica y un medicamento transdérmico. Una formulación de gel a 3% está indicada para el tratamiento tópico de la queratosis actínica. Además, está disponible una solución oftálmica de diclofenaco para el tratamiento de la inflamación posoperatoria debido a la extracción de catarata y para el alivio del dolor temporal y fotofobia en pacientes sometidos a cirugía refractiva de la córnea (17).

#### **1.3.4. Dosificación**

La dosis habitual por vía oral es de 50 mg/8 h, aunque, como dosis inicial, pueden administrarse 100 mg. En el tratamiento del cólico renal se utiliza la forma soluble, por vía intramuscular, a la dosis de 75 mg, aunque no deben administrarse más de dos dosis en 1 día. (15) En procesos reumáticos, inicialmente 100-200 mg/día, en 2-4 dosis por vía oral y, tras respuesta satisfactoria, 75-100 mg/día, en 2-3 dosis. Su seguridad y eficacia no se han establecido en niños (15).

2-4 gramos de gel, tres o cuatro veces al día, aplicar frotando suavemente. La terapia deber ser revisada después de 14 días (28 días en caso de osteoartritis) (18).

#### **1.3.5. Contraindicaciones**

Hipersensibilidad al diclofenaco, ácido acetilsalicílico y otros AINES (18).

#### **1.3.6. Efectos adversos**

Si bien es de aplicación tópica, no puede excluirse la aparición de efectos secundarios sistémicos (18).

Los efectos adversos se cifran en un 20% y hasta el 2% de los pacientes tienen que abandonar el tratamiento; los efectos adversos gastrointestinales son los más frecuentes. Se produce un aumento moderado de transaminasas hepáticas en el 15% de los pacientes, que suele ser reversible (19).

Se han observado reacciones de hipersensibilidad después de la aplicación tópica. Los efectos indeseables incluyen efectos en el SNC, reacciones alérgicas, retención de líquidos, edema y alteración de la función renal. No se recomienda el fármaco para niños, mujeres lactantes o embarazadas. A diferencia del ibuprofeno, el diclofenaco no interfiere con el efecto antiplaquetario del ácido acetilsalicílico (14).

#### **1.3.7. Precauciones y advertencias**

Aplicar sobre piel intacta sin solución de continuidad (18).

Cuidar que no entre en contacto con los ojos y las mucosas (18).

No ingerirlo (18).

No usar durante el embarazo o lactancia (18).





**CAPÍTULO II**  
**MATERIALES Y MÉTODOS**

## 2.1. MATERIALES UTILIZADOS

### 2.1.1. Utillaje de laboratorio

- Balón de destilación
- Embudos de vidrio
- Pipetas graduadas
- Probetas graduadas
- Varillas de agitación
- Vasos precipitados

#### 2.1.1.1 Equipos de laboratorio

- Balanza analítica
- Balanza de precisión
- Equipo de destilación Soxlet
- Equipo percolador (elaboración propia)
- Estufa de desecación
- Lámpara UV
- Pletismómetro digital

#### 2.1.1.2 Reactivos

- Acetato de etilo
- Ácido acético
- Ácido fórmico
- Ácido sulfúrico
- Agua destilada
- Carbopol
- Cloroformo

- Alcohol etílico
- Carragenina
- Cloruro de aluminio
- Metanol
- Metilparabeno
- Propilenglicol
- Propilparabeno
- Reactivo Dragendorf
- Reactivo Liebermann Burchard
- Trietanolamina
- Vainillina

#### 2.1.1.3 Otros

- Capilares
- Cocinilla eléctrica
- Gorro de laboratorio
- Guantes de examen
- Jeringa de insulina
- Mascarilla
- Mortero y pilón de porcelana
- Placas de silica gel
- Soporte universal
- Termómetro de laboratorio

## 2.1.2. Material biológico

### 2.1.2.1 Fuente vegetal

El material biológico de fuente vegetal estuvo constituido por las hojas de la especie *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”.

### 2.1.2.2 Fuente animal

El material biológico de fuente animal estuvo conformado por ratas de laboratorio correspondientes a la especie *Rattus rattus* variedad Novergicus. Se utilizó un número de 25 animales.

Estos cumplieron los siguientes criterios de inclusión.

- Ratas sanas
- Ratas del sexo macho
- Peso entre 200 – 250 gramos
- Nacidos en cautiverio
- Comida y agua estándares
- Cuatro meses de edad

### 2.1.3. Material farmacológico

El material farmacológico estuvo constituido por una especialidad farmacéutica con la siguiente descripción.

- Composición: Cada 100 g de gel contienen 1 g de diclofenaco sódico, excipientes c.s.p.
- DCI: Diclofenaco sódico
- Fecha de vencimiento: 10 - 2021
- Forma farmacéutica: Gel
- Laboratorio fabricante: Farminindustria S.A.

- Nombre comercial: Diclofenaco 1% Gel
- Número de lote: 11055118
- Registro Sanitario: N° EN-02175

Lista de excipientes: Carbómero 940, alcohol, metilparabeno, propilparabeno, trolamina, (trietanolamina), hidróxido de sodio, edetato disódico, agua purificado.

- Vía de administración. Tópica

## **2.2. PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO**

### **2.2.1. Tipo de estudio**

El presente estudio es de tipo experimental. Es prospectivo. Se realizó mediante la manipulación de una variable experimental no comprobada, es decir, se provocó la inflamación en el animal y se aplicaron tratamientos de extractos vegetales y una forma farmacéutica en gel, y luego se observa lo que ocurre en condiciones rigurosamente controladas. (20) El experimento es una situación provocada por el investigador, para introducir determinadas variables de estudio. En el experimento, el investigador maneja de manera deliberada, intencionada, la variable experimental y luego observa lo que ocurre en condiciones controladas, es decir, En el presente estudio se manipularon las variables independientes, que consiste en tratamientos de extractos vegetales y una forma farmacéutica en gel, bajo condiciones controladas, y se verán sus efectos sobre la inflamación que se indujo experimentalmente (20).

### **2.2.2. Diseño de estudio**

Se aplicó el diseño con preprueba posprueba y grupo control. El diseño con posprueba y grupo control puede extenderse para incluir más de dos grupos (tener varios niveles de la variable independiente). En este caso, en la primera parte, se utilizó cuatro extractos como tratamientos y en la segunda partes se utilizó el extracto más eficiente de la primera parte y dos geles preparados a partir del extracto de mayor eficacia, además del grupo control (Tabla 1) (21).

TABLA 1: DISEÑO EXPERIMENTAL

Separación de los diferentes grupos aleatorizado	Medida de volumen basal	Tratamientos administrados	Mediciones con pletismómetro
RG <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>
RG <sub>2</sub>	B <sub>2</sub>	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
RG <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>
•			
•			
•			
RG <sub>n</sub>	O <sub>n</sub>	--	O <sub>n</sub>

**REFERENCIA: ELABORACIÓN PROPIA**

El último grupo no se expone a la variable independiente: es el grupo de control (21).

En la tabla podemos observar que B es la medida de volumen basal o volumen normal antes del tratamiento, O son las observaciones o mediciones experimentales consistentes en las lecturas realizadas con pletismómetro digital, X son los distintos tratamientos administrados y que se describirán más adelante, G representa la simbología de los grupos conformados, y finalmente, R se refiere a la aleatorización o randomización de los animales para la asignación o conformación de los grupos experimentales.

### 2.3. METODOLOGÍAS UTILIZADAS

#### 2.3.1. Procesamiento de la materia vegetal

##### 2.3.1.1 Recolección

La recolección marcó el inicio de la investigación de campo, consistió en obtener especímenes de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” en su hábitat, para ello se visitó la localidad de Cari Cari, ubicado en el

distrito de Chiguata, este distrito está dentro de la provincia de Arequipa, ubicado en el departamento de Arequipa, donde se encontraron ejemplares maduros de la especie bajo estudio, se colectó y fueron transportados acondicionados en sacos hacia la ciudad de Arequipa

### 2.3.1.2 Selección

Este procedimiento tuvo como objetivo conseguir la droga vegetal, como Claudia Kuklinski define parte de la planta que contiene el principio activo y que se utiliza en terapéutica (22). Algunos ejemplos de drogas vegetales son: corteza de tilo, hojas de menta, raíz de ipecacuana, etcétera (22).

Por lo que la droga vegetal estuvo constituida por las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”, esta fue producto del retiro de otras partes del vegetal, como tallos o ramas además de material extraño como “mala hierba” que se recolecto por accidente, y material en mal estado como hojas marchitas.(Figura 1).

#### ILUSTRACIÓN 2: SELECCIÓN DE HOJAS



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 2.3.1.3 Estabilización

Con este objetivo la droga (hojas) de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” se sometieron a calor seco en estufa, a una temperatura de 100 °C durante 2 minutos (52).

### **Fundamento**

La estabilización es un proceso que consiste en la destrucción irreversible de los enzimas, de manera que las drogas mantengan su composición química inalterada (23).

#### **2.3.1.4 Deseccación**

Es el procedimiento más antiguo empleado por los hombres en la conservación de las drogas (23). En este caso se utilizó una temperatura de 50°C por un tiempo necesario para mantener el peso constante de las hojas (4 horas) (52).

### **Fundamento**

Consiste en eliminar el agua de vegetación sin alterar los principios activos de la droga

#### **2.3.1.5 Trituración**

La trituración se realizó de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” se realizó mediante mortero de porcelana, y lograr aumentar el área de contacto con el solvente y facilitar la extracción de los grupos de metabolitos (52).

#### **2.3.2. Procedimientos de extracción**

Se aplicó dos métodos de extracción diferentes, uno mediante extracción con equipo Soxhlet y otro con percolador, en ambos casos con dos diferentes disolventes, alcohol etílico de 96° y cloroformo (27).

##### **2.3.2.1 Método Continuo con Soxhlet**

El primer método a utilizar fue un método continuo caliente utilizando un equipo de destilación Soxhlet. Este tipo de extracción se caracteriza por ser exhaustiva. Los solventes utilizados fueron:

- Etanol 96°

- Cloroformo

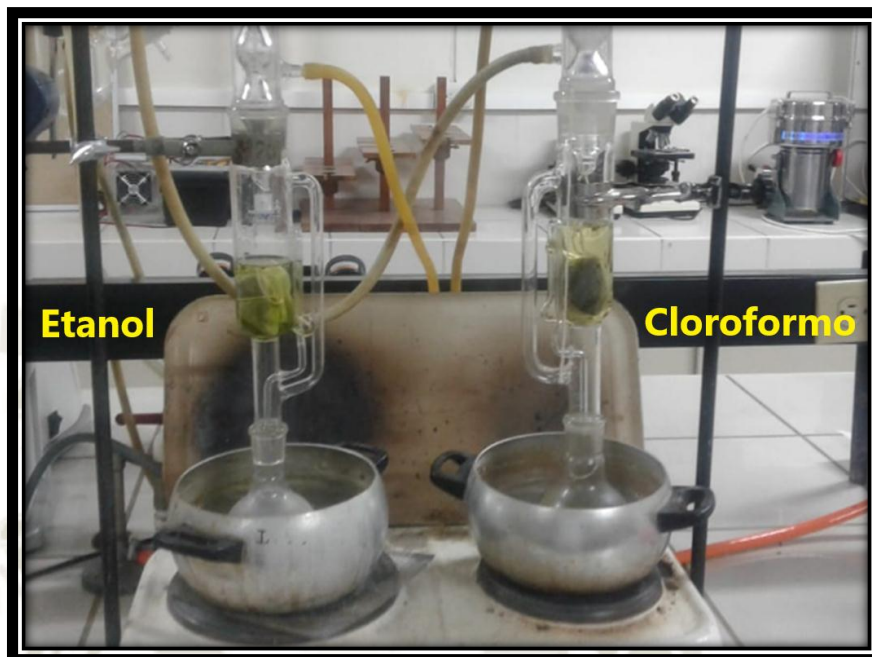
### **Fundamento**

Es un método de extracción continuo que se utiliza para materiales sólidos. Consiste en colocar el material a extraer, previamente molido y pesado, en un cartucho de celulosa que se introduce en la cámara de extracción, conectada por una parte al balón de destilación y por otra a un refrigerante. (24) El disolvente contenido en el balón se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo sobre el material. Cuando alcanza el nivel conveniente sifona por el tubo regresando al balón. El proceso se repite hasta conseguir el agotamiento deseado del material (24).

### **Procedimiento**

Primero se armó el equipo de soxhlet, utilizando una base universal, para poder ajustar el equipo soxhlet se utilizó las pinzas de laboratorio, en la parte inferior va la cocina encima una olla con agua para que la temperatura no supere los 100 grados, encima va el balón de vidrio que contiene en su interior 150 ml de cloroformo o etanol, en la parte del medio va el cartucho de papel filtro con su interior llena de hojas secas pulverizadas, el cartucho es amarrado con una pita para su posterior retiro, por encima va el sistema refrigerante, donde está el material de vidrio con agua circulando, después se prende la cocina y se abre el sistema de enfriamiento hasta que haya una extracción completa, esto se observa al momento de la condensación del solvente tenga un color muy claro. (Figura 2).

### ILUSTRACIÓN 3: EXTRACCIÓN CON EL EQUIPO SOHXLET UTILIZANDO ETANOL Y CLOROFORMO



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

#### 2.3.2.2 Método Continuo Percolación

El segundo método utilizado fue uno continuo pero en frío utilizando un percolador acondicionando para ese efecto una botella de vidrio de cuello cónico, rota por su base como percolador. Este tipo de extracción se caracteriza también por renovar el disolvente y también es exhaustiva. Los solventes utilizados fueron:

- Etanol 96°
- Cloroformo

#### Fundamento

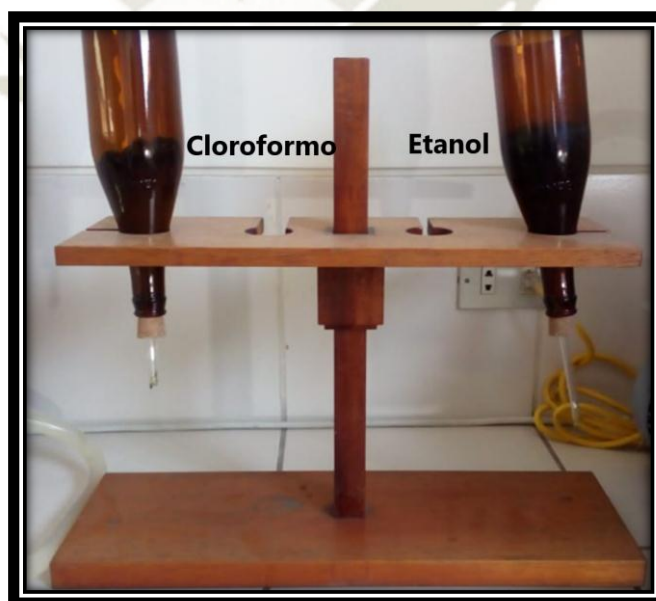
La percolación consiste en hacer pasar el solvente a través de la droga, hasta su extracción exhaustiva completa. La percolación simple, comprende la

extracción exhaustiva de la droga con el solvente siempre renovando. (25) En pequeña escala, la percolación se realiza en aparatos, denominados percoladores, de cuerpo cilíndrico o cónico, provistos de un grifo en la parte inferior, para regular el flujo de solvente. Según la Farmacopea Alemana, la capa de droga debe ser cinco veces el diámetro medio del equipo (25).

### **Procedimiento**

Lo primero que se hizo fue colocar el algodón en la parte inferior dentro del percolador (figura 3), después las hojas secas pulverizadas y encima un papel filtro circular, a continuación se puso arriba perlas de vidrio, más arriba se colocó una pera de decantación, con la ayuda de la base universal y unas pinzas, en la pera de decantación se reguló para que caiga 60 gotas por minuto, se utilizó al comienzo 100 ml de solvente clorofórmico y etanólico para la primera parte, en la segunda parte se utilizó 100 ml del solvente, pero una vez que volvió a caer todo lo volví hacer pasar por el percolador, después en la tercera parte volví a usar otros 100 ml de solvente, a continuación se volvió a pasar dos veces por las hojas seca de la planta todos estos volúmenes se juntó y a continuación procedí con la concentración

### **ILUSTRACIÓN 4: EQUIPO DE PERCOLACIÓN**



**FUENTE ELABORACIÓN PROPIA**

### **2.3.3. Concentración de los extractos**

#### **2.3.3.1 Baño maría**

Se utilizó el baño maría para eliminar parcialmente el disolvente, en este caso se utilizó un termómetro para controlar la temperatura y no exceder los 60 grados y poder obtener extractos fluidos, los que fueron administrados a los animales de experimentación.

##### **Fundamento**

Al utilizar temperaturas elevadas en un recipiente rodeado por agua, permite la evaporización del solvente sin exceder los 100 °C, pero en este caso se utilizó un termómetro para controlar la temperatura y no exceder los 60 grados, finalmente se llegó a concentrar el extracto al volumen deseado.

##### **Procedimiento**

Los extractos se colocaron dentro de una olla que contenía agua y debajo de esta olla se colocó una cocina al momento de prender la cocina se controló la temperatura con un termómetro digital hasta poder concentrarlo al volumen deseado

### **2.3.4. Métodos fitoquímicos**

#### **2.3.4.1 Cromatografía en capa fina**

Se realizó un análisis fitoquímico preliminar mediante cromatografía en capa fina, se utilizó el extracto que presentó mayor eficacia. Las evaluaciones realizadas fueron las siguientes:

- General
- Terpenos
- Flavonoides
- Taninos
- Alcaloides

### **Fundamento**

La cromatografía se puede definir como una técnica de separación, en la cual una mezcla de solutos en una fase móvil es separada en sus componentes individuales, debido a la diferencia de afinidad que presentan por la fase estacionaria (26).

En toda separación cromatográfica hay una fase estacionaria que consiste en la sustancia con que se empaqueta la columna (cromatografía de columna) se cubre una superficie pulida (cromatografía de capa delgada) o se rellena una columna en espiral (cromatografía de gases) y una fase móvil que recorre la columna por o la superficie (26).

### **Fases móviles**

Las fases móviles utilizadas según la reacción de análisis fitoquímico preliminar fueron las siguientes.

- General: Acetato de etilo (97), Metanol (20), Agua (10).
- Terpenos: Tolueno (95), Acetato de etilo (5).
- Flavonoides: Acetato de etilo (100), Ácido acético (11), Ácido fórmico (11), Agua (26).
- Taninos: Metanol (70), Agua (30).
- Alcaloides: Ácido acético (70), Metanol (10), Agua (20).

En este listado se describe la composición de cada una y la proporción por partes de cada disolvente entre paréntesis.

### **Reactivos reveladores**

- General: Reactivo de ácido sulfúrico-vainillina, 1% de vainillina en solución etanólica (solución I), 10% de ácido sulfúrico en solución

etanólica (solución II). La placa es pulverizada con la solución I, después calentar a 110°C durante 5-10 minutos bajo observación. Observar en luz UV 254nm y en el visible. Reactivo universal o general (27).

Detección por ejemplo de componentes de aceites esenciales (terpenos y fenilpropanoides) (27).

- Terpenos: Reactivo Liebermann-Burchard, 5 mL de anhídrido acético y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado son añadidos cuidadosamente a 50 mL de etanol absoluto, mientras se enfría con hielo. El reactivo debe estar recién preparado (27).

La placa pulverizada se calienta a 100°C durante 5-10 minutos y se observa en UV-365 nm (27).

Detección de triterpenos, esteroides (saponinas, principios amargos) (27).

- Flavonoides: Reactivo cloruro de aluminio, disolver 1 g de cloruro de aluminio en etanol. Pulverizar la placa y observar en UV-365 nm (28).

Detección de flavonoides mediante fluorescencia amarilla (28).

- Taninos: Reactivo de cloruro férrico, disolver 1 g de cloruro férrico en etanol. Pulverizar la placa, dejar secar a 110°C durante 5-10 minutos. (28)

Detección: Taninos y compuestos fenólicos mediante manchas azules, rojas verdes o marrones (28).

- Alcaloides: Reactivo Dragendorf, Solución (a): disolver 0.85 g de nitrato básico de bismuto en 10 mL de ácido acético glacial y 40 mL de agua destilada bajo calentamiento. Si es necesario filtrar. Solución (b): disolver 8 g de yoduro de potasio en 30 mL de agua. Solución madre: (a) + (b) se mezclan 1:1 (27).

Reactivo de pulverización: 1mL de solución madre se mezcla con 2mL de ácido acético glacial y 10 mL de agua (27).

Detección de alcaloides, compuestos heterocíclicos nitrogenados (27).

### **Procedimiento**

Primero se cortó las placas considerando que sean lo más largas posibles y 0.5cm de espacios entre bandas de la muestra después la primera placa se colocó como fase móvil Acetato de etilo (97), Metanol (20), Agua (10), considerando que la cantidad de la solución no supere la altura de inicio de siembra o marcaje de la muestra y además se sembró 15 veces para cada banda se tapó la cubeta y se esperó hasta que suba por capilaridad hasta antes de 1 cm de la altura máxima de la placa, a continuación se dejó secar posteriormente se aplicó el revelador de vainillina al 1 % y se dejó secar a temperatura ambiente para poder pulverizar con ácido sulfúrico al 10 % colocado en estufa por 10 minutos a 110°C después se observó los colores de identificación

Para el caso de terpenos se usó como fase móvil Tolueno (95), Acetato de etilo (5) también se sembró en la placa se colocó en la cubeta posteriormente se esperó a que suba por capilaridad hasta antes del borde luego se saca de la cubeta para poder dejarlo secar y la placa rociada con el revelador anteriormente explicado es calentada a 110°C por 10 minutos e inspeccionada a luz UV 254 nm

En el caso de flavonoides es lo mismo se sembró en una placa cromatografía se utilizó como fase móvil a Acetato de etilo (100), Ácido acético (11), Ácido fórmico (11), Agua (26) se colocó la placa cromatográfica dentro de la cubeta al igual que la fase móvil y se tapó la cubeta a continuación se esperó a que subiera por capilaridad luego se retiró la placa se dejó secar y se aplicó el revelador en la placa y se observó en UV-365 nm

El procedimiento para taninos y alcaloides es el mismo, para taninos se usó como fase móvil Metanol (70), Agua (30). Y para alcaloides Ácido acético (70), Metanol (10), Agua (20) como revelador en taninos fue cloruro férrico al 1 % con etanol y revelador de alcaloides fue Reactivo de Dragendorff ambos se observan a luz visible

#### **2.3.5.Elaboración del gel con extracto**

La composición del gel se detalla en la tabla 2, primero se llevó a ebullición el agua destilada, en la que se disolvió el metilparabeno y el propilparabeno, hasta que este disuelto, Luego se dispersó en carbopol y se dejó en reposo para su

disolución completa durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se añadió gota a gota la trietanolamina siempre homogenizado, hasta que gelifique (pH 6-6.5) (30).

En otro vaso de precipitados, donde se concentró el extracto, se registró el peso de este vaso y luego se añadió el Tween 20. Cuando se dispersó y disolvió totalmente el extracto en el Tween 20, se agregó el propilenglicol, posteriormente se añadió a esta misma mezcla el gel elaborado, con la finalidad de aprovechar toda la mezcla de extracto y no tener pérdidas. Finalmente se homogenizo totalmente y se envasó (29).

**TABLA 2: DATOS DESCRIPTIVOS DE LAS FÓRMULAS DE LOS GELES A DOS  
CONCENTRACIONES DE EXTRACTO DE MARMAKILLA**

Nº	Descripción	Conc. Menor	Conc. Mayor
1	Carbopol 940	1.2 g	1.2 g
2	Propilenglicol	5 g	5 g
3	Metilparabeno	0.8 g	0.8 g
4	Propilparabeno	0.2 g	0.2 g
5	Trietanolamina csp pH 7	C.S.P. pH 6-6.5	C.S.P. pH 6-6.5
6	Extracto seco de <i>Ageratina sternbergiana</i>	1.5 g	3 g
7	Tween 20	1.5 g	3 g
8	Agua destilada	89.8	86.8

FUENTE: elaboración propia.

### 2.3.6. Evaluación del efecto antiinflamatorio

#### 2.3.6.1 Control de influencias

Para la realización de la investigación se debe generar un entorno investigativo de control de influencias. Para ello los animales fueron pesados para determinar si su rango de peso se encuentra dentro del margen de los criterios de inclusión previstos en el proyecto de investigación. Posteriormente todos fueron sometidos condiciones similares de encierro en jaula recibiendo la misma cantidad y calidad de alimento, consistente en alimento balanceado y agua a demanda

### 2.3.6.2 Organización del estudio

El estudio se organizó en dos etapas, ello por diferentes motivos, el principal es que no teniéndose evidencia de la naturaleza del extracto que muestre eficacia, para que según ello este se incorpore a una forma farmacéutica, es que fue imprescindible evaluar primero extractos con diferentes métodos de extracción y disolventes. Superada esta etapa con el extracto de mayor eficacia se pasó a la siguiente etapa en donde se incorporó este extracto eficaz en dos concentraciones en forma de gel, y se volvió a evaluar este mismo extracto, todos los tratamientos en esta vez se evaluaron en presencia de un control positivo que fue el gel de diclofenaco.

En segundo lugar, ejecutar todos estos grupos, genera un incremento de la logística, es decir un mayor número de animales, mayor número de jaulas y en consecuencia mayor espacio, situación que es inviable en el bioterio, ya que existen otros investigadores que también están trabajando. A continuación, el detalle de estas etapas.

#### 2.3.6.2.1 Primera etapa: Evaluación de los extractos

Tal como se mencionó en la primera etapa se evaluó diferentes extractos según método y disolventes utilizados, para luego establecer cuál de los extractos tiene mayor eficacia en presencia de un control negativo, con esta finalidad se conformaron los siguientes grupos experimentales:

- *Grupo Control Negativo (GCN):* De 5 ratas de laboratorio.
- *Grupo Extracto Etanólico Percolación (GEEP):* De 5 ratas de laboratorio a los que se les aplicó tópicamente el extracto fluido de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido por percolación utilizando como disolvente etanol 96°.
- *Grupo Extracto Etanólico Soxhlet (GEES):* De 5 ratas de laboratorio a los que se les aplicó tópicamente el extracto fluido de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido mediante equipo Soxhlet utilizando como disolvente etanol 96°.
- *Grupo Extracto Clorofórmico Percolación (GECF):* De 5 ratas de laboratorio a los que se les aplicó tópicamente el extracto fluido de las hojas

de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido por percolación utilizando como disolvente cloroformo.

- *Grupo Extracto Clorofórmico Soxhlet (GECS)*: De 5 ratas de laboratorio a los que se les aplicó tópicamente el extracto fluido de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido mediante equipo Soxhlet utilizando como disolvente cloroformo.

#### 2.3.6.2.2 Segunda etapa: Evaluación del extracto más eficaz en gel

Transcurrida la primera etapa, se consideró un periodo de descanso de 15 días, durante el cual los animales se someterán a las condiciones antes descritas, luego fueron aleatorizados en nuevos grupos, y se inició la segunda etapa. En esta se evaluó otra vez el extracto de mayor eficacia proveniente de la primera etapa, también este extracto fue incorporado en geles a dos concentraciones diferentes. Además del grupo control negativo se incluyó un grupo control positivo que fue un gel de diclofenaco al 1%.

- *Grupo Control Negativo (GCN)*: De 5 ratas de laboratorio a las que se les aplicó la base gel.
- *Grupo Extracto con Mayor Eficacia (GEME)*: De 5 ratas de laboratorio a los que se les aplicó tópicamente el extracto fluido de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” de mayor eficacia en la primera etapa.
- *Grupo Gel Concentración Mayor (GGC<sub>Ma</sub>)*: De 5 ratas de laboratorio a los que se les aplicó tópicamente el gel a una concentración mayor del extracto fluido de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” de mayor eficacia en la primera etapa.
- *Grupo Gel Concentración Menor (GGC<sub>Me</sub>)*: De 5 ratas de laboratorio a los que se les aplicó tópicamente el gel a una concentración menor del extracto fluido de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” de mayor eficacia en la primera etapa.

- *Grupo Control Positivo (GCP)*: De 5 ratas de laboratorio a los que se les aplicará tópicamente un medicamento comercial tópico con acción antiinflamatoria.

### 2.3.6.3 Efecto antiinflamatorio

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio de los tratamientos experimentales, se utilizó el modelo de inflamación subplantar inducida con carragenina.

#### **Fundamento**

Uno de los principales modelos experimentales de que se dispone para causar la inflamación en fase aguda es el modelo de edema subplantar (SP) y cambios en la permeabilidad vascular inducidos por sustancias irritantes en rata. Este modelo permite cuantificar, de una manera fácil y reproducible, dos de los parámetros más característicos de la inflamación como son el edema y la extravasación de plasma al inducir una inflamación aguda localizada en la pata del animal tras administración de carragenina (CA) por vía SP (31).

El edema SP inducido por CA en ratas, 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 y NO (31) (32).

La respuesta inflamatoria es usualmente cuantificada por el aumento en el tamaño de la pata (edema) que es máxima alrededor de 5 horas después de la inyección de CA y es modulada por los inhibidores de moléculas específicas dentro de la cascada inflamatoria (31).

#### **Procedimiento**

- Primero se identificó mediante marcaje de cada animal de experimentación.

- Se distribuyó de los animales identificados y marcados en sus respectivos grupos experimentales, que para cada etapa fue de 5 grupos.
- Medición de los volúmenes basales en pletismómetro digital, introduciendo la pata del animal en el recipiente o pocillo del instrumento. Sumergiendo en el líquido hasta el maléolo lateral.
- Inmediatamente luego de la medición basal se procedió con la administración de los tratamientos tópicos. Anotar la hora de administración con el fin de determinar las mediciones posteriores.
- Transcurridos 1 hora luego de la administración proceder a la administración por vía sub cutánea, la solución de carragenina al 1 % (33) (32), utilizando jeringa de tuberculina. La administración fue en la aponeurosis de la pata de la rata (34) – la que se midió el volumen basal – dejar al animal en su jaula. La administración de los tratamientos fue una hora antes de la carragenina (35). La hora de administración de la carragenina constituye otro tiempo a tomar en cuenta.
- Transcurridos 1, 2, 3, 4 y 5 horas (35) luego de administrada la carragenina medir los volúmenes inflamatorios en el pletismómetro digital, anotar los volúmenes inflamatorios.

### **2.3.7. Análisis de los datos recolectados**

Los datos recolectados en el presente estudio fueron los volúmenes de inflamación, estos datos sirvieron para calcular la variación porcentual, que es la expresión en porcentaje de la tasa de variación.

#### **2.3.7.1 Tasa de variación**

La tasa de variación, cuando no es suficiente conocer cuántas veces contiene un valor de una variable a otro de esta variable o de cualquier otra, sino que, también es necesario cuantificar cual es el aumento o disminución relativo entre los dos valores, se utiliza la tasa de variación, expresada en porcentaje, que se define como la “tasa de variación absoluta y el valor inicial” (36).

$$tc = \left( \frac{M_f}{M_i} - 1 \right) * 100$$

Donde

- $M_i$ = medición inicial
- $M_f$ = medición final

### 2.3.7.2 Tasa media

Frecuentemente es necesario estudiar variaciones de una variable a lo largo del tiempo. En este caso, se obtienen valores de la variable para cada periodo de tiempo que se determine (años, meses, días,...). Esta sucesión de valores se conoce como serie temporal, siendo cada periodo de tiempo los elementos de la serie.

La tasa media de variación se puede obtener en función de las observaciones inicial y final. (37) Para su expresión en porcentaje simplemente se multiplica por 100.

$$tm = \left( \sqrt[n]{\frac{M_f}{M_i}} - 1 \right) * 100$$

Donde

- $N$ =número de periodos
- $M_i$ = medición inicial
- $M_f$ = medición final

### 2.3.7.3 Media

Media o media aritmética se calcula sumando los valores de la serie, de los cuales se desea obtener el promedio, y dividiendo el resultado entre el número de datos que se consideran en la suma (38).

Este cálculo se hizo para promediar los valores de los volúmenes de inflamación en cada tiempo medido, y poder comparar gráficamente con las variaciones porcentuales.

#### 2.3.7.4 Análisis de Varianza

Cuando se quieren comparar grupos formados en una variable considerada la dependiente, numérica y agrupada, según las categorías de otra variable considerada la independiente, categórica y de agrupamiento, pero que tiene más de dos categorías, se utiliza el análisis de varianza (Oneway). El estadístico t de diferencia de medias está diseñado para comparar dos medias porque opera con diferencias, y las diferencias aceptan sólo dos términos, de dos grupos. Al existir tres grupos (a, b y c) se podrían hacer múltiples comparaciones (a con b, a con c y b con c) pero el error que se asume al hacer un contraste de hipótesis, se acumularía con los tres contrastes. Si el número de grupos es mayor, el error acumulado sería mayor (39).

La comparación entre más de dos grupos se realiza utilizando los estadísticos de cada grupo y de la muestra total. El procedimiento, indicado como análisis de varianza, quiere decir comparar si existe diferencia significativa entre los grupos, a través de sus medias, por descomposición de la varianza (39).

#### 2.3.7.5 Análisis post hoc de tukey

Al Análisis de varianza se puede usar el análisis post hoc de Tukey. Esta prueba se llama Tukey's HSD (*Tukey's Honestly Significant Difference Test*), y consiste en realizar comparaciones múltiples luego de haber obtenido una razón F significativa en la prueba de ANOVA. La prueba se utiliza para determinar en donde se encuentran las diferencias significativas, lo cual no se puede determinar con el análisis general de ANOVA (40).



### **CAPÍTULO III**

## **RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### 3.1. ACONDICIONAMIENTO DE LA DROGA

Las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” fueron acondicionadas previamente al proceso de extracción sometiéndose a los procedimientos de selección, estabilización y desecación. La desecación tal como se describió en el capítulo anterior fue mediante estufa de desecación. A continuación, los resultados del proceso de secado y el rendimiento de droga de parte de la planta medicinal *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”.

**TABLA 3: DATOS PARA EL RENDIMIENTO DE LA PLANTA MEDICINAL DESPUÉS DE LA DESECACIÓN**

Descripción	Desecación 1	Desecación 2	Desecación 3	Promedio
<b>Hojas frescas seleccionadas</b>	161.8 g	220.3 g	180.7 g	187.6 g
<b>Hojas secas</b>	35.4 g	45.8 g	39.7 g	40.3 g
<b>Rendimiento</b>	21.88 %	20.79 %	21.97 %	21.55 %

FUENTE: elaboración propia.

El rendimiento de la planta medicinal (Tabla 3), indican que esta especie brinda en promedio 21.55% en peso seco de droga medicinal, esto es una cifra algo menor a la cuarta parte del peso total, resultado que es razonable, considerando que los seres vivos contenemos gran proporción de agua.

Posteriormente se procedió con la trituración y la extracción esta se realizó con el equipo Soxhlet y percolador, utilizando en ambos casos alcohol etílico 96° y cloroformo. Los datos descriptivos de estas extracciones a continuación:

**TABLA 4: DATOS PARA LA EXTRACCIÓN MEDIANTE EQUIPO  
SOXHLET**

Disolvente	Descripción	Extracciones realizadas			Promedio
		1	2	3	
<b>Alcohol etílico</b>	Peso Droga	14.20 g	13.80 g	14.00 g	14.00 g
	Peso del vaso vacío	50.61 g	51.32 g	52.45 g	51.46 g
	Peso del vaso más extracto	94.10 g	96.80 g	95.70 g	95.53 g
	Peso Extracto	43.49 g	45.48 g	43.25 g	44.07 g
	Concentración	(1:3)	(1:3)	(1:3)	
<b>Cloroformo</b>	Peso Droga	13.90 g	14.10 g	14.10 g	14.03 g
	Peso del vaso vacío	49.22 g	49.30 g	49.37 g	49.30 g
	Peso del vaso más extracto	92.80 g	91.50 g	93.10 g	92.47 g
	Peso Extracto	43.58 g	42.20 g	43.73 g	43.17 g
	Concentración	(1:3)	(1:3)	(1:3)	

FUENTE: elaboración propia.

Los primeros resultados (Tabla 4) pertenecen a la extracción mediante equipo Soxhlet, con los datos provenientes de tres extracciones realizadas. Se trabajó con un promedio de 14 gramos, siendo ese el inconveniente de este equipo que por su tamaño limita el tamaño masa de droga a extraer. Para ambos disolventes se trabajó con una cantidad inicial de 150 mL de disolvente, luego de la extracción exhaustiva este disolvente fue eliminado hasta el peso aproximado que se describe, siempre intentando la similitud en cada extracción. Al final para ambos disolventes se obtuvo un extracto fluido cuya concentración fue de (1:3), es decir, una parte (14.20 gramos de peso de la droga tabla 3) y tres partes (43.49 gramos del peso del extracto de la droga tabla 3)

**TABLA 5: DATOS PARA LA EXTRACCIÓN MEDIANTE PERCOLACIÓN**

Disolvente	Descripción	Extracciones realizadas			Promedio
		1	2	3	
<b>Alcohol etílico</b>	Peso Droga	25.60 g	24.80 g	25.70 g	25.37 g
	Peso del vaso vacío	50.70 g	51.20 g	51.40 g	51.10 g
	Peso del vaso más extracto	126.90 g	129.80 g	130.10 g	128.93 g
	Peso Extracto	76.20 g	78.60 g	78.70 g	77.83 g
	Concentración	(1:3)	(1:3)	(1:3)	
<b>Cloroformo</b>	Peso Droga	25.00 g	25.50 g	25.30 g	25.27 g
	Peso del vaso vacío	51.48 g	49.98 g	52.33 g	51.26 g
	Peso del vaso más extracto	129.80 g	130.00 g	128.80 g	129.53 g
	Peso Extracto	78.32 g	80.02 g	76.47g	78.27 g
	Concentración	(1:3)	(1:3)	(1:3)	

FUENTE: elaboración propia.

Luego tenemos los resultados que pertenecen a la extracción mediante Percolador (Tabla 5), con los datos provenientes de tres extracciones realizadas. La percolación se realizó en una botella cortada por su base, la que sirvió como percolador, al tener un mayor diámetro permitió trabajar con más cantidad de droga en promedio se trabajó con 25g. La cantidad inicial de disolvente fue diversa (no se detalla), sin embargo, para guardar relación o tener una concentración similar a los obtenidos con el equipo Soxhlet, también se concentró hasta obtener también extractos fluidos por percolación a una concentración de (1:3), es decir, una parte (25.60 gramos de peso de la droga tabla 5) y tres partes (76.20 gramos del peso del extracto de la droga tabla 5)

**TABLA 6: DATOS PARA EL EXTRACTO OBTENIDO MEDIANTE SOXHLET, A INCORPORAR EN EL GEL**

Disolvente	Descripción	Extracciones realizadas			Promedio
		1	2	3	
cloroformo	Peso Droga	14.30 g	13.90 g	14.10 g	14.10 g
	Peso del vaso vacío	49.35 g	50.64 g	51.20 g	50.40 g
	Peso del vaso más extracto	51.15 g	52.35 g	52.96 g	52.15 g
	Peso Extracto	1.80 g	1.71 g	1.76 g	1.76 g
	Concentración	(8:1)	(8:1)	(8:1)	

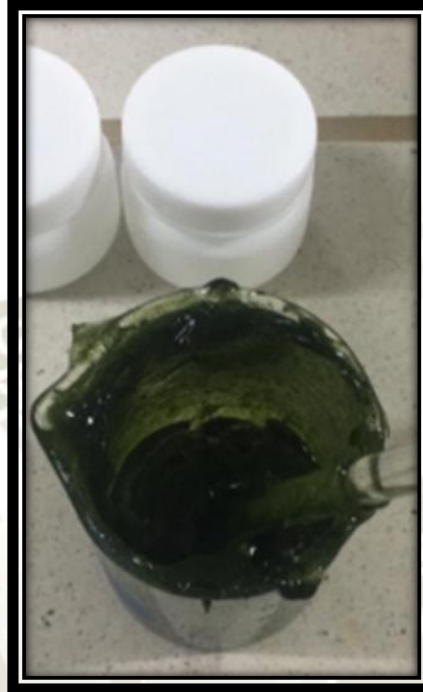
FUENTE: elaboración propia.

Finalmente se tienen los resultados para la obtención del extracto mediante equipo Soxhlet (tabla 6) a ser incorporado en el gel, tal como se describe más adelante luego de la primera fase, se tuvo como extracto de mayor eficacia al extracto clorofórmico obtenido mediante equipo Soxhlet, entonces se elaboró con este extracto geles, al ser esta base hidrófila y para ser aplicado tópicamente, se tuvo que eliminar el disolvente, lo que permitió obtener un extracto seco para ser incorporado en el gel, cuya concentración final fue (8:1), es decir, es la relación de 1 parte (1.8g peso del extracto concentrado tabla 6) con 8 partes (14.3 g peso de la droga) .

### 3.2. ELABORACIÓN DE GELES

Para la segunda fase se elaboraron dos geles, uno a concentración menor y otro a concentración mayor (tabla 2), este gel se elaboró con los extractos secos, que fueron obtenidos mediante equipo de destilación Soxhlet, con cloroformo como disolvente, todo sobre la base de gel de carbopol, una base viable y cuya preparación no presenta mayor complejidad.

### ILUSTRACIÓN 5: GEL PREPARADO A PARTIR DEL EXTRACTO



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

Las fórmulas de los geles (Tabla 2) incluyen a parte de lo que corresponde a la base de gel de carbopol descrita en el capítulo antecedente, al Tween 20 y el propio extracto, el Tween 20 fue añadido para disolver al extracto en la base del gel hidrófilo. También se modificó la cantidad del agente gelificante descrito ya que 1% proporcionaba un gel de baja consistencia.

### 3.3. EFECTO ANTIINFLAMATORIO

La evaluación del efecto antiinflamatorio se dividió en dos etapas, en ambas se recolectaron el volumen de inflamación de los animales, primero el basal (antes del tratamiento), y los volúmenes de la inflamación a la primera, segunda, tercera, cuarta y quinta hora, la recolección de volumen fue después de la administración del tratamiento y la carragenina como agente químico inductor de la inflamación.

En primer lugar estos volúmenes de la inflamación sirvieron para calcular la tasa de variación porcentual entre dos periodos consecutivos desde el basal hasta la última hora de inflamación. En segundo lugar, se calculó la tasa media de variación, que es la variación porcentual entre el primer y último volumen de inflamación, ello con el objetivo de conocer la variación total y poder comparar con los otros grupos. En cuanto a las tasas de variación de la inflamación, calculados para hallar el promedio se recogen en la sección anexos del presente estudio.

### 3.3.1. Primera etapa

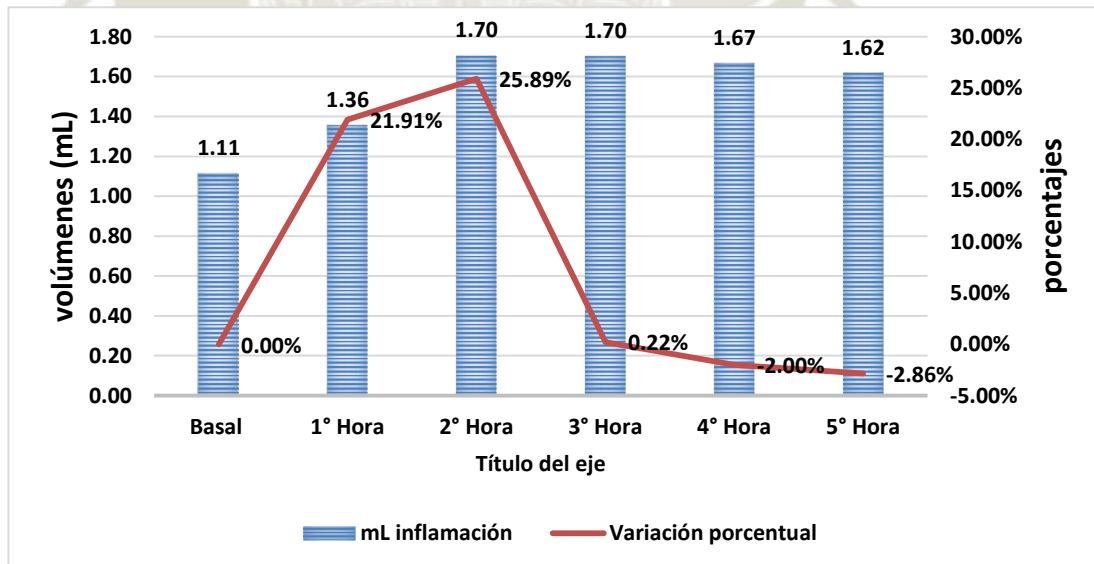
En la primera etapa se evaluaron los extractos de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenidos mediante percolación y en equipo Soxhlet, utilizando en ambos casos alcohol etílico y cloroformo, además está la presencia del grupo control negativo. Los datos que se presentan a continuación en la última fila representan los porcentajes de variación promedio entre las mediciones, para el caso de la medición basal el porcentaje de variación se consideró porque al ser la primera medición no presenta una medición anterior, por lo tanto, la variación es del 0%. La última columna es el promedio de variación en el periodo es decir desde la medición basal, hasta la medición a la quinta hora.

**TABLA 7: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO PERCOLACIÓN CON ETANOL**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.08 mL	1.35 mL	1.97 mL	1.84 mL	1.74 mL	1.67 mL	7.53
2	1.14 mL	1.3 mL	1.79 mL	1.76 mL	1.75 mL	1.68 mL	6.68
3	1.05 mL	1.33 mL	1.56 mL	1.61 mL	1.68 mL	1.66 mL	7.93
4	1.11 mL	1.41 mL	1.62 mL	1.71 mL	1.61 mL	1.58 mL	6.06
5	1.19 mL	1.39 mL	1.58 mL	1.59 mL	1.55 mL	1.5 mL	3.93
<b>Promedio</b>	1.11 mL	1.36 mL	1.70 mL	1.70 mL	1.67 mL	1.62 mL	6.43
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	21.91%	25.89%	0.22%	-2.00%	-2.86%	

Fuente: elaboración propia

**GRÁFICO 1: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO PERCOLACIÓN CON ETANOL**



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

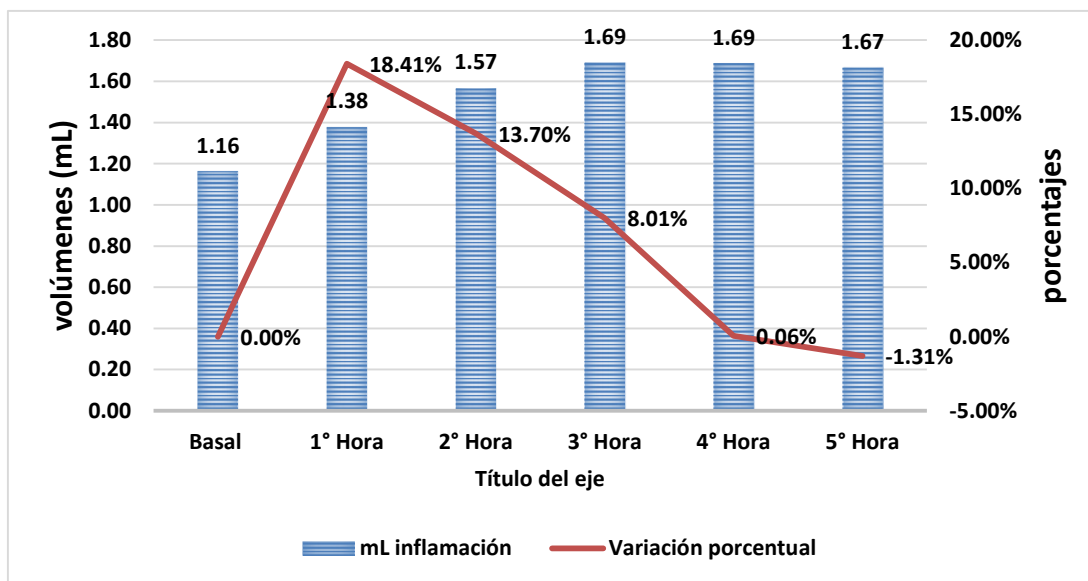
Los resultados de las variaciones porcentuales promedio calculados a partir de los volúmenes de inflamación para el grupo que recibió como tratamiento el extracto obtenido por percolación con etanol (Tabla 7), también está representado en gráfica (gráfico 1) se aprecia una variación del 21.91% desde la medición basal a la primera hora de administrar la carragenina, esto significa que hubo un incremento del 21.91% del volumen de la pata luego de 1 hora, luego se incrementa en 25.89% desde la primera hora hasta la segunda, de la segunda a tercera hora solo hay un incremento del 0.22%, para la cuarta hora existe una diferencia negativa, de -2%, es decir, que entre la tercera y cuarta hora hay una disminución del 2 % esto debido a que entre la tercera y cuarta hora hubo una disminución del volumen de la inflamación, que continua a la quinta hora donde hay una disminución promedio de -2.86%. En cuanto a la tasa media de variación porcentual para el grupo extracto percolación con etanol fué de 6.43%, es decir, que hubo una variación de 6.43% entre la medición basal y la medición final.

**TABLA 8: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON ETANOL**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.14 mL	1.24 mL	1.36 mL	1.47 mL	1.55 mL	1.53 mL	5.03
2	1.12 mL	1.37 mL	1.62 mL	1.64 mL	1.74 mL	1.84 mL	8.63
3	1.23 mL	1.43 mL	1.57 mL	1.78 mL	1.73 mL	1.68 mL	5.33
4	1.21 mL	1.47 mL	1.72 mL	1.81 mL	1.75 mL	1.65 mL	5.31
5	1.12 mL	1.38 mL	1.57 mL	1.76 mL	1.67 mL	1.63 mL	6.45
<b>Promedio</b>	1.16 mL	1.38 mL	1.57 mL	1.69 mL	1.69 mL	1.67 mL	6.15
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	18.41%	13.70%	8.01%	0.06%	-1.31%	

FUENTE: elaboración propia.

**GRÁFICO 2: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON ETANOL**



**FUENTE ELABORACIÓN PROPIA**

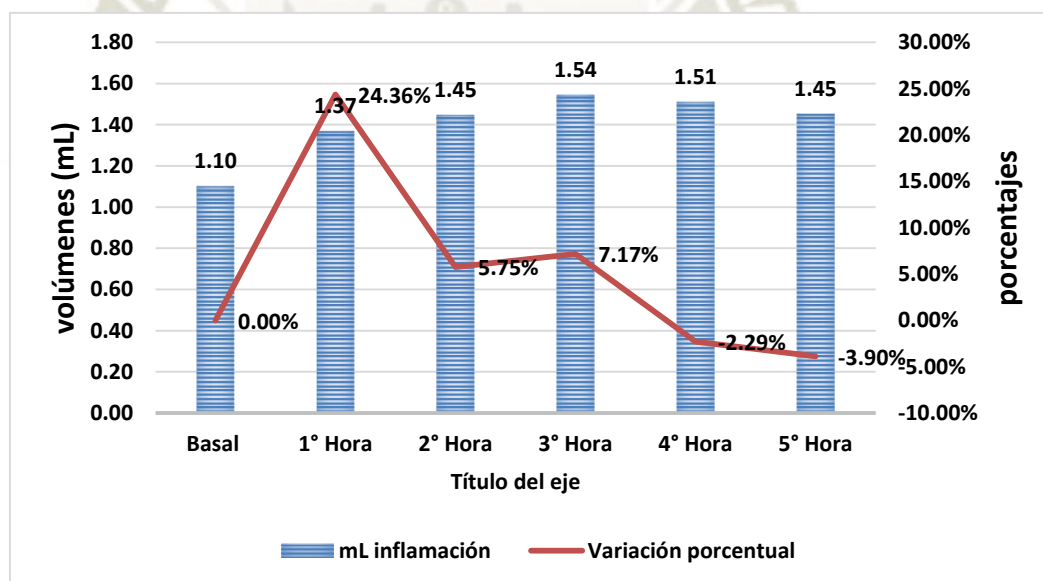
Los resultados de las variaciones porcentuales promedio calculados a partir de los volúmenes de inflamación para el grupo que recibió como tratamiento el extracto obtenido mediante Soxhlet con etanol (Tabla 8), también está representada en forma de gráfico (Gráfico 2) se aprecia una variación del 18.41% desde la medición basal a la primera hora de administrar la carragenina, esto significa que hubo un incremento del 18.41% del volumen de la pata luego de 1 hora desde la medición basal, luego se incrementa en 13.70% desde la primera hora hasta la segunda, de la segunda a tercera hora solo hay un incremento del 8.01%, para la cuarta hora existe un pequeño incremento porcentual de 0.06%, en este grupo se observa la disminución de volumen de inflamación mediante una diferencia negativa de -1.31% entre la cuarta y quinta hora. En cuanto a la tasa media de variación porcentual para el grupo control fue de 6.15%, es decir, que hubo una variación de 6.15% entre la medición basal y la medición final.

**TABLA 9: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO PERCOLACIÓN CON CLOROFORMO**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.13 mL	1.43 mL	1.54 mL	1.73 mL	1.75 mL	1.7 mL	7.04
2	1.15 mL	1.54 mL	1.59 mL	1.49 mL	1.43 mL	1.39 mL	3.21
3	0.99 mL	1.26 mL	1.31 mL	1.57 mL	1.55 mL	1.5 mL	7.17
4	1.13 mL	1.32 mL	1.38 mL	1.41 mL	1.4 mL	1.34 mL	2.88
5	1.1 mL	1.29 mL	1.41 mL	1.52 mL	1.42 mL	1.33 mL	3.22
<b>Promedio</b>	1.10 mL	1.37 mL	1.45 mL	1.54 mL	1.51 mL	1.45 mL	4.70
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	24.36%	5.75%	7.17%	-2.29%	-3.90%	

FUENTE: elaboración propia.

**GRÁFICO 3: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO PERCOLACIÓN CON CLOROFORMO**



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

En el caso del grupo que recibió como tratamiento el extracto obtenido por percolación con cloroformo (Tabla 9), también está en forma de gráfico (Gráfico 3) se aprecia un variación del 24.36% desde la medición basal a la primera hora de administrar la carragenina, luego se incrementa en 5.75% desde la primera hora hasta

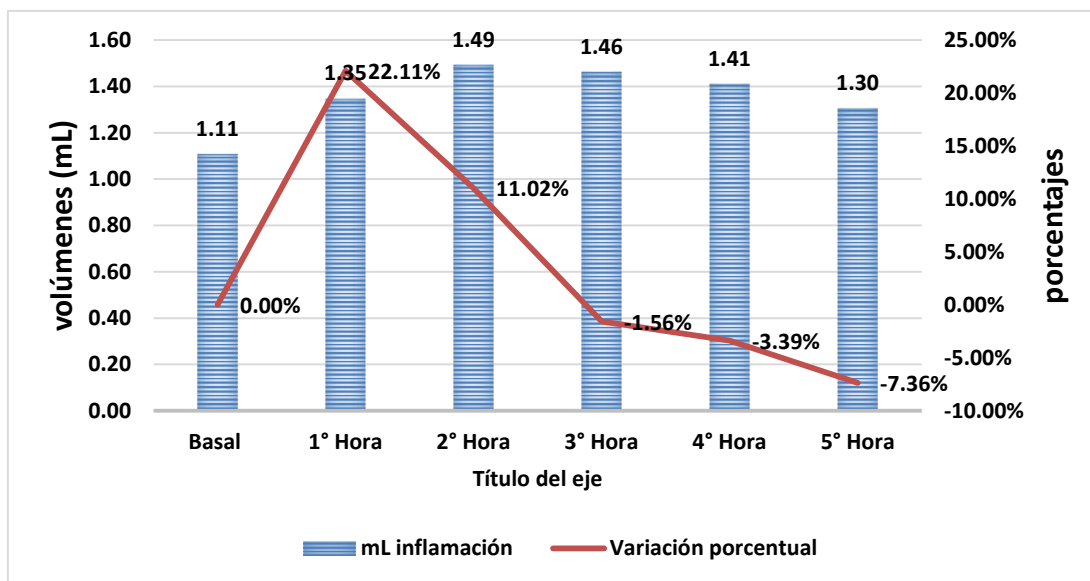
la segunda, sucesivamente de la segunda a tercera hora solo hay un incremento del 7.17%, sin embargo, a partir de la cuarta hora hay diferencias negativas, que se relaciona con disminución de volúmenes de inflamación, con una primera diferencia de -2.29%, entre la cuarta y quinta hora de -3.90%. En cuanto a la tasa media de variación porcentual para el grupo control fue de 4.70%, es decir, que hubo una variación de 4.70 % entre la medición basal y la medición final.

**TABLA 10: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON CLOROFORMO**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.13 mL	1.3 mL	1.77 mL	1.64 mL	1.55 mL	1.36 mL	3.14
2	1.15 mL	1.25 mL	1.3 mL	1.39 mL	1.5 mL	1.43 mL	3.70
3	1.06 mL	1.37 mL	1.41 mL	1.33 mL	1.28 mL	1.26 mL	2.92
4	1.01 mL	1.43 mL	1.55 mL	1.48 mL	1.37 mL	1.18 mL	2.63
5	1.19 mL	1.38 mL	1.43 mL	1.47 mL	1.35 mL	1.29 mL	1.35
<b>Promedio</b>	1.11 mL	1.35 mL	1.49 mL	1.46 mL	1.41 mL	1.30 mL	2.75
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	22.11%	11.02%	-1.56%	-3.39%	-7.36%	

FUENTE: elaboración propia.

**GRÁFICO 4: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON CLOROFORMO**



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

En el caso del grupo que recibió como tratamiento el extracto obtenido por Soxhlet con cloroformo (Tabla 10), también está representada en gráfico (Gráfico 4) se aprecia un variación inicial del 22.11% desde la medición basal a la primera hora de administrar la carragenina, luego se incrementa en 11.02%, sin embargo, ya para la tercera hora hubo diferencias negativas, que se relacionan con disminución de volúmenes de inflamación, con una primera diferencia de -1.56%, entre la tercera y cuarta hora de -3.39%, entre las dos últimas de -7.36%. En cuanto a la tasa media de variación porcentual para el grupo control fue de 2.75%, es decir, que hubo una variación de 2.75% entre la medición basal y la medición final.

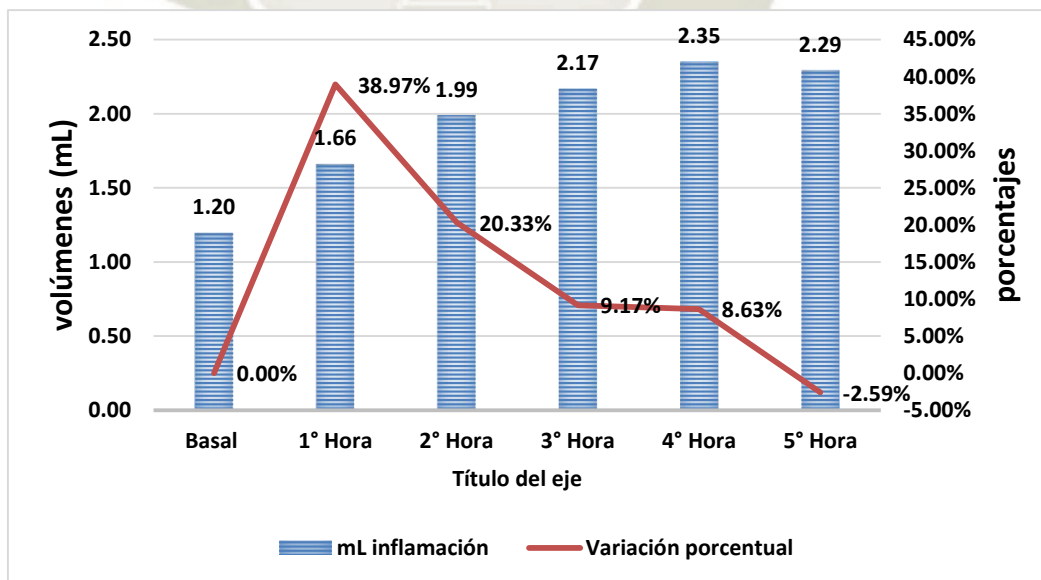
**TABLA 11: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO CONTROL**

**NEGATIVO**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.36 mL	1.84 mL	2.14 mL	2.33 mL	2.34 mL	2.29 mL	9.07
2	1.15 mL	1.58 mL	1.94 mL	2.05 mL	2.28 mL	2.21 mL	11.50
3	1.23 mL	1.71 mL	2.08 mL	2.15 mL	2.39 mL	2.38 mL	11.63
4	1.14 mL	1.42 mL	1.88 mL	2.1 mL	2.31 mL	2.16 mL	11.24
5	1.11 mL	1.76 mL	1.91 mL	2.22 mL	2.45 mL	2.43 mL	13.95
<b>Promedio</b>	1.20 mL	1.66 mL	1.99 mL	2.17 mL	2.35 mL	2.29 mL	11.48
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	38.97%	20.33%	9.17%	8.63%	-2.59%	

FUENTE: elaboración propia.

**GRÁFICO 5: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO CONTROL NEGATIVO**



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

En cuanto al control negativo (Tabla 11), también se encuentra en forma de gráfica (Gráfico 5) se aprecia una variación inicial ascendente hasta la cuarta hora, con un ascenso final de 8.63%, solo se apreció una disminución entre la cuarta y quinta hora de -2.59%. En cuanto a la tasa media de variación porcentual para el grupo control fue de 11.48%, es decir, que hubo una variación de 11.48% entre la medición basal y la medición final.

**TABLA 12: ANÁLISIS DE VARIANZA PRIMERA ETAPA-EVALUACIÓN DE EXTRACTOS**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	210,070	4	52,517	19,770	,000
<b>Dentro de grupos</b>	53,129	20	2,656		
<b>Total</b>	263,199	24			

FUENTE: elaboración propia mediante SPSS v. 23.

La comparación de los cinco grupos experimentales se realizó mediante un Análisis de Varianza (Tabla 12), hallándose una significancia menor a 0.05 (Sig.=0.000) correspondiente a un nivel de confianza del 95%. Concluyéndose que los grupos experimentales son diferentes entre sí, en cuanto a sus tasas medias de variación porcentual.

**TABLA 13: TEST DE TUKEY PRIMERA ETAPA-EVALUACIÓN DE EXTRACTOS**

Grupos Experimentales de la Fase I	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
<b>Extracto Soxhlet con Cloroformo</b>	5	2.7480		
<b>Extracto Percolación con Cloroformo</b>	5	4.7040	4.7040	
<b>Extracto Soxhlet con Etanol</b>	5		6.1500	
<b>Extracto Percolación con Etanol</b>	5		6.4260	
<b>Control Negativo</b>	5			11.4780
<b>Sig.</b>		,350	,473	1,000

FUENTE: elaboración propia mediante SPSS v. 23.

El Test de comparación múltiple o Test de Tukey, comparó los cinco grupos entre ellos, realizando una comparación en pares, como prueba posterior al análisis de varianza. Estos resultados (Tabla 13) permiten concluir que el grupo con menor tasa media de variación porcentual y por lo tanto menor inflamación a la quinta hora fue el grupo tratado con extracto de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido mediante Soxhlet utilizando como disolvente cloroformo, seguido del extracto de esta droga obtenido por Percolación también con cloroformo, sin embargo, este último grupo mantiene similitudes con el resto de tratamientos que si bien es cierto difieren del grupo control, tienen una eficacia inferior. El grupo control tiene el mayor promedio de tasa media de variación porcentual y se mantuvo con diferencias estadísticas significativas del resto de grupos de tratamiento.

### 3.3.2. Segunda etapa

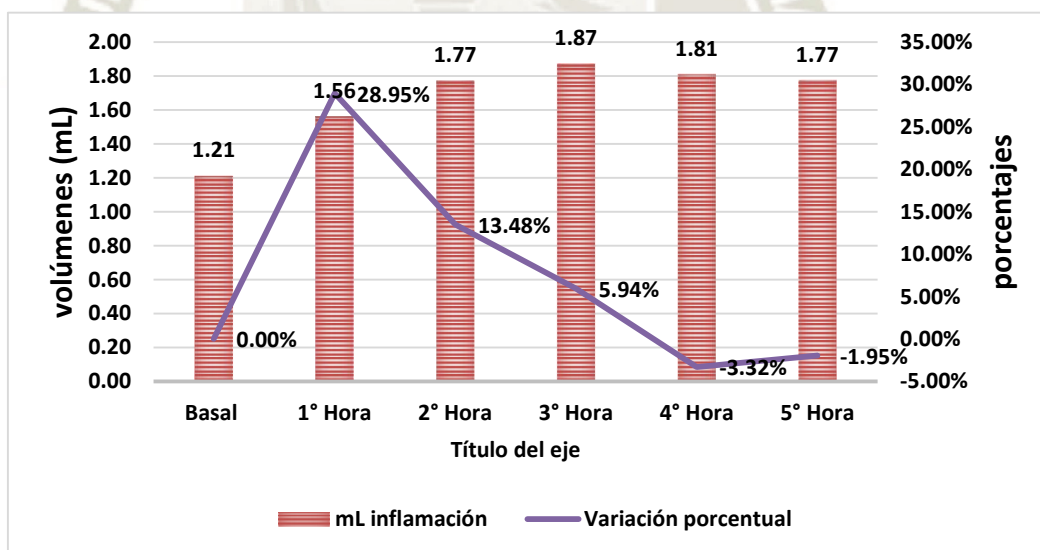
Para la segunda etapa se trabajó con el extracto de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido con Soxhlet utilizando como disolvente cloroformo, en razón de su mayor eficacia inicial, además de ello se ensayó con geles que incluían este extracto en dos concentraciones arbitrarias, una menor de 1.5 % de extracto seco y otra mayor de 3%. El control positivo estuvo a cargo de un gel de diclofenaco al 1% adquirido para tal efecto, además del control negativo de rigor, esta experimentación de cinco grupos también fue aleatorizada y el manejo de los volúmenes de inflamación, así como sus variaciones porcentuales y tasas medias de variación porcentual, se hizo del mismo modo que la primera etapa, así que la presentación de resultados para esta etapa tiene la misma dinámica.

**TABLA 14: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO GEL CONCENTRACIÓN MENOR**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.14 mL	1.49 mL	1.75 mL	1.83 mL	1.79 mL	1.77 mL	7.61
2	1.26 mL	1.48 mL	1.61 mL	1.79 mL	1.71 mL	1.7 mL	5.12
3	1.28 mL	1.73 mL	1.95 mL	1.93 mL	1.84 mL	1.76 mL	5.45
4	1.22 mL	1.57 mL	1.68 mL	1.86 mL	1.8 mL	1.79 mL	6.60
5	1.16 mL	1.54 mL	1.87 mL	1.95 mL	1.91 mL	1.85 mL	8.09
<b>Promedio</b>	1.21 mL	1.56 mL	1.77 mL	1.87 mL	1.81 mL	1.77 mL	6.57
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	28.95%	13.48%	5.94%	-3.32%	-1.95%	

FUENTE: elaboración propia.

**GRÁFICO 6: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO GEL CONCENTRACIÓN MENOR**



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

Los resultados de las variaciones porcentuales promedio calculados a partir de los volúmenes de inflamación para el grupo que recibió como tratamiento un gel conteniendo 1.5% de extracto seco de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K&

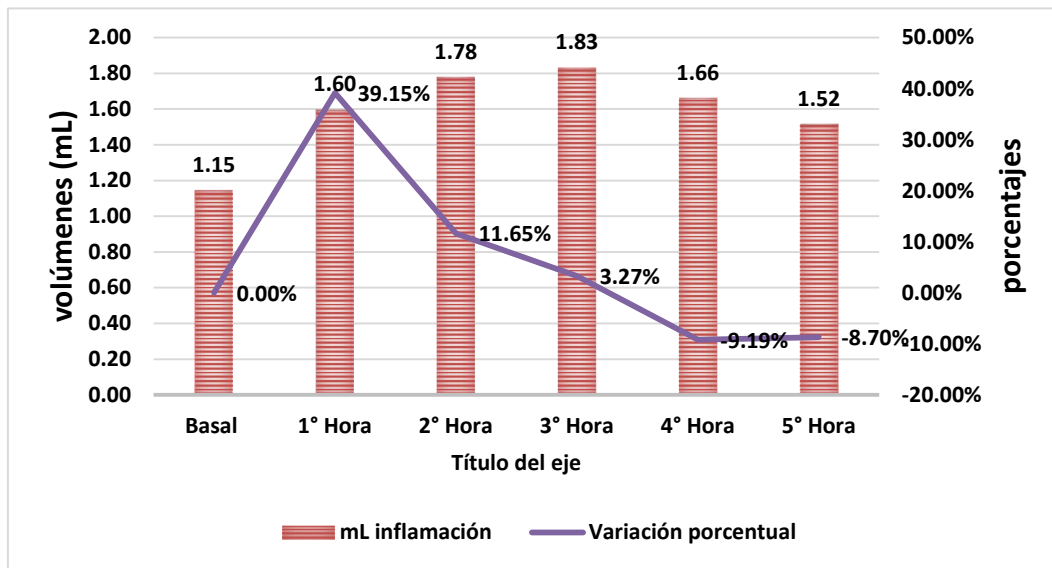
H Robinson “marmakilla” (Tabla 14), también se encuentra en forma de gráfica (Gráfico 6), se aprecia un variación del 28.95% desde la medición basal a la primera hora de administrar la carragenina, luego se incrementa en 13.48% desde la primera hora hasta la segunda, de la segunda a tercera hora hay un incremento del 5.94%, para la cuarta hora existe una diferencia negativa, de -3.32%, esto debido a que entre la tercera y cuarta hora hubo una disminución del volumen de la inflamación, que continua a la quinta hora donde hay una disminución promedio de -1.95%. En cuanto a la tasa media de variación porcentual que es la variación entre la medición inicial o basal y la final o quinta hora fue de 6.57%.

**TABLA 15: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO GEL CONCENTRACIÓN MAYOR**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.11 mL	1.54 mL	1.66 mL	1.75 mL	1.61 mL	1.5 mL	5.15
2	1.21 mL	1.68 mL	1.81 mL	1.76 mL	1.56 mL	1.48 mL	3.41
3	1.17 mL	1.77 mL	1.96 mL	1.85 mL	1.71 mL	1.49 mL	4.11
4	1.09 mL	1.44 mL	1.78 mL	1.88 mL	1.7 mL	1.52 mL	5.70
5	1.15 mL	1.55 mL	1.68 mL	1.91 mL	1.73 mL	1.59 mL	5.55
<b>Promedio</b>	1.15 mL	1.60 mL	1.78 mL	1.83 mL	1.66 mL	1.52 mL	4.78
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	39.15%	11.65%	3.27%	-9.19%	-8.70%	

FUENTE: elaboración propia.

**GRÁFICO 7: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO GEL CONCENTRACIÓN MAYOR**



**FUENTE ELABORACIÓN PROPIA**

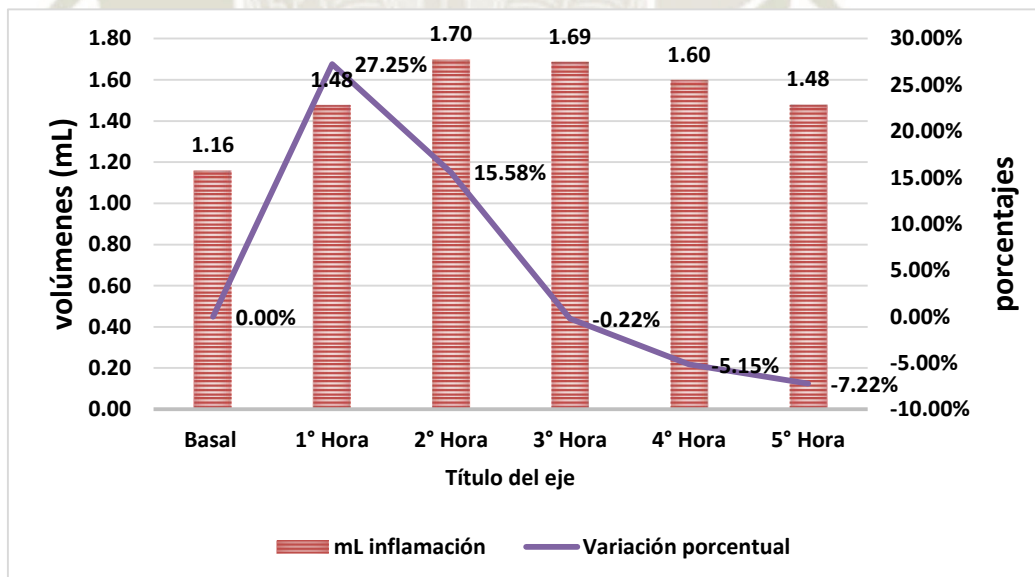
Los resultados de las variaciones porcentuales promedio calculados a partir de los volúmenes de inflamación para el grupo que recibió como tratamiento un gel conteniendo 3% de extracto seco de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K&H Robinson “marmakilla” (Tabla 15), también se encuentra en el gráfico (Gráfico 7) o grupo con gel a concentración mayor, se aprecia un variación inicial o de fase aguda del 39.15% desde la medición basal a la primera hora de administrar la carragenina, luego se incrementa en 11.65% desde la primera hora hasta la segunda, de la segunda a tercera hora hay un incremento del 3.27%, para la cuarta hora existe una diferencia negativa, de -9.19%, esto debido a que entre la tercera y cuarta hora hubo una disminución del volumen de la inflamación, que continua a la quinta hora donde hay una disminución promedio de -8.7%. En cuanto a la tasa media de variación porcentual que es la variación entre la medición inicial o basal y la final o quinta hora fue de 4.78%.

**TABLA 16: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON CLOROFORMO**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.15 mL	1.38 mL	1.82 mL	1.71 mL	1.60 mL	1.44 mL	3.82
2	1.11 mL	1.25 mL	1.46 mL	1.63 mL	1.56 mL	1.48 mL	4.91
3	1.08 mL	1.49 mL	1.68 mL	1.53 mL	1.45 mL	1.41 mL	4.58
4	1.21 mL	1.58 mL	1.80 mL	1.62 mL	1.59 mL	1.51 mL	3.76
5	1.25 mL	1.69 mL	1.73 mL	1.94 mL	1.79 mL	1.55 mL	3.65
<b>Promedio</b>	1.16 mL	1.48 mL	1.70 mL	1.69 mL	1.60 mL	1.48 mL	4.15
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	27.25%	15.58%	-0.22%	-5.15%	-7.22%	

FUENTE: elaboración propia.

**GRÁFICO 8: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO EXTRACTO SOXHLET CON CLOROFORMO**



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

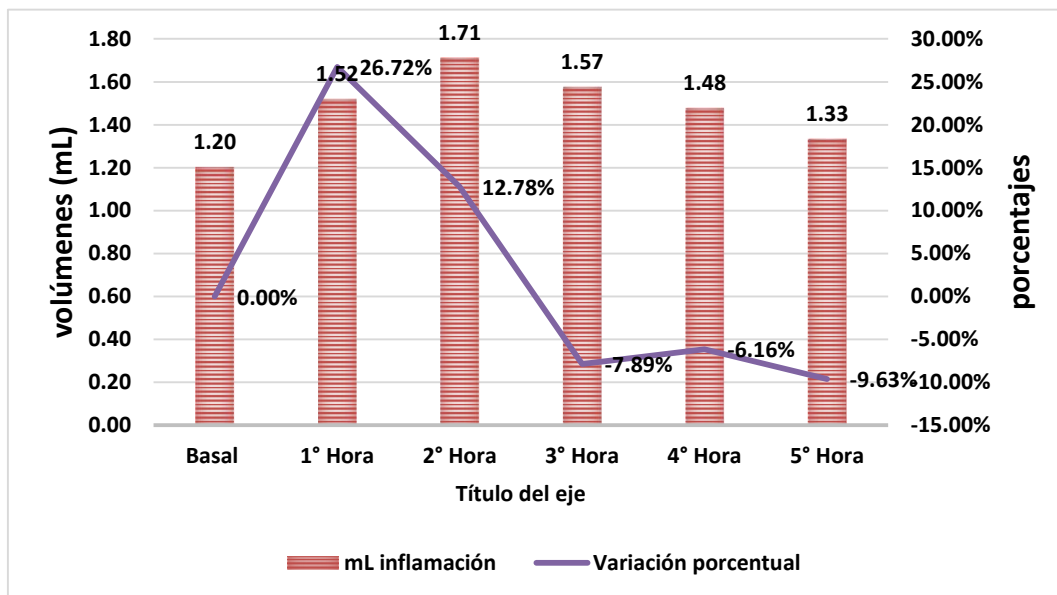
En el caso del grupo que recibió como tratamiento el extracto obtenido por Soxhlet con cloroformo (Tabla 16), también está en forma de gráfico (Gráfico 8) se aprecia un variación inicial del 27.25% desde la medición basal a la primera hora de administrar la carragenina, luego se incrementa en 15.58%, sin embargo, ya para la tercera hora hubo diferencias negativas aunque solo del -0.22% entre la segunda y tercer hora, continuando entre la tercer y cuarta hora una diferencia de -5.15%, entre las dos últimas de -7.22%. En cuanto a la tasa media de variación porcentual para el grupo control fue de 4.15%, es decir, que hubo una variación de 4.15% entre la medición basal y la medición final.

**TABLA 17: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO CONTROL POSITIVO (GEL DICLOFENACO)**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.23 mL	1.52 mL	1.74 mL	1.59 mL	1.42 mL	1.3 mL	0.93
2	1.12 mL	1.6 mL	1.83 mL	1.62 mL	1.49 mL	1.31 mL	2.65
3	1.28 mL	1.56 mL	1.59 mL	1.48 mL	1.44 mL	1.37 mL	1.14
4	1.24 mL	1.41 mL	1.68 mL	1.53 mL	1.47 mL	1.39 mL	1.92
5	1.14 mL	1.5 mL	1.71 mL	1.65 mL	1.56 mL	1.29 mL	2.08
<b>Promedio</b>	1.20 mL	1.52 mL	1.71 mL	1.57 mL	1.48 mL	1.33 mL	1.74
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	26.72%	12.78%	-7.89%	-6.16%	-9.63%	

FUENTE: elaboración propia.

**GRÁFICO 9: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SU VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO CONTROL POSITIVO (GEL DICLOFENACO)**



**FUENTE ELABORACIÓN PROPIA**

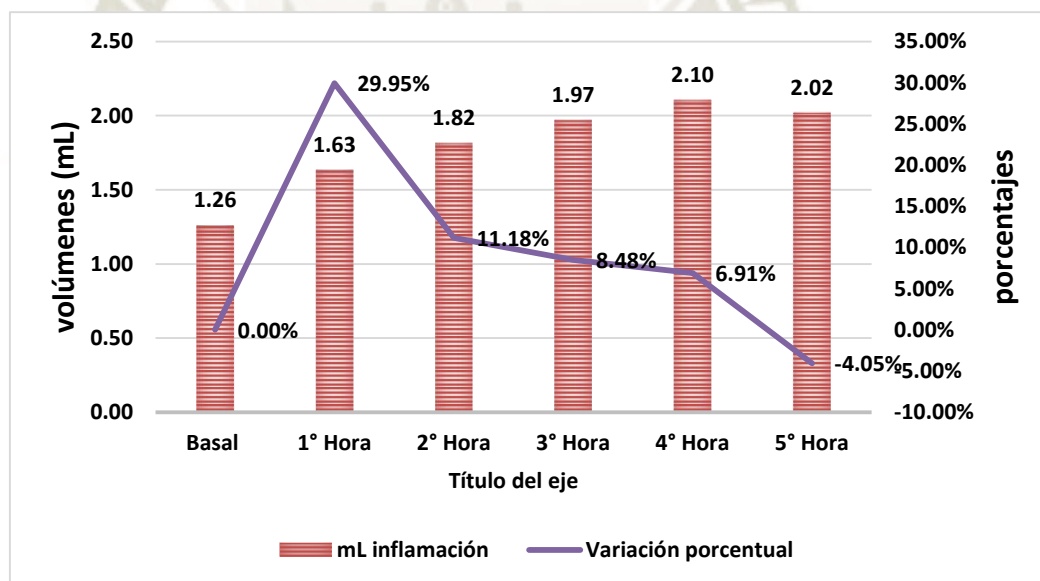
Los resultados de las variaciones porcentuales promedio para el grupo control positivo que recibió como tratamiento un gel de diclofenaco al 1% (Tabla 17), también está en forma de gráfico (Gráfico 9) se aprecia un variación inicial o de fase aguda del 26.72% desde la medición basal a la primera hora de administrar la carragenina, luego se incrementa en 12.78%, posteriormente se presentan diferencias negativas de variación porcentual que significa que hasta la quinta hora hubo disminución de volumen de inflamación entre medida a medida, llegando a un -9.63% en la quinta hora respecto de la cuarta. En cuanto a la tasa media de variación porcentual que es la variación entre la medición inicial o basal y la final o quinta hora fue de 1.74%.

**TABLA 18: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS TASAS DE VARIACIÓN PARA EL GRUPO CONTROL NEGATIVO**

N° Animal	Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora	Tasa media %
1	1.38 mL	1.75 mL	1.91 mL	2.11 mL	2.21 mL	2.07 mL	6.99
2	1.3 mL	1.64 mL	1.73 mL	1.95 mL	1.95 mL	1.82 mL	5.77
3	1.22 mL	1.46 mL	1.63 mL	1.78 mL	1.9 mL	1.9 mL	7.66
4	1.27 mL	1.71 mL	1.93 mL	2.01 mL	2.15 mL	2.05 mL	8.31
5	1.13 mL	1.61 mL	1.88 mL	1.99 mL	2.31 mL	2.25 mL	12.16
<b>Promedio</b>	1.26 mL	1.63 mL	1.82 mL	1.97 mL	2.10 mL	2.02 mL	8.18
<b>Variación porcentual</b>	0.00%	29.95%	11.18%	8.48%	6.91%	-4.05%	

FUENTE: elaboración propia.

**GRÁFICO 10: VOLÚMENES DE INFLAMACIÓN Y SUS VARIACIÓN PORCENTUAL PARA EL GRUPO CONTROL NEGATIVO**



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

Para el control negativo (Tabla 18), también está en forma de gráfico (Gráfico 10) se aprecia una variación inicial ascendente hasta la cuarta hora, con un ascenso final de 6.91%, al igual que en la etapa anterior solo se apreció una disminución entre la cuarta y quinta hora de -4.05%. Observando ambas etapas, se concluye que la máxima inflamación se logra al cabo de la cuarta hora. En cuanto a la

tasa media de variación porcentual para el grupo control fue de 8.18%, es decir, que hubo una variación de 8.18% entre la medición basal y la medición final.

**TABLA 19: ANÁLISIS DE VARIANZA SEGUNDA ETAPA-EVALUACIÓN DE GELES**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	119,611	4	29,903	16,047	,000
<b>Dentro de grupos</b>	37,269	20	1,863		
<b>Total</b>	156,880	24			

FUENTE: elaboración propia mediante SPSS v. 23.

La comparación de los cinco grupos experimentales se realizó mediante un Análisis de Varianza (Tabla 19), hallándose una significancia menor a 0.05 (Sig.=0.000) correspondiente a un nivel de confianza del 95%. Concluyéndose que los grupos experimentales son diferentes entre sí, en cuanto a sus tasas medias de variación porcentual.

**TABLA 20: TEST DE TUKEY SEGUNDA ETAPA-EVALUACIÓN DE GELES**

Grupos Experimentales de la Fase II	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
<b>Control Positivo (Gel Diclofenaco)</b>	5	1.7440		
<b>Extracto Soxhlet con Cloroformo</b>	5	4.1440	4.1440	
<b>Gel Concentración Mayor</b>	5		4.7840	
<b>Gel Concentración Menor</b>	5		6.5740	6.5740
<b>Control Negativo</b>	5			8.1780
<b>Sig.</b>		,077	,072	,370

FUENTE: elaboración propia mediante SPSS v. 23.

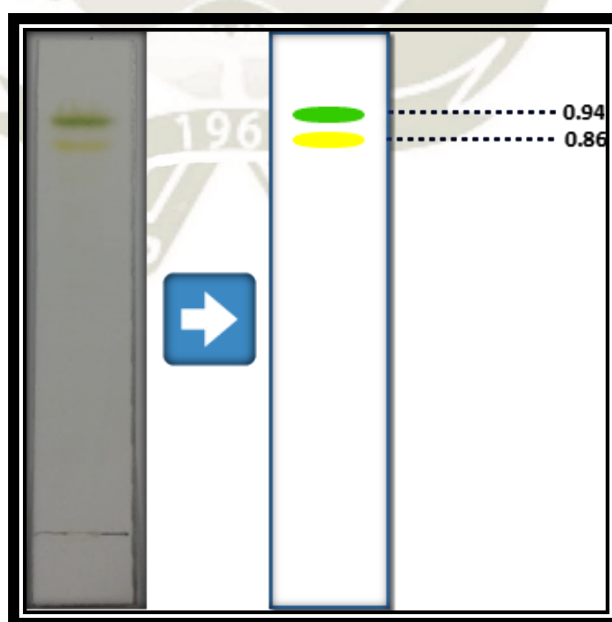
El Test de comparación múltiple o Test de Tukey, comparó los cinco grupos entre ellos, realizando una comparación en pares, como prueba posterior al análisis de varianza. Estos resultados (Tabla 20) permiten concluir que el grupo con menor tasa media de variación porcentual y por lo tanto menor inflamación a la quinta hora fue el grupo tratado con gel de diclofenaco, seguido del grupo tratado con extracto

de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido mediante Soxhlet utilizando como disolvente cloroformo, sin embargo, esta similitud es ambigua ya que también este grupo mantiene similitud con los grupos que recibieron tratamiento consistente en geles con concentración menor (1.5%) y mayor (3%) de dicho extracto, en cuanto a estos últimos su eficacia es intermedia, pero presenta eficacia antiinflamatoria solo el grupo tratado con una concentración mayor de extracto, ya que el de concentración menor presentan similitud estadísticamente significativa con el grupo control.

### 3.4. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

La cromatografía en capa fina se trabajó sobre el extracto de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido con cloroformo en equipo Soxhlet, ya que este extracto fue el que mayor eficacia mostro, incluso en la segunda etapa. Se realizaron reacciones de identificación general, para compuestos terpénicos, flavonoides, taninos y alcaloides, sin embargo, solo se observó manchas en la reacción general y para compuestos terpénicos. A continuación, estos resultados.

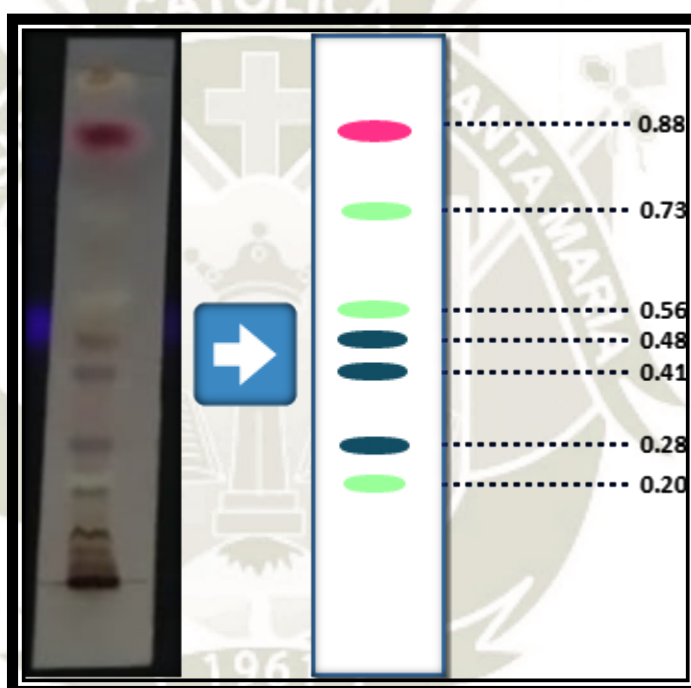
#### ILUSTRACIÓN 6: IDENTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

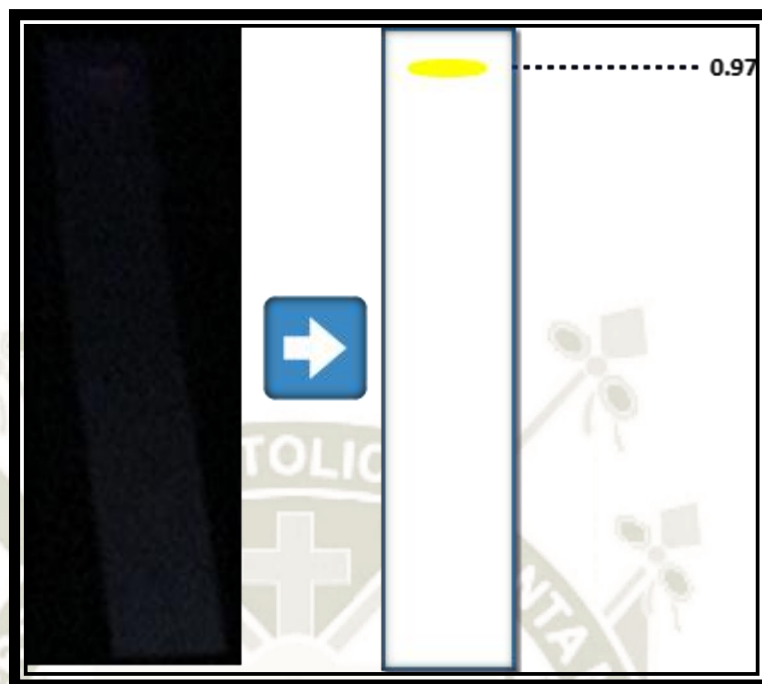
La placa para la reacción general y su esquema representativo, muestra manchas de color verde y amarillo bajo el espectro visible (figura 5), con factores de retraso de 0.94 y 0.86 respectivamente. Estas manchas corresponderían a compuestos terpénicos y flavonoides. El revelador utilizado fue de vainillina-ácido sulfúrico en solución etanólica.

### ILUSTRACIÓN 7: IDENTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA



FUENTE ELABORACIÓN PROPIA

La placa para compuestos terpénicos y su esquema representativo, muestra manchas de color rosas, verdes y azul verdosas bajo el espectro UV a 254 nm, los factores respectivos se observan en la (figura 6). Estas manchas corresponderían a compuestos tipo saponinas para las manchas rosas, esteroides para las azul-verdosas y triterpenos y esteroides para las verdes. El revelador utilizado fue el reactivo Liebermann-Burchard.

**ILUSTRACIÓN 8: IDENTIFICACIÓN POR  
CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA****FUENTE ELABORACIÓN PROPIA**

La placa para compuestos flavonoides (figura 7) y su esquema representativo, muestra manchas de color amarillo fluorescentes bajo el espectro UV a una longitud de onda de 365 nm, el valor del factor de retraso se presenta en el esquema. Esta mancha correspondería a compuestos tipo flavonoides. El revelador utilizado fue el reactivo cloruro de aluminio en solución etanólica.

## DISCUSIÓN

1) En la actualidad existe una base científica que apoya la eficacia de muchos productos fitoterapéuticos para determinadas indicaciones. El lugar que debe ocupar la fitoterapia en terapéutica debe ser aquel para el cual ha demostrado su utilidad. (41) La eficacia se consigue sólo con el uso adecuado de los preparados fitoterápicos, tanto en lo que se refiere a las indicaciones como a la forma de administración. Es necesario disponer de medicamentos de calidad, seguridad y eficacia contrastadas, así como de herramientas de información rigurosas y fiables para los profesionales sanitarios, además de proporcionarles la oportunidad de adquirir una formación sólida en fitoterapia. (41)

Sin embargo, pese al ideal de uso antes mencionado, persisten muchas plantas medicinales que la población utiliza, sin la verificación científica correspondiente, por ello el presente estudio evaluó de manera inicial mediante un estudio preclínico el efecto antiinflamatorio de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”.

2) La evaluación de la droga: hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”, fue a través de sus extractos obteniéndose cuatro tipos de extractos producto de la extracción con dos métodos diferentes utilizando dos disolventes de diferente naturaleza. Debido a la aplicación tópica de estos extractos se concentraron hasta la naturaleza de extractos fluidos, evitando que salgan de su continente proporcionado por el disolvente, debido a que esto requeriría su posterior disolución para ser administrado, situación que dista por ejemplo de experiencias antecedes como la realizada en Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. Endlicher (Mullaca) en animales de experimentación (42), en donde se llevó a sequedad el extracto para ser aplicado posteriormente; la misma experiencia la realizó La Torre Villalba L., en Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Zingiber officinale* roscoe (jengibre) en animales de experimentación (43), aunque al final según los autores los extractos más bien eran blandos. Esta diversidad de extracciones conllevó necesariamente a dividir el estudio en etapas, en la primera evaluación de extractos fue el extracto clorofórmico obtenido mediante extracción con equipo Soxhlet el que presentó mayor eficacia. Este resultado no es tanto sorprendente pese a que existen varios estudios en donde la eficacia está

relacionada con el extracto alcohólico o hidroalcohólico, usualmente de mayor rendimiento tratándose de extractos secos, como el estudio de la mullaca antes comentado, sin embargo, el mismo estudio relacionado al efecto antiinflamatorio del jengibre ha revela como extracto de mayor eficacia al obtenido con éter de petróleo, también mediante extracción con equipo Soxhlet.

3) No parece prudente relacionar por lo tanto el efecto antiinflamatorio con la naturaleza del disolvente, lo que resultaría obvio porque ello depende intrínsecamente de la naturaleza del conjunto activo que puede ser mayormente lipófila – como ocurre con los antiinflamatorios esteroideos – para abundar en razones también en el estudio realizado por Ramírez Roca E. Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* “Huamanpinta” (44), se acusa como potencial antiinflamatorio a un extracto obtenido con cloroformo. Del mismo modo el método de extracción resulta diverso precisamente en este último estudio la obtención del extracto de huamanpinta fue mediante maceración, si bien es cierto, lo más frecuente es la extracción con equipo Soxhlet ya que se trata de un método de extracción que aplica con disolventes orgánicos, volátiles, de bajo punto de ebullición. En esta línea de discusión se ubica el estudio realizado por Álvarez Montesinos V., denominado Evaluación Del Efecto Antiinflamatorio Tópico Del extracto y gel de semillas de *Sesamum indicum* L. (ajonjolí) en edema plantar inducido en animales de experimentación (45) en donde se ensayó un extracto utilizando equipo Soxhlet y como disolvente n-hexano, evidenciándose efecto antiinflamatorio para este extracto.

4) La evaluación final del extracto clorofórmico de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” junto a una forma farmacéutica en gel que lo incluya, y una especialidad farmacéutica con diclofenaco, mostró de los grupos experimentales al extracto con mayor eficacia, sin embargo, los geles presentaban también una eficacia, pero menor al grupo tratado con extracto. Estos resultados distan de otros como el realizado por Álvarez Montesinos V., a propósito del ajonjolí en donde también se prepararon geles con el extracto de dicha droga, y los resultados mostraban al extracto por debajo de los geles, algo similar con experimentaciones que utilizan alcohol etílico como extractante. Es importante mencionar en primer lugar que en las evaluaciones que utilizaron disolventes

orgánicos como el cloroformo o el n-hexano, el extracto fue secado es decir, se eliminó el disolvente a totalidad, quedando como extractos blandos, siendo estos evaluados e incorporados a los geles. Probablemente este proceso de retirar al conjunto activo de la droga de su continente nativo – el disolvente -para ser luego disuelto y poder aplicarlo tópicamente o incorporado en un gel hidrófilo, haya repercutido en contra del extracto razón por la cual, el extracto mostro menor efecto antiinflamatorio que el gel, y esta forma precisamente permitió de algún modo un mayor efecto. En nuestro caso el conjunto activo no fue retirado de su disolvente, fue más bien aplicado junto a este, siendo esa la intencionalidad planteada en esta investigación, ya que los procesos de desecación de extractos y su posterior redisolución pueden perjudicar al mismo. Esta es la misma razón posible razón para explicar la respuesta del gel con el extracto de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”, ya que para evaluarse en forma de gel, el extracto fue concentrado a sequedad y ser incorporado en un gel hidrófilo que dista mucho de la naturaleza hidrófoba del cloroformo, situación que no fue superada a pesar de haber añadido un agente surfactante como el Tween, sin duda el conjunto activo constituyó un IFA(ingrediente farmacéuticamente activo) de naturaleza lipídica.

Es muy probable que la inclusión de algunos extractos de naturaleza lipófila o hidrófoba, como el extracto clorofórmico de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”, sea más conveniente en formas farmacéuticas de la misma naturaleza, que también resultan convenientes para ser aplicadas tópicamente en procesos inflamatorios, como son pomadas o ungüentos, haciendo la comparación con el salicilato de metilo muy utilizado como antiinflamatorio, no encontrándose antecedentes disponibles de inclusión de extractos clorofórmicos o similares en formas farmacéuticas hidrófobas, razón por la cual en la parte de sugerencias del presente estudio se recomienda la evaluación en ese tipo de formas tópicas.

Las sustancias activas presentes en el extracto clorofórmico que justifiquen la actividad antiinflamatoria, del extracto clorofórmico de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”, podrían deberse en primer termino a saponinas, ya que se menciona: la mayoría de las especies que contienen saponinas presentan esta propiedad. El castaño de Indias, el regaliz, la polígala, la

centella, el ginseng, la hiedra, y especies de los géneros *Bupleurum*, *Solidago*, *Camellia* y *Eryngium*, han sido popularmente utilizadas por sus propiedades antiinflamatorias y antiedematosas. Muchas de ellas fueron probadas en modelos de inflamación que justificaron el uso popular. (46) El mecanismo de acción depende del tipo de saponina. Los triterpenos como los ácidos oleanólico y ursólico, presentes por ejemplo en *Calendula officinalis* L., y los ácidos boswélicos de las especies de *Boswellia serrata*, son inhibidores de la 5-lipooxigenasa. Ésta es la enzima iniciadora del proceso inflamatorio a partir del ácido araquidónico, sobre el que actúa para llegar finalmente a la producción de los mediadores lipídicos bioactivos, los leucotrienos. (46)

Se afirma también que las saponinas triterpénicas abundan en dicotiledóneas y son raras en familias de monocotiledóneas. Algunas presentan actividad biológica, cardíaca y hemolítica, se usan como veneno de peces, reducen el colesterol, otras tienen actividades espermaticidas, antiinflamatorias, etc. (47)

Otro tipo de compuestos son los esteroides hallados. La actividad de la uña de gato se encuentra relacionada con su contenido de esteroides como con derivados del ácido quinóico, y con alcaloides oxindólicos; en un primer momento se puso de manifiesto, en ensayos *in vivo* sobre ratones, una actividad antiinflamatoria discreta para un extracto de *U.tomentosa* rica en esteroides, entre los que predominaba el beta sitosterol. (48) Por su parte también contribuirían los flavonoides, su reconocida actividad antioxidante contribuye en la resolución de procesos inflamatorios, en donde se generan especies reactivas de oxígeno.

## CONCLUSIONES

### Primera

Se evaluó y demostró el efecto antiinflamatorio local de los extractos clorofórmico y etanólico obtenidos mediante Soxhlet y percolación a partir de las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” en animales de experimentación.

### Segunda

De las hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” se obtuvo extractos mediante dos métodos, por percolación se logró según el disolvente un extracto fluido etanólico y otro clorofórmico, ambos a una concentración (1:3) y por Soxhlet.

### Tercera

La cromatografía en capa fina fue el método de análisis que permitió la detección de compuestos terpénicos y flavonoides en la reacción general, la identificación de compuestos terpenicos detectó la presencia de saponinas, esteroides, triterpenos y esteroides en el extracto fluido clorofórmico de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”.

### Cuarta

Se elaboraron dos geles con concentraciones del 1.5 y 3% de extracto seco cloroformico de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla”, los que fueron denominados gel a concentración menor y mayor respectivamente.

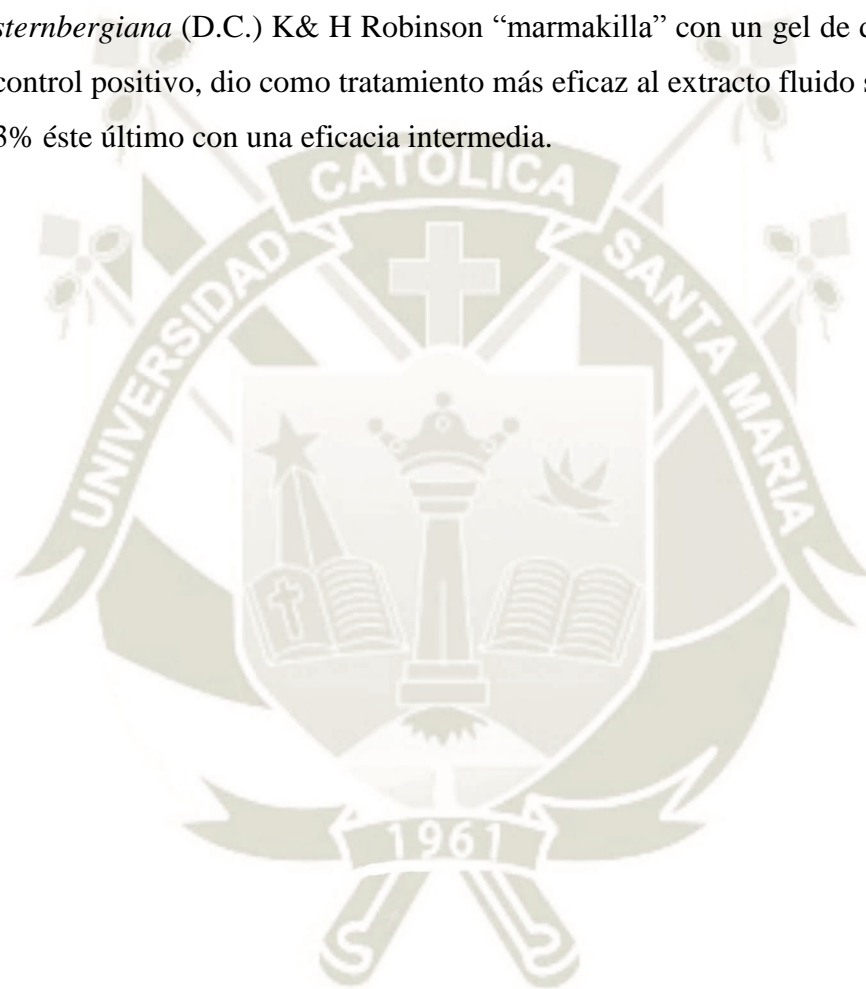
### Quinta

De los cuatro extractos obtenidos según método de extracción y disolvente, el de mayor eficacia fue el extracto fluido clorofórmico de hojas de *Ageratina*

*sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido mediante equipo Soxhlet.

### Sexta

La comparación del efecto antiinflamatorio local del extracto fluido clorofórmico y los geles con 1.5 y 3% de extracto seco de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” con un gel de diclofenaco como control positivo, dio como tratamiento más eficaz al extracto fluido seguido del gel al 3% éste último con una eficacia intermedia.



## SUGERENCIAS

### Primera

Evaluar el extracto seco clorofórmico de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido mediante equipo Soxhlet incorporado en oleogeles, pomadas o emulsiones de fase externa oleosa.

### Segunda

Evaluar la tolerancia cutánea o toxicidad dérmica del extracto clorofórmico de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido mediante equipo Soxhlet, a fin de determinar su seguridad tras la aplicación cutánea del mismo.

### Tercera

Realizar una marcha fitoquímica completa al extracto clorofórmico de hojas de *Ageratina sternbergiana* (D.C.) K& H Robinson “marmakilla” obtenido mediante equipo Soxhlet.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Carrasco Jiménez MS, de Paz Cruz JA. Tratado de Emergencias Médicas. Primera ed. Madrid: Arán Ediciones S.A.; 2000.
2. Brack Egg A. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Primera ed. Cusco: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de Las Casas; 1999.
3. Sotta Apaza N. Plantas Medicinales y Aromáticas de la Región Arequipa. Primera ed. Arequipa: Cordaid; 2000.
4. Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. Primera ed. Lima: Normas Legales SAC; 2002.
5. Saladin KS. Anatomía y Fisiología La unidad entre Forma y Función. Sexta ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2013.
6. Barret K, Barman S, Boitano S, Brooks H. Ganong Fisiología Médica. Veinticuatro ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2013.
7. Baldizón Pichardo Á. Manual Ortopedia y Traumatología. Primera ed. León: Editorial Universitaria UNAN; 2012.
8. Pavón Romero L, Jiménez Martínez M, Garcés Alvarez ME. Inmunología molecular, celular y traslacional. Primera ed. Mendoza C, editor. Barcelona: Editorial Wolters Kluwer; 2016.
9. Levison D, Reid R, Burt A, Harrison D, Fleming S, editors. Patología de Muir. Catorceava ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2008.
10. Kumar V, Abbas A, Aster J. Robbins Patología Humana. Novena ed. Barcelona: Editorial Elsevier España S.L.; 2013.
11. Mitchell R, Kumar V, Abbas A, Aster J. Compendio de Robbins y Cotran Patología estructural y funcional. Novena ed. Barcelona: Editorial Elsevier España S.L.U.; 2017.
12. Pérez Arellano JL. Manual de Patología General. Sétima ed. Barcelona: Editorial Elsevier España S.L.; 2013.

13. Chú Lee ÁJ. Inmunología Básica y Clínica Vol. I. Primera ed. Machala: Universidad Técnica de Machala; 2015.
14. Hilal-Dandan R, Brunton LL. Googman & Gilman Manual de Farmacología y Terapéutica. Segunda ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2015.
15. Flórez J. Farmacología Humana. Sexta ed. Barcelona: Elsevier España S.L.; 2014.
16. Suárez E, Suárez F, Suárez S. Manual de Farmacología Médica. Primera ed. Rosario: Corpus; 2006.
17. Brunton LL. Googman & Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Décimotercera ed. Brunton LL, editor. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2018.
18. Serie Cuadernos Universitarios. Analgésicos, Antipiréticos y Antiinflamatorios. Primera ed. Figueroa D, editor. Lima: Editora Nueva Facultad; 2008.
19. Lorenzo P, Moreno A, Leza J, Moro M. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. Dieciocho ed. México: Médica Panamericana; 2008.
20. Rodríguez Moguel EA. Metodología de la investigación. Quinta ed. México: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; 2005.
21. Gómez MM. Introducción a la metodología de la investigación científica. Primera ed. Córdoba: Editorial Brujas; 2006.
22. Kuklinski C. Farmacognosia Estudio de las drogas y sustancias de origen natural. Primera ed. Barcelona: Omega; 2003.
23. Villar del Fresno Á. Farmacognosia General. Primera ed. Villar del Fresno Á, editor. Madrid: Síntesis; 1999.
24. Ocampo R, Ríos LA, Betancur LA, Ocampo DM. Curso Práctico de Química Orgánica Enfocado a Biología y Alimentos. Primera ed. Caldas: Editorial Universidad de Caldas; 2008.

25. Sharapin N. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Primera ed. Pinzón R, editor. Santafé de Bogotá; 2000.
26. Clavijo Díaz A. Fundamentos de química analítica. Equilibrio iónico y análisis químico. Primera ed. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá; 2002.
27. Wagner H, Bladt S. Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas. 2nd ed. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2001.
28. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio de productos naturales. Segunda ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
29. Vila Jato JLea. Tecnología Farmacéutica Volumen II: Formas Farmacéuticas. Primera ed. Vila Jato JL, editor. Madrid: Editorial Síntesis S.A.; 2001.
30. Ministerio de Sanidad y Consumo. Formulario Nacional. Primera ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo; 2003.
31. 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.[Tesis].[Valdivia]: Universidad Austral de Chile, Instituto de Farmacología y Morfofisiología; 2009.
32. Camacho Silva MG, Honorio Urbina CD. Evaluación del efecto antiinflamatorio en ratas albinas según el modelo edema plantar y efecto analgésico en ratones albinos según el modelo tail flick del extracto etanólico de Dalea isidori Barneby “Yerbechil”. [Tesis]. [Lima]: Universidad Nacional de San Marcos, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017.
33. Barzaga Fernández Pea. Efecto antiinflamatorio del Extracto Acuoso Liofilizado de Ocimum tenuiflorum L. en ratas. Acta Farm. Bonaerense. 2004 Junio; 23(4).
34. Barreiro Magdaleno E. 3(aril)-2-sulfanilpropenoatos de plata y oro con potencial actividad farmacológica. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Química Inorgánica; 2007.

35. Baez Castillo G. Determinación del efecto antiinflamatorio de los extractos hexánicos, etanólicos y clorofórmicos de las plantas medicinales: *Bursera aloexylon*, *Amphypteryngium adstringens*, *Tilia mexicana*, *Verbascum thapsus*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia hispanica*, *Aloe*. [Tesis]. [Puebla]: Universidad de las Américas Puebla, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Escuela de Ingeniería y Ciencias; 2007.
36. Fernández Fernández S, Cordero Sánchez JM, Córdova Largo A. Estadística Descriptiva. Primera ed. Madrid: Editorial ESIC; 2002.
37. Castillo Manrique I, Guijarro Garvi M. Estadística descriptiva y cálculo de probabilidades. Primera ed. Madrid: Editorial Pearson Educación S.A.; 2006.
38. Monroy Saldívar S. Estadística Descriptiva. Primera ed. Zacatenco: Instituto Politécnico Nacional; 2008.
39. de la Puente Viedma C. Estadística descriptiva e inferencial y una introducción al método científico. Primera ed. Madrid: Editorial Complutense S.A.; 2009.
40. Moncada Jiménez J. Estadística para ciencias del movimiento humano. Primera ed. San José de Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica; 2005.
41. Castillo García E, Solís Martínez I. Manual de Fitoterapia. Segunda ed. Barcelona: Editorial Elsevier España S.L.U.; 2016.
42. Ancalla Huanca G, Flores Begazo CE. Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Muehlenbeckia volcánica* Benth. *Endlicher* (Mullaca) en animales de experimentación. [Tesis]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa María, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017.
43. La Torre Villalba LP. Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Zingiber officinale* roscoe (jengibre) en animales de experimentación. [Tesis]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa María, Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2014.
44. Ramírez Roca EG. Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* "Huamanpinta". [Tesis]. [Lima]:

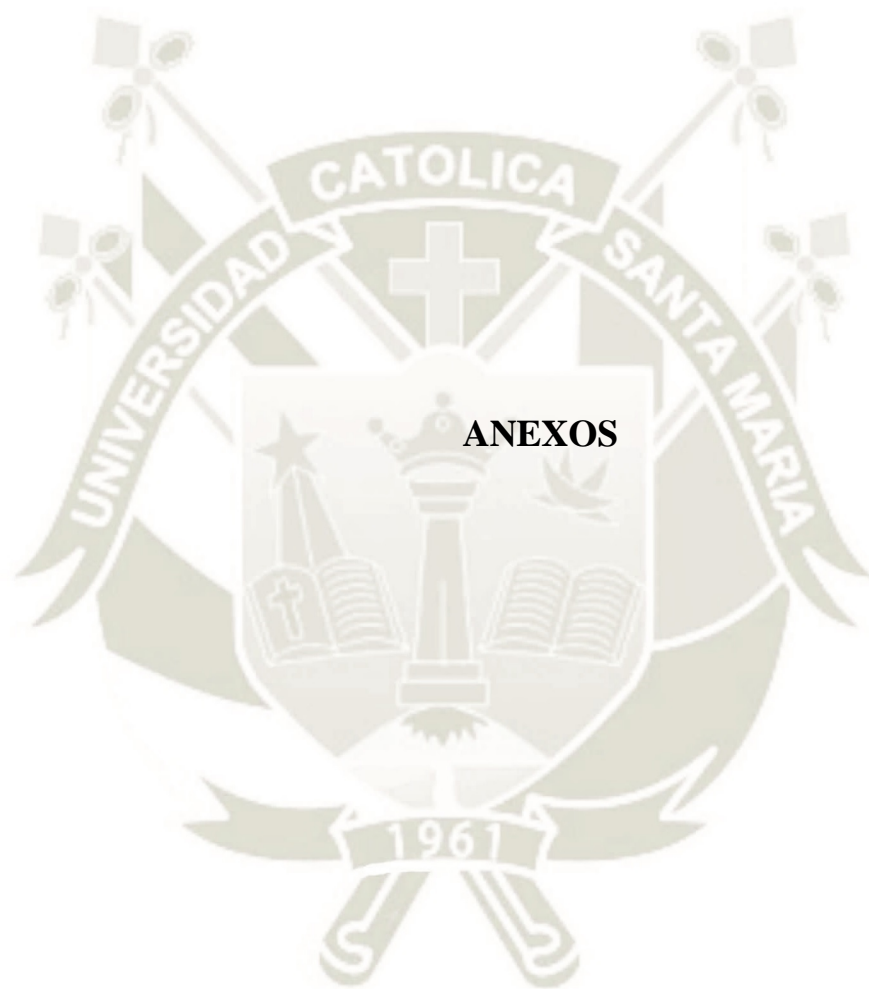
Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Unidad de Posgrado; 2014.

45. Álvarez Montesinos VL. Evaluación Del Efecto Antiinflamatorio Tópico Del extracto y gel de semillas de Sesamum indicum L. (ajonjolí) en edema plantar inducido en animales de experimentación. [Tesis]. [Arequipa]: Universidad Católica de Santa María, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.
46. Ferraro G, Martino V, Bandoni A, Nadinic J. Fitoingredientes y otros productos naturales. Primera ed. Buenos Aires: Editorial Universitaria de Buenos Aires; 2015.
47. Romo de Vivar Romo A, editor. Química de la Flora Mexicana Investigaciones en el Instituto de Química de la UNAM. Primera ed. Benito Juárez: Instituto de Química; 2006.
48. Infito Centro de Investigación sobre Fitoterapia. Plantas medicinales para enfermedades reumáticas. Primera ed. Madrid: Editorial Complutense; 2006.
49. Adolfo Avalos García Metabolismo secundario de las plantas  
[https://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo\\_secundario\\_de\\_plantas.pdf](https://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf)
- 50 Hurtado Huarcaya Jose Conocimiento tradicional de la flora silvestre en las comunidades campesinas del Santuario Histórico de la Pampa de Ayacucho(Quinoa,Ayacucho,Perú).  
<http://www.revistas.usach.cl/ojs/index.php/blacpma/article/view/3500/26002815>
- 51 Sarah-Lan Mathez-Stiefel y Martin Huamán “QORA HAMPIYKU”  
NUESTRAS PLANTAS MEDICINALES en las comunidades de Pitumarca,  
Cusco, Perú [https://boris.unibe.ch/117166/1/Lan-Stiefel%20Librito%20Pitumarca%20A5\\_reduced.pdf](https://boris.unibe.ch/117166/1/Lan-Stiefel%20Librito%20Pitumarca%20A5_reduced.pdf)

52 Condori Melgar WV. Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de polypodium crassifolium L. “Calaguala”. [Tesis]. [Arequipa]:

Universidad Católica Santa María, facultad de Farmacia y Bioquímica; 2013.





## ANEXO 1: VARIACIONES PORCENTUALES

### Primera etapa: Extracto Percolación con Etanol

Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora
0.00%	25.00%	45.93%	-6.60%	-5.43%	-4.02%
0.00%	14.04%	37.69%	-1.68%	-0.57%	-4.00%
0.00%	26.67%	17.29%	3.21%	4.35%	-1.19%
0.00%	27.03%	14.89%	5.56%	-5.85%	-1.86%
0.00%	16.81%	13.67%	0.63%	-2.52%	-3.23%

### Primera etapa: Extracto Soxhlet con Etanol

Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora
0.00%	8.77%	9.68%	8.09%	5.44%	-1.29%
0.00%	22.32%	18.25%	1.23%	6.10%	5.75%
0.00%	16.26%	9.79%	13.38%	-2.81%	-2.89%
0.00%	21.49%	17.01%	5.23%	-3.31%	-5.71%
0.00%	23.21%	13.77%	12.10%	-5.11%	-2.40%

### Primera etapa: Extracto Percolación con cloroformo

Basal	1° Hora	2° Hora	3° Hora	4° Hora	5° Hora
0.00%	26.55%	7.69%	12.34%	1.16%	-2.86%
0.00%	33.91%	3.25%	-6.29%	-4.03%	-2.80%
0.00%	27.27%	3.97%	19.85%	-1.27%	-3.23%
0.00%	16.81%	4.55%	2.17%	-0.71%	-4.29%
0.00%	17.27%	9.30%	7.80%	-6.58%	-6.34%

**Primera etapa: Extracto Soxhlet con cloroformo**

<b>Basal</b>	<b>1° Hora</b>	<b>2° Hora</b>	<b>3° Hora</b>	<b>4° Hora</b>	<b>5° Hora</b>
0.00%	15.04%	36.15%	-7.34%	-5.49%	-12.26%
0.00%	8.70%	4.00%	6.92%	7.91%	-4.67%
0.00%	29.25%	2.92%	-5.67%	-3.76%	-1.56%
0.00%	41.58%	8.39%	-4.52%	-7.43%	-13.87%
0.00%	15.97%	3.62%	2.80%	-8.16%	-4.44%

**Primera etapa: Control Negativo**

<b>Basal</b>	<b>1° Hora</b>	<b>2° Hora</b>	<b>3° Hora</b>	<b>4° Hora</b>	<b>5° Hora</b>
0.00%	35.29%	16.30%	8.88%	0.43%	-2.14%
0.00%	37.39%	22.78%	5.67%	11.22%	-3.07%
0.00%	39.02%	21.64%	3.37%	11.16%	-0.42%
0.00%	24.56%	32.39%	11.70%	10.00%	-6.49%
0.00%	58.56%	8.52%	16.23%	10.36%	-0.82%

**Segunda etapa: Gel concentración menor**

<b>Basal</b>	<b>1° Hora</b>	<b>2° Hora</b>	<b>3° Hora</b>	<b>4° Hora</b>	<b>5° Hora</b>
0.00%	30.70%	17.45%	4.57%	-2.19%	-1.12%
0.00%	17.46%	8.78%	11.18%	-4.47%	-0.58%
0.00%	35.16%	12.72%	-1.03%	-4.66%	-4.35%
0.00%	28.69%	7.01%	10.71%	-3.23%	-0.56%
0.00%	32.76%	21.43%	4.28%	-2.05%	-3.14%

**Segunda etapa: Gel concentración mayor**

<b>Basal</b>	<b>1° Hora</b>	<b>2° Hora</b>	<b>3° Hora</b>	<b>4° Hora</b>	<b>5° Hora</b>
0.00%	38.74%	7.79%	5.42%	-8.00%	-6.83%
0.00%	38.84%	7.74%	-2.76%	-11.36%	-5.13%
0.00%	51.28%	10.73%	-5.61%	-7.57%	-12.87%
0.00%	32.11%	23.61%	5.62%	-9.57%	-10.59%
0.00%	34.78%	8.39%	13.69%	-9.42%	-8.09%

**Segunda etapa: Extracto Soxhlet cloroformo**

<b>Basal</b>	<b>1° Hora</b>	<b>2° Hora</b>	<b>3° Hora</b>	<b>4° Hora</b>	<b>5° Hora</b>
0.00%	19.85%	32.22%	-6.34%	-6.27%	-10.00%
0.00%	12.90%	16.43%	11.71%	-4.29%	-5.13%
0.00%	37.96%	12.84%	-8.74%	-5.50%	-2.53%
0.00%	30.58%	13.84%	-9.84%	-1.95%	-5.03%
0.00%	34.94%	2.57%	12.13%	-7.72%	-13.41%

**Segunda etapa: Control positivo (gel de diclofenaco)**

<b>Basal</b>	<b>1° Hora</b>	<b>2° Hora</b>	<b>3° Hora</b>	<b>4° Hora</b>	<b>5° Hora</b>
0.00%	23.58%	14.47%	-8.62%	-10.69%	-8.45%
0.00%	42.86%	14.38%	-11.48%	-8.02%	-12.08%
0.00%	21.88%	1.92%	-6.92%	-2.70%	-4.86%
0.00%	13.71%	19.15%	-8.93%	-3.92%	-5.44%
0.00%	31.58%	14.00%	-3.51%	-5.45%	-17.31%

**Segunda etapa: Control negativo**

<b>Basal</b>	<b>1° Hora</b>	<b>2° Hora</b>	<b>3° Hora</b>	<b>4° Hora</b>	<b>5° Hora</b>
0.00%	26.81%	9.14%	10.47%	4.74%	-6.33%
0.00%	26.15%	5.49%	12.72%	0.00%	-6.67%
0.00%	19.67%	11.64%	9.20%	6.74%	0.00%
0.00%	34.65%	12.87%	4.15%	6.97%	-4.65%
0.00%	42.48%	16.77%	5.85%	16.08%	-2.60%

## ANEXO 2: TAXONOMÍA VEGETAL



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



### CONSTANCIA N° 034-2019-HUSA

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


HACE CONSTAR:

Que la muestra fresca del espécimen presentada por Daniel Tony Machengo Vera 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 "Evaluación del efecto antiinflamatorio local de los extractos y el gel de *Ageratina Sternbergiana* (D.C.) K & H Robinson "marmakilla" en animales de laboratorio. Arequipa 2019". La muestra fue traído al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnolopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Genero	<i>Ageratina</i>
Especie	<i>Ageratina sternbergiana</i> (D.C.) R.M. KING & H Robinson

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

Arequipa 22 de abril del 2019.

  
Dionicio Maniño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)

