

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA



**“EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Cestrum auriculatum*
Heritier “HIERBA SANTA” EN RATAS CON INDUCCIÓN A
INFLAMACIÓN”**

**Tesis Para Optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico**

Fecha de Sustentacion: 19/01/2018

TESISTAS:

**Bach. CURINAMBE TORRES, WALTER LENIN
Bach. ZELADA SANCHEZ, IRMA ODILLA**

ASESORA:

**Dra. MARITZA GALINE RUIZ SANCHEZ
LIMA-PERU**

2018

DEDICATORIA

A Dios por darme la oportunidad de ser parte de este mundo, darme salud y fuerza para enfrentar diversas dificultades y así poder lograr mis objetivos satisfactoriamente.

Con todo mi amor y cariño a mis padres (Rosendo Curinambe Campos y Adonia Torres Ramos), las personas más importantes de mi vida, que me han brindado todo: la confianza, apoyo, paciencia y amor incondicional, pero sobre todo por enseñarme valores únicos y necesarios para desenvolverme en mi vida profesional y personal.

A mis hermanos por estar siempre presente a la expectativa de mis logros profesionales y personales, ya que estos cinco años me dedicaron palabras de motivación e inspiración para poder superar cada día más y así poder culminar mis objetivos.

A mis sobrinos en especial a Henri y Alexito que con sus travesuras y ocurrencias me alegran la vida.

Este trabajo también se lo dedicamos a nosotros mismos LENIN CURINAMBE, IRMA ZELADA por nuestro valor, sacrificio de estos 5 años y al fin podremos decir reto cumplido.

Curinambe Torres, Walter Lenin

DEDICATORIA

A DIOS por haberme dado salud para lograr mis objetivos, y poder concluir mi hermosa carrera

A mi padre Por haberme enseñado a ser una persona de bien, a la vez perseverante, sobre todo humilde, aunque él no estaba Presente sé que desde el cielo me iluminaba y protegía.

Con todo mi corazón a mi madre, por ser una mujer luchadora de no rendirme fácilmente en cada circunstancia difícil, gracias por ser la súper madre.

A mis hijos Hillary y Yared, por ser mi motivo y mi motor para poder lograr cualquier meta que me proponga, ser una Q.F

A mis hermanos gracias por cada momento sea bueno o malo siempre estaremos el uno para el otro, mil gracias DIOMIRA por ser una hermana emprendedora y por apoyarme, FULVIA, MAGDALENA, GENARO, IRMA ELVIRA, SARBIA, NURY, gracias por existir.

Con todo cariño para todos mis sobrinos (a) en especial para Ronaldo, Erick, Leydi.

Zelada Sanchez, Irma Odilla

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por protegerme durante toda mi formación profesional en esta institución educativa, Universidad Inca Garcilaso de la Vega, y por darnos sabiduría y la voluntad para superar obstáculos y dificultades, para lograr este gran logro.

A mis padres y hermanos por todo su apoyo, amor, comprensión y motivación para salir adelante, por ser el pilar más importante en nuestras vidas, sin ellos nada se esto fuera una realidad.

A mi sobrino Henri por su gran apoyo, comprensión y motivación a la cual lo quiero mucho y es la persona en quien más puedo confiar, ya que con el estamos siempre en los momentos más difíciles y también momentos felices.

A nuestra asesora de tesis, Dra. Maritza Ruiz, por su invaluable ayuda, por sus consejos, sugerencias e intervenciones, para realizar nuestra tesis y así cumplir nuestra meta trazada.

De una forma muy especial a mi compañera, amiga, colega Irma Zelada ya que con ella comenzamos esta gran carrera y seguimos para conseguir el objetivo trazado, Dios lo bendiga siempre ya que con ella hemos estado en los momento malos y buenos.

A nuestros profesores, en forma muy especial al Dr: Tasayco Nesquen por apoyarnos en la parte experimental y a todos los demás profesores que con su experiencia y paciencia nos enseñaron durante todo el desarrollo de nuestra carrera.

Curinambe Torres, Walter Lenin

AGRADECIMIENTO

A Dios Por haberme dado la fortaleza día a día y salud para seguir adelante en aquellos momentos tan difíciles en el transcurso de mi carrera.

Nuestra Alma Mater INCA GARCILASO DE LA VEGA por darnos la oportunidad de ser parte de ella.

A nuestros docentes ya que con su paciencia, dedicación y experiencia nos enseñaron durante estos 5 años

A mi familia, por todo su amor, comprensión y motivación para no rendirme y ser el pilar de mi vida.

A mis Hija Hillary por entenderme en aquellas ocasiones no haber podido estar a su lado, gracias por ser mi súper hija ...

A nuestra asesora de tesis, Dra. Maritza Ruiz, por su invaluable ayuda, por sus consejos, sugerencias e intervenciones, para realizar nuestra tesis y así cumplir nuestra meta trazada.

A mis compañeros desde el primer ciclo y todos aquellos que fui conociendo en el transcurso de toda la carrera

A mi amigo Hugo Rodríguez Sigueña, doy gracias a Dios por haberlo conocido.

De igual modo al sr Luis Alberto Acosta Elías por ser mi gran piloto llevándome a la universidad durante mi carrera, gracias por su apoyo incondicional.

Finalmente agradezco a todas aquellas personas, que estuvieron involucrados de una u otra manera durante toda mi formación, mi tesis, mil gracias de corazón.

Zelada Sanchez, Irma Odilla

ÍNDICE GENERAL

	Pág
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice General	
Índice Tablas	
Indice de Figuras	
Resumen	
Abstract	
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Formulación del problema	4
1.3. Problema general	4
1.4. Problemas específicos	4
1.5. Objetivos	5
1.5.1. Objetivo general	5
1.5.2. Objetivos específicos	5
1.6. Justificación e importancia del estudio	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	6
2.1. Antecedentes del estudio	6
2.1.1. Nacionales	6
2.1.2. Extranjeros	9
2.2. Bases teóricas	12
2.2.1. Inflamación	12
2.2.2. Inflamación aguda y crónica	13

2.2.3. Componentes reactivos de la inflamación	13
2.2.4. Antiinflamatorios no esteroideos	14
2.2.5. Reacciones adversas a los AINE	15
2.2.6. La Indometacina	17
2.2.7. Cestrum auriculatum Heritier (Hierba Santa)	18
2.2.8. Estudios experimentales para evaluar la actividad antiinflamatoria	19
2.2.9. Metabolitos secundarios y rutas metabólicas	20
2.2.10. Screening fitoquímico o Tamizaje fitoquímico	23
2.2.11. Aspectos históricos de los principios activos en las plantas	24
2.3. Hipótesis	25
2.3.1. Hipótesis general	25
2.3.2. Hipótesis específicas	25
2.4. Variables	25
2.4.1. Tabla de operacionalización de variables	25
2.5. Marco conceptual	26
CAPÍTULO III: MÉTODO	29
3.1. Tipo de estudio	29
3.2. Diseño del estudio	29
3.3. Población	33
3.4. Muestra	33
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	34
3.6. Procesamiento de datos	35
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	36
4.1. Presentación de resultados	36

4.1.1. Identificación taxonómica de la Hierba Santa	36
4.1.2. Principales grupos de metabolitos secundarios	36
4.1.3. Determinación de la actividad antiinflamatoria	37
4.1.4. Determinación de la dosis letal media	40
4.2. Contrastación de hipótesis	40
4.3. Discusión de resultados	42
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
5.1. Conclusiones	44
5.2. Recomendaciones	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	50
Anexo 1: Matriz de consistencia	50
Anexo 2: Clasificación taxonómica de la Hierba Santa	52
Anexo 3: Análisis descriptivo del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” en ratas con inducción a inflamación	51
Anexo 4: Análisis de comparaciones múltiples del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” en ratas con inducción a inflamación	53
Anexo 5: Testimonios fotográficos	58

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág
Tabla 1.	Determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios	34
Tabla 2.	Determinación de la actividad antiinflamatoria	34
Tabla 3.	Evaluación de la toxicidad aguda oral: Determinación de la DL50	35
Tabla 4.	Determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios	37
Tabla 5.	Valores promedio de inflamación en mL porcentaje de variabilidad y eficacia antiinflamatoria del extractos hidroalcohólicos de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” sobre el edema inducido por carragenina	37
Tabla 6.	Porcentaje de mortalidad obtenido con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa”	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Porcentaje de variabilidad del efecto antiinflamatorio durante 7 horas de tratamiento	39
Figura 2. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólicos de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier "Hierba Santa" sobre el edema sub plantar a las 7 horas de tratamiento	39

Resumen

El objetivo fue determinar en la medida que el extracto hidroalcohólico de las hojas *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tiene efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación. Se determinó por el método del edema plantar el efecto antiinflamatorio, se usó la carragenina al 2% en solución fisiológica como agente inductor del proceso inflamatorio en la pata trasera de la rata con peso entre 300 ± 20 g, se realizaron mediciones del volumen de inflamación a las 1, 3, 5, y 7 horas mediante el pletismómetro, así mismo, en ratones con peso entre 20 ± 2 g se determinó la dosis letal media (DL_{50}); se administró dosis única por vía oral diferentes concentraciones del extracto que fueron 1000; 2000; 3000; 4000 y 5000 mg/Kg. Resultados; los metabolitos secundarios hallados en el extracto fueron; saponinas, taninos, esteroides, triterpenoides, alcaloides y los de mayor presencia fueron flavonoides y compuestos fenólicos; la dosis letal media fue de 5000 mg/Kg. Al grupo que se administró dosis de 500 mg/Kg del extracto en estudio obtuvo mejor efecto antiinflamatorio (7 % de eficacia) muy similar al grupo de la dexametasona (8 % de eficacia) y la indometacina (10 % de eficacia) ($p>0,05$), es muy probable que la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides sean responsables del efecto antiinflamatorio. Se concluye que, el extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tiene efecto antiinflamatorio y ha evidenciado ser seguro por tratarse de una sustancia no tóxica según las condiciones experimentales del estudio

Palabras clave: Hierba santa, antiinflamatorio, carragenina, DL_{50} , % eficacia antiinflamatoria

Abstract

The objective was to determine to the extent that the hydroalcoholic extract of *Cestrum auriculatum* Heritier "Holy Grass" has anti-inflammatory effect in rats with induction of inflammation. The anti-inflammatory effect was evaluated by induction of plantar edema, 2% carrageenan was used in physiological solution as an agent inducing inflammation in the hind paw of the rat weighing 300 ± 20 g, measurements of the volume of inflammation were made 1, 3, 5, and 7 hours by means of the plethysmometer, likewise, in mice with a weight between 20 ± 2 g, the mean lethal dose (LD50) was determined; single oral dose was administered different concentrations of the extract that were 1000; 2000; 3000; 4000 and 5000 mg / Kg. Results; The secondary metabolites found in the extract were; saponins, tannins, steroids, triterpenoids, alkaloids and those with greater presence were flavonoids and phenolic compounds; the mean lethal dose was 5000 mg / Kg. The group that received a dose of 500 mg / Kg of the study extract had a better anti-inflammatory effect (7% efficacy) very similar to the group of dexamethasone (8% efficacy) and indomethacin (10% efficacy) ($p > 0.05$), it is likely that the anti-inflammatory effect is due to the presence of phenolic compounds and flavonoids. It is concluded that the hydroalcoholic extract of *Cestrum auriculatum* Heritier "Holy Grass" has an anti-inflammatory effect and has proven to be safe because it is a non-toxic substance according to the experimental conditions of the study

Key words: Holy herb, anti-inflammatory, carrageenan, LD50,% anti-inflammatory efficacy

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales se usan cada vez con mayor frecuencia y ha permitido el empleo de extractos en el tratamiento de diferentes patologías, por el cual resulta de interés incrementar los conocimientos en procesos, conocimientos, técnicas y/o métodos biológicos para el aprovechamiento seguro y efectivo de este material natural. Es importante estudios sobre el aprovechamiento de los compuestos activos presentes en los vegetales, y así darle mejor sustento técnico a la medicina folklórica, en nuestro caso sobre el efecto antiinflamatorio. En el proceso inflamatorio intervienen diversas moléculas como las prostaglandinas, interleucinas, histaminas, tromboxanos, factor de necrosis tumoral alfa entre otras. Estas moléculas denominadas mediadores químicos de la inflamación actúan sobre células específicas, tienen duración variable y suelen ser perjudicial para la salud.¹ Los AINES (antiinflamatorios no esteroideos) son ampliamente usados en procesos inflamatorios en nuestro entorno como en todo el mundo, causan diferentes reacciones adversas como lesiones gastroduodenales, renales, hepáticas, cardiovasculares, hematológicas entre otras,¹ por el cual resulta importante investigar nuevas propuestas de tratamiento en esta patología, en especial los derivados de productos naturales. Para probar el efecto antiinflamatorio se utilizó métodos de estudio pre clínico, validado por estudios previos nacionales e internacionales. El método de estudio fue de tipo experimental, prospectivo, longitudinal, se evaluó la dosis letal media y el promedio de eficacia antiinflamatoria expresado en porcentaje. En la rata, pata trasera, se indujo inflamación mediante el empleo de la carragenina. Posterior a la aplicación del método propuesto, se apreció que el extracto hidroalcohólico tiene efecto antiinflamatorio.

El presente estudio pretende aportar avances de la medicina tradicional, ya que al comprobar el efecto antiinflamatorio del extracto en estudio permitirá a la población de menos acceso económico y sanitario al tratamiento de procesos inflamatorio y además contribuir a orientar su cultivo con fines terapéuticos.

CAPITULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

Burmúdez nos dice que, “la investigación sobre el uso de plantas medicinales forma parte de la etnobotánica, que ha sido definida como el estudio de las interrelaciones entre los grupos humanos y las plantas. Por su naturaleza interdisciplinaria abarca muchas áreas, incluyendo: botánica, química, medicina, farmacología, toxicología, nutrición, entre otras; lo cual permite un amplio rango de enfoques y aplicaciones. No obstante, aunque existen excepciones notables, muchos investigadores incursionan en este campo de estudio desde el ámbito de sus propias disciplinas”² En nuestro país existe diversas variedades de plantas medicinales que pueden ser aprovechadas para la investigación de nuevos componentes activos que pueden ser utilidad para tratar diversas patologías entre ellas las asociadas a procesos inflamatorios. Garcia indica que, “la inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es, normalmente, una respuesta reparadora; un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa como artritis, arteriosclerosis o, incluso, cáncer. Aunque suele acompañarse de una respuesta generalizada caracterizada por un cuadro clínico pasajero de sensación de malestar, fiebre y modificación del perfil de las proteínas y leucocitos circulantes”, en ocasiones, se produce reacción orgánica ocasionada por la inflamación local aguda que, por diferentes mecanismos sin control, conlleva a la disfuncionalidad de los diversos sistemas y órganos y, luego, hasta ocasionar la muerte del paciente.¹ Según Lansky; “son diversos los mecanismos que participan en el desenlace y resolución de procesos inflamatorios, son complejos, varían según el tejido

afectado y de la etiología. Los mecanismos que suelen asociarse son, liberación de moléculas químicas que actúan como mediadores, estimulación quimiotáctica, fagocitosis, secreción de enzimas lisosomales, coagulación, activación de vías fibrinolítica, cininas y complemento. Así mismo, las células endoteliales activadas intervienen en el transporte de células circulantes hacia los lugares inflamatorios, así como en la síntesis de selectinas, integrinas e inmunoglobulinas. La respuesta de las moléculas de adherencia varía según los tipos de células que intervienen en el proceso y/o reacción de la inflamación”.³ Para la inducción experimental de procesos inflamatorios se suelen usar diversas sustancias para producir edema en pata de ratones o ratas. Fernández indica que, “el edema producido por dextrán el mecanismo inflamatorio está relacionada a la liberación de histamina y serotonina, por degranulación de los mastocitos, y el edema producido por carragenina se relaciona con la liberación de estos autacoides en una primera fase del proceso inflamatorio y en la segunda fase están relacionadas con la producción de prostaglandinas; es por ello que la inhibición de síntesis de prostaglandinas resultan eficaces en la disminución del edema. Luego, a partir del porcentaje de inhibición del edema obtenido con la carragenina se puede sugerir el efecto antiinflamatoria de la sustancia en estudio”.⁴ Por otro lado es preciso indicar que para el tratamiento de la inflamación, existen fármacos con reconocidos efectos adversos, por ello se propone investigaciones de extractos obtenidos de material vegetal que ayuden a resolver problemas de salud como son los procesos inflamatorios, a mejor costo, mayor acceso y con reducido efectos adversos. Para dar sustento terapéutico de estos extractos es necesario realizar experimentos biológicos en animales de experimentación y que en el futuro se realicen estudios clínicos para el uso seguro y efectivo en seres humanos.

1.2. Formulación del problema

Existe una gran diversidad de plantas medicinales en nuestro país el cual es importante evaluar los efectos beneficiosos sobre la salud así como sus posibles efectos adversos, existen variedad de plantas medicinales que contienen metabolitos secundarios por analizar y descubrir los efectos biológicos de importancia para nuestra salud. Los constituyentes químicos o metabolitos secundarios presentes en las plantas medicinales poseen estructuras químicas muy variadas y pueden conducir a resultados terapéuticos o tóxicos diferentes. Existen diferentes especies vegetales que aún no han sido abordados, no se conoce su actividad terapéutica y requieren ser estudiadas.⁵

1.3. Problema general

- a. ¿En qué medida el extracto hidroalcohólico de las hojas *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tendrá efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación?

1.4. Problemas específicos

- a. ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” que tendrán efecto antiinflamatorio?
- b. ¿Cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” que tendrá mayor efecto antiinflamatorio en ratas inducidas a inflamación?
- c. ¿Cuál será la dosis letal media del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratones?

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

- a. Determinar en qué medida el extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tendrá efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación

1.5.2. Objetivos específicos

- a. Determinar cuáles serán los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” que tendrán efecto antiinflamatorio
- b. Determinar cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” que tendrá mayor efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación
- c. Determinar cuál será la dosis letal media del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratones

1.6. Justificación e importancia

Se pretende en el presente trabajo de investigación, brindar mayor información con sustento técnico sobre el efecto terapéutico antiinflamatorio del extracto obtenido con alcohol al 70 % de hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”. Así mismo se pretende brindar nueva alternativa con menores reacciones adversas, mejor acceso y menor costo en el tratamiento de procesos inflamatorios. Por tratarse de un estudio experimental, los resultados resultan ser importantes ya que proporcionan evidencias sobre el uso terapéutico de la hierba santa en el tratamiento de procesos inflamatorios e incentivar futuras investigación en nuevas propiedades biológicas, producción de fitofármacos que permitan industrializar y estén disponibles a la sociedad.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Nacionales

Ramírez E, (2014). Realizó el estudio “Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* (Huamanpinta)”, nos dice que, para evaluar la actividad terapéutica antiinflamatoria emplearon la técnica del edema sub plantar y el método de granuloma inducida por carragenina y el método de aclaramiento de la tinta china para evaluar la actividad inmunomoduladora. Como principales componentes del extracto hallaron la presencia de flavonoides, triterpenoides, esteroide, alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, lactonas sesquiterpénicas, y en el estudio biológico hallaron que el extracto en estudio tiene actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora.⁶

Zaa C, et al. 2012. Realizaron el estudio. “Efecto antiinflamatorio y antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Petiveria alliacea*”. Indican que; se evaluó el efecto antioxidante, por obtención de productos reactivos al ácido tiobarbitúrico las cuales indican peroxidación lipídica. Hallaron que la dosis 200 mg/mL de *Petiveria alliacea* inhibió significativamente en 42% los valores de MDA al ser comparado con el grupo control negativo (agua). Para inducir inflamación subplantar en ratones inyectaron carragenina al 1% y, en la “bolsa de aire subcutánea” a ratas para producir inflamación crónica. En el efecto antiinflamatorio hallaron máxima reducción del edema; a las 4 horas del tratamiento 23,26 %. En la evaluación de inflamación crónica encontraron que el 29,9% y 25,9% disminuyó el volumen y el peso del exudado producido, respectivamente, así como una disminución del

peso de tejido fibroso en 24 %. Los resultados muestran evidencias que *Petiveria alliacea* tiene efecto antiinflamatorio y antioxidante.⁷

Arroyo A, Villena N. (2012). Realizaron el estudio “Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica”. Manifiestan que, en el estudio antiinflamatorio agudo usaron carragenina para inducir edema sub plantar a ratas y xilol para inducir edema auricular. Para el estudio antiinflamatorio crónico usaron carragenina para producir granuloma. Distribuyeron las ratas al azar en 8 por cada grupo, como material farmacológico emplearon suero fisiológico de 5 mL/Kg, dexametasona, ibuprofeno, extracto en tres niveles de dosis; como indicadores consideraron la eficacia antiinflamatoria en porcentaje, el volumen de la subplantar y cambios histológicos en el proceso inflamatorio; y en el ensayo con el xilol observaron el peso en miligramos del lóbulo de la oreja derecha. Así mismo, para el estudio de toxicidad aguda usaron 50 ratones, y para la observación del efecto a dosis repetidas por 28 días usaron 20 ratas normales. Hallaron 60% de disminución de la inflamación aguda ($p < 0,01$), 60% de disminución en crónico de inflamación ($p < 0,05$) y en 45% se redujo la PCR ($p < 0,03$); no hallaron evidencias de reacciones adversas, observaron que el efecto en edema auricular crónico y efecto antiinflamatorio en ratas fue de 60 %; encontraron que la dosis efectiva media y sin reacciones adversas fue de 61 mg/Kg. Concluyen que según la técnica experimental empleada, la *Oenothera rosea* posee efecto antiinflamatorio y no presenta cambios histopatológicos y hematológicos en ratas.⁸

Poma E, et al. (2011). Realizaron el estudio, “Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata L.* (guanábana) de Cuzco”. Nos dicen que; usaron la carragenina para inducir edema plantar en ratas machos albinos. Formaron tres grupos de tratamiento: G1: Agar agar; G2: Indometacina en agar agar 5 mg/Kg y G3: *Annona muricata L.* en extracto acuoso. Hallaron que las hojas secas de *Annona muricata L.* en extracto acuoso en dosis de 1,5 mg/Kg de peso resultó tener efecto antiinflamatorio, con 53,18 % de eficacia comparado con el grupo de Indometacina.⁹

Hoyos V, (2011). Realizó el estudio “Diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca), con efecto antiinflamatorio”. Nos dice; que la concentración de 2.5 mg/g mantiene una inhibición de la inflamación mayor al 70% después de la inyección de carragenina. Por tanto, esta concentración fue elegida para desarrollar la forma farmacéutica crema-gel del extracto al 2% respecto al residuo seco, el mismo que fue evaluado por métodos fisicoquímica y por cromatografía. El efecto antiinflamatorio del producto terminado fue evaluado mediante el método del edema plantar inducido por carragenina en ratones, determinándose que el efecto antiinflamatorio es mayor al del extracto, comprobando que el efecto antiinflamatorio del extracto en crema gel se mantiene y es incluso superior.¹⁰

2.1.2. Extranjeros

Zamora Z, et al (2017). Realizaron la investigación “Efecto antiinflamatorio de la terapia combinada del D-002 y Lyprinol en un modelo de inflamación crónica”. Nos dice que, implantaron mota de algodón en ratas para inducir inflamación crónica. Formaron 5 grupos

experimentales de ratas macho de la línea Sprague Dawley: G1: control (vehículo), G2: D-002 25 mg/Kg, G3: Lyprinol 25 mg/Kg, G4: D-002 + Lyprinol y G5: Ácido acetil salicílico 150 mg/Kg. Los tratamientos fueron administrados por vía oral en dosis repetida de 5 mL/Kg, por seis días, iniciando luego de 24 horas de inducida el proceso crónico de inflamación por granuloma de algodón. Hallaron que, el grupo G4 disminuyó significativamente el peso seco (25,68 %) y el peso húmedo (13,2 %) del granuloma en ratas; así mismo, hallaron que el efecto no fue de tipo aditivo ya que no superó a los efectos sumatorios de la monoterapia. Mostraron el efecto antiinflamatorio de la combinación terapéutica de D-002 + Lyprinol frente a la formación del granuloma en ratas inducido por algodón.¹¹

Muñoz A, et al. (2014). Realizaron el estudio “Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de “Santa maría” *Piper peltatum* mediante el test de edema inducido en ratas (*rattus novergicus*)”. Nos dice que, emplearon la carragenina al 0,05 % para producir edema plantar en ratas. Emplearon tres niveles de dosis 1,0 mg/Kg, 2,0 mg/Kg, 3,0 mg/Kg de peso de extracto de “Santa María” *Piper peltatum*. Para analizar los datos emplearon el análisis de varianza, hallaron que existe entre los grupos tratados y control diferencias estadísticamente significativa.¹²

Bouriche H; et al. (2011). Realizaron el estudio “Actividad antiinflamatoria, eliminación de radicales libres y quelantes de metal de *Malva parviflora*”. Nos dicen que, usaron el aceite de Croton para inducir edema de oído como modelo de inflamación agudo, y usaron el ácido acético para producir permeabilidad vascular. La actividad antioxidante fue evaluada mediante la medición de actividad quelante

de metales y la prueba de radicales DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil). Hallaron que la fracción de metanol disminuyó en 57 % el edema de oído, mientras que la fracción acuosa mostró no tener actividad alguna. Por otro lado encontraron que las fracciones metanol y acuoso disminuyeron de manera significativa la permeabilidad vascular en 36 y 40% respectivamente, así mismo quelaron iones ferrosos de forma dependiente de la concentración. Concluyen que las fracciones de metanol y acuoso de las hojas de *Malva parviflora* presentan actividad antiinflamatoria y antioxidante.¹³

Baez C. (2007). Realizaron el estudio “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 hispánica*, *Aloe vera*, *Opuntia ficus-indica* en un modelo animal”. Indican que, inyectaron para producir inflamación, carragenina en la pata derecha trasera de la rata, usaron ratas Wistar con peso entre 150 g a 200 g, la indometacina fue usada como fármaco de referencia. Inyectaron la carragenina una hora luego de haber administrado los extractos por vía oral, usaron el pletismómetro para medir el volumen de la inflamación. Para el análisis estadístico usaron la prueba de Dunnett y Fisher y el análisis de varianza. Fueron considerado estadísticamente significativo para $p < 0.07$.¹⁴

Lagarto A, et al. 2005. Realizaron el estudio “Toxicidad aguda oral y subcrónica en ratas de un extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum L.*”. Nos dicen que evaluaron la toxicidad aguda administrada por vía per oral 2000 mg/kg y su toxicidad sub crónico en ratas wistar ambos sexos a dosis de 250 mg/Kg/día, 500 mg/Kg/día y

1000 mg/Kg/día por 13 semanas. En ambos ensayos se observaron el peso corporal y signos tóxicos, en la toxicidad sub crónico evaluaron el alimento consumido, parámetros sanguíneos (leucocitos, hemoglobina, hematocrito, eritrocitos), bioquímica clínica (transaminasas, glucosa, colesterol, urea, creatinina y bilirrubina), además realizaron necropsia y estudios de órganos histopatológicos de órganos y tejidos (riñón, corazón, bazo, hígado, pulmón, cerebro, glándulas suprarrenales, timo, tiroides, páncreas, paratiroides, glándulas salivales, próstata, testículos y ovarios). Observaron que no hubo signos tóxicos ni mortalidad en los ensayos de toxicidad agudo y sub crónico.¹⁵

Fernández P, et al. 2004. Realizaron el estudio “Efecto antiinflamatorio del Extracto Acuoso Liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. en ratas”. Nos indican que para evaluar el efecto antiinflamatorio usaron dosis de 250 mg/Kg, 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg de liofilizado *Ocimum tenuiflorum* L. Para provocar inflamación aguda usaron carragenina, histamina, dextrán, y serotonina; para inducir granuloma usaron pellets de algodón. Hallaron que liofilizado acuoso presentó inhibición sobre el edema, exceptuando el efecto sobre el inducido producido por la serotonina. Encontraron que el peso del granuloma disminuyó significativamente con la dosis de 150 mg/Kg y 450 mg/Kg del liofilizado acuoso, así mismo hallaron que se inhibieron los edemas excepto los producidos por la serotonina. Concluyen que el extracto posee efecto antiinflamatorio.¹⁶

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Inflamación

La función de la inflamación es contrarrestar agentes externos patógenos y/o reparar tejidos lesionados mediante la secreción de especies químicas implicadas en la inflamación y reclutamiento de células implicadas en la inmunidad. La característica del proceso inflamatorio es la conducción de líquido al lugar donde se encuentra dañado el tejido, produciendo edema (tumor), incremento del volumen sanguíneo (rubor), incremento en la temperatura local (calor) y activación de células aferentes (dolor), así también, en forma ocasional, pérdida de la función local.¹⁷ En la resolución de la inflamación participan varios fenómenos fisiológicos como inhibición de la producción y maduración de células inmunes, inducción de la apoptosis y fagocitosis de leucocitos activos, inhibición de la secreción de mediadores inflamatorios y la depuración de los mismos. Los mecanismos que participan en la resolución de la inflamación implican la resolución de: derivados del ácido araquidónico (AA), descargas del sistema nervioso autónomo (SNA), citocinas antiinflamatorias y activación de receptores con dominios motivo de inhibición del inmunorreceptor basado en tirosina (ITIM).^{18,19}

2.2.2. Inflamación aguda y crónica

La inflamación presenta dos fases: aguda y crónica. La inflamación aguda es de evolución relativamente breve; se caracteriza fundamentalmente por la exudación de líquido y de proteínas plasmáticas (edema), y la migración de leucocitos (principalmente neutrófilos). La inflamación crónica es de mayor duración y se

caracteriza por la proliferación de vasos sanguíneos, fibrosis y necrosis tisular.²⁰

2.2.3. Componentes reactivos de la Inflamación

La lesión tisular desencadena potentes cambios vasculares (vasodilatación, aumento de la permeabilidad), originando aumento del exudado; estos hechos están regulados por mediadores químicos (prostaglandinas, leucotrienos, histamina, interleucinas, factor de necrosis tumoral). Además a los cambios vasculares, existe flujo de leucocitos desde los vasos hasta el lugar del daño tisular. El punto terminal en la fagocitosis de las bacterias es su destrucción y degradación, ocurre principalmente por mecanismos dependientes de oxígeno. La IL-1 y el TNF son de gran relevancia al provocar las reacciones de fase aguda, tienen efectos endoteliales, y efectos sobre los fibroblastos y los leucocitos. Los mediadores son activados por productos bacterianos, inmunocomplejos, toxinas y otras citoquinas. Los signos están determinados por el papel de varios mediadores de la inflamación, así el dolor, es causado principalmente por la actividad de prostaglandinas, bradicinina y sustancia P; el calor, por la hiperemia en el sitio de lesión como consecuencia de vasodilatación; el rubor, por la propia hiperemia; el tumor, por la aparición del edema (condicionado por prostaglandinas, óxido nítrico, aminas vasoactivas, bradicinina, sustancia P y leucotrienos).²¹

2.2.4. Antiinflamatorios No Esteroideos

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), son un grupo de fármacos muy utilizados en el tratamiento del dolor y la inflamación, además útiles como antitérmicos, asimismo ha mostrado tener efecto de prevención

del cáncer de colon. En la población su uso es muy extendido y con frecuencia se consigue sin prescripción médica por el que aumenta el riesgo de aparición de efectos indeseables.²²

El mecanismo de acción es principalmente evitar la producción de prostaglandinas, que actúan como mediadores de la inflamación a nivel periférico y central. Inhiben la prostaglandina-sintetasa, evitando la transformación del ácido araquidónico en prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano. Se conocen 2 formas de la enzima ciclooxigenasa: COX-1 y COX-2: a) COX-1. Es una enzima que se encuentra en la mayoría de los tejidos, regulan procesos como la protección gástrica, agregación plaquetaria, función renal y la homeostasis vascular, su inhibición puede provocar efectos secundarios a estos niveles. b) COX-2. Enzima que habitualmente no es detectado en los tejidos y aparece de forma inducida en estados de inflamación. Es inhibido por los llamados AINE selectivos, al inhibir preferentemente la COX-2, consiguen una acción antiinflamatoria sin los efectos secundarios, especialmente gástricos.²³

Se ha descrito que los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasas 2 (COX-2) causan menor toxicidad para el sistema digestivo. Sin embargo estos fármacos alteran la función renal, así la COX-2 se expresa principalmente en el riñón y al bloquearlo se asocia con hiperpotasemia, edemas, hipertensión arterial e insuficiencia renal.²⁴ La eliminación de sus metabolitos activos es mínima y retarda la cicatrización de las úlceras. No se ha determinado su inocuidad para los niños, pues varios estudios se detuvieron cuando se advirtió efectos cardiovasculares. En los adultos mayores y pacientes de raza negra se recomienda iniciar con dosis menor a la recomendada, por el elevado riesgo de efectos cardiovasculares; en los pacientes jóvenes se prefiere prescribir los AINE clásicos, ya que los COXIBS aumenta el riesgo de manifestar reacciones gastrointestinales graves.²⁴

2.2.5. Reacciones adversas de los AINE

Los AINE suelen ocasionar como efecto adverso fallo renal, hepatitis, anemia, síndrome de Stevens-Johnson, reacciones anafilácticas, y los de mayor frecuencia son los gastrointestinales como las úlceras y erosiones gastroduodenales, hemorragias digestivas y perforación. Estas reacciones también pueden aparecer en tramos distales del tubo digestivo, así como inflamación y cambios en la permeabilidad del mismo (colitis, enfermedad inflamatoria intestinal).

a. Lesiones gastrointestinales

Los AINE bloquean la síntesis de prostaglandinas I₂, disminuyen el flujo de sangre de la mucosa, favorecen el daño y alteran la funcionalidad de los neutrófilos produciendo la liberación de factores tisulares destructores. Los factores predisponentes para estos efectos son: antecedentes de úlceras, administración de corticoides, edad mayor a 60 años, tabaquismo, consumo de alcohol. Suelen causar: esofagitis, úlceras, gastroduodenales, lesiones epiteliales y lesiones entéricas, el tipo de interacción y la incidencia son diversas según el tipo de fármaco empleado.²⁵

b. Alteraciones renales

La inhibición de la ciclooxigenas - 1 produce disminución del flujo de sangre a nivel renal y la filtración glomerular ocasionando retención de agua y sal, así mismo existe disminución de la producción de aldosterona el cual conduce a una disminución de secreción de potasio y, a la vez, disminución de intercambio con el sodio que suele retenerse; de allí se produce también acción hipertensora de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos. La indometacina es un AINE que tiene mayor relación con el efecto del aumento de potasio en sangre. Las lesiones en el riñón suelen aparecer por la inhibición de las prostaglandinas renales, y empeora si se asocia con otras

enfermedades renales, cardiovasculares, ascitis y cirrosis, diabetes mellitus y degeneración renal que suele aparecer en el adulto mayor.²⁵

c. Alteraciones hepáticas

El AINE relacionado con mayor incidencia de hepatotoxicidad es el paracetamol. En Estados Unidos y el Reino Unido, los efectos tóxicos producidos por el paracetamol se estiman 50% del número total de intoxicaciones ocasionados por medicamentos. En el Reino Unido los efectos tóxicos por paracetamol es la causa más frecuente de problemas hepáticos agudos. El ácido acetil salicílico suele causar hepatotoxicidad el cual es dosis-dependiente. Las transaminasas hepáticas suelen aumentar en el 50% de los pacientes que reciben dosis completas de ácido acetil salicílico. Por otro lado se ha determinado que el metamizol no ocasiona hepatotoxicidad.²⁵

d. Alteraciones hematológicas

Los AINE en especial el ácido acetil salicílico origina inhibición de la agregación plaquetaria al inhibir de forma irreversible a la COX-1 (ciclooxigenasa-1), por lo cual aumenta el tiempo de sangría a dosis-dependiente, los otros AINE por lo general tienen efectos reversibles. Este efecto de inhibición de agregación plaquetaria suele ser beneficioso en el postoperatorio, en especial a los que pueden inducir tromboembolismos, e isquemia miocárdica con concentraciones aumentadas de Tromboxanos A₂. Los AINE pueden producir agranulocitosis, neutropenia y anemia siendo mayor su frecuencia con el uso de metamizol.²⁵

e. Alteraciones cardiovasculares

Los AINE presentan como efecto adverso aumento de la presión arterial en sujetos sanos como en hipertensos. Por lo general causan

elevación de 5 mmHg en la presión arterial, por lo que no deben ser administrados en pacientes hipertensos. El uso de AINE no salicilatos aumentan considerablemente el riesgo de infarto de miocardio e insuficiencia cardíaca en pacientes susceptibles, sin que se haya demostrado un efecto sobre la aparición de derrame cerebral.²⁵

2.2.6. La Indometacina

La indometacina es inhibidor no selectivo de la cicloxigenasa-1 (COX-1), derivado del indol, como también puede actuar inhibiendo a la fosfolipasa C y A, disminuir el flujo de los neutrófilos y la producción de células B y T. Se diferencia de otros AINE por su perfil toxicológico e indicaciones. Es usualmente utilizada para el tratamiento de la gota y en enfermedades reumáticas, usado también en el tratamiento del conducto arterioso persistente. En dosis altas, al menos el 33% de los pacientes manifiestan reacciones adversas que requieren supresión del fármaco. Las reacciones gastrointestinales suelen incluir diarrea, dolor abdominal, pancreatitis y sangrado gastroduodenal. Existen evidencias de reacciones graves a nivel hematológico, como trombocitopenia y anemia aplásica, aumento de potasio en sangre, el cual se le atribuye con el mecanismo de inhibición en la síntesis de prostaglandinas renales. Así mismo, existen evidencias de necrosis papilar renal.²³

2.2.7. *Cestrum auriculatum* Heritier (Hierba Santa)

a. Clasificación Taxonómica

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: SOLANALES
FAMILIA	: SOLANACEAE
GENERO	: <i>Cestrum</i>
ESPECIE	: <i>Cestrum auriculatum</i> L Heritier
Nombre vulgar	: Hierba Santa

b. Descripción morfológica

La Hierba Santa es una planta que suele encontrarse en todo el año y en forma silvestre, abunda en épocas de lluvia, arbusto que crece hasta 2,5 m de alto, es muy ramificado, presenta follaje verde ovalado. Presenta ramas terminales de color pardo-cremoso. Sus hojas son alternas, simples, nervaduras pinnadas, enteras, hendida en el haz y prominente en el envés. Presenta inflorescencia axial en pequeño racimo simple. Sus flores son de colores amarillos y tubulares. El fruto es de tipo baya ovoide, violáceo-negrizca, dispuesta en racimos, dispuesta en racimos, que presenta un colorante que es la mezcla de cinco compuestos antociánicos al estado de glicósidos.

c. Composición química

En estudio de tres especies del género *Cestrum* provenientes de los Andes y la Amazonía Peruana se hallaron los siguientes componentes: cestrinos A y B, cestrúsidos A y B, una mezcla de glucósidos de pinosinol, nicotiflorina, rutina, sinapoil glucosa, ácido ursólico, β -sitosteril glucósido y 2 -sec-butil-4,6-dihidroxifenil- β -d-glucopiranosido. Entre ellos, la cestrina A y los cestrusidos A y B son compuestos nuevos.²⁶

d. Ecología y distribución

La Hierba Santa es originaria de América tropical. En nuestro país se encuentra entre 20-2400 msnm. Frecuenta encontrarse en lugares ribereños, mesofíticos, y muy raras veces halofíticos, en bordes de acequias, caminos, y cercos de cultivos.²⁷

e. Aspectos terapéuticos

La Hierba Sante es una especie vegetal muy utilizada en la medicina folklórica, por su olor hediondo se aprovecha para tratar el susto, de sus hojas terminales o tiernas se obtiene el zumo que se emplea para bañar a los pacientes, para aliviar la fiebre. Se ha utilizado para el control de la caspa, lavado de heridas, sarampión, en preparado en forma de cocimiento se emplea como sudorífero en casos de resfriados y en casos de cólicos en forma de enema. Asimismo se ha usado para control del salpullido en los bebés, para lo cual se remojan las hojas tiernas en agua fresca y en presencia del sol, luego que el agua se ha entibiado aproximadamente después de 1 ó 2 horas, se separan las hojas y con el agua se bañan a los niños.²⁸

2.2.8. Estudios experimentales para evaluar la actividad antiinflamatoria

El proceso inflamatorio puede ser provocada por diferentes estímulos (infecciosos, isquemia, lesiones térmicas, interacciones antígeno-anticuerpos). La respuesta suele presentar signos clínicos de eritema, hipersensibilidad y dolor, siendo tres las fases de la respuesta inflamatoria: 1) Fase aguda transitoria caracterizado por vasodilatación local y aumento de la permeabilidad capilar: 2) Fase sub aguda caracterizada por infiltración de leucocitos y fagocitos y 3) Fase crónica se produce degeneración tisular y fibrosis. Existen diversos modelos “in vivo” que son utilizados para evaluar el efecto antiinflamatorio. Los modelos validado tenemos: el modelo de edema plantar, migración leucocitaria, alteraciones de permeabilidad capilar, el modelo crónico de formación de granuloma subcutáneo inducidos con pellets de algodón en la región interescapular. Los modelos experimentales in vivo resultan ser de interés y ayudan para evaluar propiedades biológicas de nuevas sustancias químicas capaces de inhibir el proceso de la inflamación. El efecto antiinflamatorio que probablemente pueda ejercer una sustancia va a depender mucho de la influencia que pueda ejercer sobre los fenómenos desencadenantes del proceso inflamatorio que intervienen en los diferentes modelos de inflamación.^{28,29}

2.2.9. Metabolitos secundarios y rutas metabólicas

a. Flavonoides. Martínez et al, sostiene que los flavonoides son compuestos fenólicos presentes en las plantas y forman parte de la dieta humana y no produce energía. Actualmente se han identificado más de 5,000 diferentes flavonoides, y se estima que 23 mg/día es el promedio medio de ingesta. Sobre la salud de las personas se han reportado múltiples efectos positivos, debido a su actividad antioxidante y eliminación de radicales libre. Variedad de estudios reportan que

algunos flavonoides tienen acciones pro-oxidantes, las cuales suele producir sólo a dosis altas, encontrándose en muchas investigaciones efectos antialérgicos, antiinflamatorios, antivirales, efecto protector sobre problemas cardiovasculares, cáncer y otras patologías.³⁰ En los flavonoides, la ruta de biosíntesis consiste primero en la condensación de una molécula de p-cumaril-CoA con tres moléculas de malonil-CoA, esta reacción es catalizada por la enzima calcona sintasa para producir naringerina calcona, precursor de las antocianinas y flavonoles, por otro lado la condensación catalizada por la estilbeno sintasa conduce a la formación de estilbenos importante para el mecanismo de protección de las plantas frente a patógenos. Los colores de flores y frutos en las plantas son debidos en su mayoría por las antocianinas, el cual depende del número de grupos de metoxilo e hidroxilos en el anillo B y del pH de las vacuolas en donde se encuentran, por ejemplo tenemos a la cianidina (rojo púrpura), pelargonidina (rojo naranja), y delphinidina (azúl púrpura).³¹

b. Alcaloides. Su principal característica es que poseen nitrógeno, son muy heterogéneos, son compuestos fisiológicamente activos, y derivan de los aminoácidos. Se ha descrito que los alcaloides son metabolitos secundarios de plantas muy diversos en estructura como en propiedades, lo podemos encontrar formando glicósidos, libre o en forma de sales con diferentes ácidos orgánicos ³² Los alcaloides normalmente son sintetizados a partir de la tirosina, lisina y triptófano, otros como la nicotina y compuestos derivados de la ornitina. El exudado de la cápsula inmadura de *Papaver somniferon* presenta una mezcla de más de 20 alcaloides diferentes entre los que encontramos a la codeína y la morfina, ambos son de tipo isoquinolínicos que se sintetizan a partir de la reticulina. En la patata encontramos al alcaloide solanina, un inhibidor de la enzima colinesterasa que interfiere en la transmisión nerviosa, los tubérculos que son sometidos a luz de alta intensidad pueden sintetizar niveles tóxicos de solanina.³¹

c. Compuestos fenólicos. Grupo de metabolitos secundarios de las plantas que tienen en común uno o más sustituyentes hidroxilo en un anillo aromático, lo encontramos con frecuencia formando glicósidos. Tienen carácter polar y suelen ser solubles en agua, dan un intenso color verde, púrpura, azul o negro, con solución acuosa o alcohólica al 1 % de cloruro férrico, propiedad que se aprovecha para detectar su presencia. En la región ultravioleta del espectro dan una intensa absorción por su naturaleza aromática. Propiedad que se aprovecha para su identificación.³³ Tenemos dos rutas de biosíntesis de compuestos fenólicos; la ruta del ácido siquímico y la ruta del ácido malónico. La ruta del ácido siquímico es responsable en su gran mayoría de biosíntesis de compuestos fenólicos en las plantas; a partir del ácido fosfoenolpirúvico y eritrosa-4-P se inicia una serie de reacciones para la producción de ácido siquímico y, derivados aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina y triptófano). La fenilalanina da origen en su mayoría a los compuestos fenólicos. La ruta del ácido malónico es una importante fuente de fenoles en bacterias y hongos, en plantas superiores es poco utilizada. La fenilalanina amonio liasa es una enzima que participa en la formación de ácido cinámico por eliminación de amonio de la fenilalanina. Las reacciones siguientes son adiciones de grupos hidroxilo y otros constituyentes. Los ácidos p-cumárico y trans-cinámico se metabolizan para formar ácido caféico y ácido ferúlico cuya función es ser precursor de: cumarinas, ligninas, taninos, isoflavonoides y flavonoides.³¹

d. Saponinas. Las 2 familias de saponinas esteroideas y triterpénicas se pueden identificar mediante: 1) Formación de espuma al ser agitadas sus soluciones acuosas, 2) hemólisis de los eritrocitos, por el cual se cuantifica su potencia; 3) toxicidad en peces (sapotoxinas), a los cuales producen parálisis; 4) en la prueba de Liebermann-Burchard dan reacción positiva. Los que manifiestan colores de azul hasta verde son saponinas esteroidales, y los que resultan de colores rosado, rojo o

violeta son de tipo triterpénicos. Las saponinas por lo general son solubles en diferente grado en soluciones de etanol al 80 %, propiedad que se aprovecha para su purificación y extracción.³³ Las saponinas son esteroides o triterpenoides que tienen uno o más moléculas de azúcar en su composición química, se suelen presentar como aglicona (sin azúcar) por el cual toma el nombre de sapogenina.³¹

e. Esteroides y Triterpenoides. Los esteroides se componen de carbono e hidrógeno, derivan del núcleo del esterano; forman cuatro anillos fusionados, uno pentagonal y tres hexagonales; tienen 17 átomos de carbono. Triterpenos: Se componen de 30 carbonos, formados por dos cadenas de 15 carbonos, cada uno formado por isopreno unidas cabeza cola, en total formado por 6 unidades de isopreno. Son generalmente pentacíclicos y tetracíclicos, las cuales pueden tener grupos cetónicos, ácido carboxílico e hidroxilo.³² Los esteroides y esteroleos son parte de los triterpenos y derivan del escualeno, se denominan esteroleos a los esteroides que contienen un grupo alcohol, los más abundantes en las plantas son el sitosterol y el estigmasterol.³¹

f. Taninos. Los taninos son compuestos polifenólicos, mas o menos complejos, de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, sabor astringente, conocidos y empleados desde hace muchos siglos por su propiedad de ser capaces de convertir la piel en cuero, es decir de curtir las pieles. Esto se debe a su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas. Precipitan con sales de metales pesados, proteínas y alcaloides. Se trata de compuestos hidrosolubles, dando a veces disoluciones coloidales en agua, solubles también en alcohol y en acetona e insolubles en disolventes orgánicos apolares. Dentro de los vegetales los taninos suelen encontrarse en las vacuolas celulares, combinados con alcaloides, proteínas u osas.³¹

2.2.10. Screening fitoquímico o Tamizaje Fitoquímico

El Screening fitoquímico llamado también tamizaje fitoquímico, son técnicas que permiten determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y, a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. Los hallazgos del tamizaje fitoquímico son sólo una orientación y deben complementarse con los resultados del “Screening” farmacológico. Por ejemplo, si un extracto de una planta tiene efecto sobre el sistema nervioso central durante el Screening farmacológico y evidencia tener alcaloides en el tamizaje fitoquímico, es muy probable que la acción farmacológica se deba al alcaloide. Por otro lado, si se evidencia efecto antiinflamatorio es probable que se deba a la presencia de flavonoides. Las fracciones que evidencien tener alguna propiedad farmacológica pueden ser aisladas sometidas a pruebas más específicas. Este método permite hallar la presencia de los principales grupos de metabolitos secundarios, en forma de glicósidos como libres.³⁴

2.2.11. Aspectos históricos de los principios activos en las plantas

Theophrastus von Hohenheim, muy conocido como Paracelso (1493-1541), señaló la presencia de compuestos químicos o principio activo en los medicamentos el cual prescribía con mucho éxito, y por envidia fue acusado de “creador de venenos”; para sustentar esta acusación empleaba una frase: “Si queréis definir correctamente un veneno, ¿qué hay que no sea veneno? Todas las sustancias son venenos y nada está libre de venenos; sólo la dosis diferencia a un veneno de una medicina”. Claudio Galeno (129-200) reflexionó sobre las bases teóricas del tratamiento farmacológico, “los empíricos dicen que todo se encuentra a través de la experiencia, sin embargo, ni la experiencia sola ni la teoría

sola son suficientes para descubrir todo.” Johann Jakob Wepfer (1620-1695) utilizó los experimentos en animales para comprobar los efectos farmacológicos o toxicológicos. Para elegir un producto natural o extracto para el tratamiento de una enfermedad significa establecer la dosis, por lo tanto, la dosificación del producto natural administrado está sometida a grandes variaciones como: lugar de origen de la planta, momento de la cosecha y duración y condiciones de almacenamiento. Por el cual, la relación de cada una de las sustancias entre sí puede variar de forma notable.³⁵

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

- a) El extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum Heritier* “Hierba Santa” tiene efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación

2.3.2. Hipótesis específicas

- a) Los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum Heritier* “Hierba Santa” tienen efecto antiinflamatorio
- b) La dosis del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum Heritier* “Hierba Santa” que tiene mayor efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación es de 500 mg/Kg
- c) La dosis letal media del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum Heritier* “Hierba Santa” en ratones considerado no tóxico

2.4. Variables

2.4.1. Tabla de operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Dimensión o aspecto	Indicadores
Independiente: Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa”	Los metabolitos secundarios de extractos de origen vegetal se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones medicina y entre otros	Metabolitos secundarios	Saponinas, taninos, flavonoides, esteroides y/o triterpenoides, compuestos fenólicos y alcaloides
Dependiente: Efecto antiinflamatorio	Actualmente es necesario rescatar las bondades de los productos naturales en el tratamiento de diversas patologías entre ellas la inflamación, empleando para el estudio métodos objetivos aplicados en animales de experimentación.	Efecto antiinflamatorio en ratas inducidas a inflamación Efecto analgésica en ratas con inducción a dolor	% de eficacia antiinflamación Dosis letal media (DL ₅₀)

Fuente: Elaborado por los investigadores

2.5. Marco conceptual

1. Droga: La OMS define como la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica. La Real Farmacopea Española establece que “se consideran drogas vegetales las plantas, partes de plantas, algas, hongos o líquenes, enteros, fragmentados o cortados, sin procesar, generalmente desecados, aunque también a veces en estado fresco. También se consideran drogas vegetales ciertos exudados que no han sido sometidos a un tratamiento específico”.³⁶

2. Fitoterapia: “Ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar o para curar un estado patológico”.³⁷

3. Antioxidantes: “Conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales u oxidantes como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando sus funciones vitales”.³⁸

4. Flavonoide: “Son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana”.

5. Inmunidad: “Conjunto de mecanismos de defensa que le permiten a un organismo protegerse de los microorganismos que encuentra en su medio ambiente, evitar el desarrollo de células tumorales y eliminar moléculas nocivas originadas en su interior como consecuencia del envejecimiento, infecciones, traumatismo o crecimiento neoplásico”.³⁸

6. Inflamación: “Es la respuesta del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es normalmente una respuesta reparadora; un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa como artritis, arteriosclerosis o, incluso cáncer”.³⁹

7. Metabolitos secundarios: Son compuestos de naturaleza química diversa, se distribuyen diferencialmente en grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones terapéuticas.

8. Reacciones de identificación: “Las reacciones de identificación pueden ser; de coloración, de precipitación, de fluorescencia, microsublimación, cromatografía capa fina, cromatografía de gases, cromatografía líquida que permiten detectar determinados constituyentes o sustancias químicas características de una planta (flavonoides, alcaloides, taninos, triterpenos, lactonas, etc.)”.

9. Plantas medicinales: “Según la OMS, es aquella que en uno o más de sus órganos, contiene sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o preventivos o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica”.

10. Dosis Letal Media (DL₅₀). Dosis de una sustancia que resulta mortal para la mitad de un grupo de animales de experimentación, con frecuencia usado como un indicador general de la toxicidad aguda de una sustancia. Generalmente se expresa en miligramo de sustancia tóxica por kilogramo de masa del animal.

11. Toxicidad. Capacidad de cualquier sustancia química natural o artificial capaz de producir efectos perjudiciales sobre un ser vivo, al entrar en contacto con él.

CAPÍTULO III: MÉTODO

3.1. Tipo de estudio

El presente es un estudio de tipo experimental, prospectivo, longitudinal

- a. Experimental: Porque se trabajó con grupos controles, se manipuló la variable independiente, se muestras obtenidas fueron al azar
- b. Prospectivo: Porque se realizó del presente al futuro
- c. Longitudinal: Porque se realizó varias mediciones

3.2. Diseño del estudio

3.2.1. Recolección y preparación del extracto hidroalcohólico (CYTED 1995).⁴⁰

Se usaron las hojas de la hierba santa provenientes de la provincia de Tarma, departamento de Junín. Las hojas obtenidas (1 Kg) se secaron a estufa a 40 °C, hasta constancia de peso. Seguidamente se trituraron y se obtuvo 104.3 g de los cuales se pesó 100 g para macerarse con alcohol al 70% por 7 días con agitación diaria, finalmente se filtró y se colocó a la estufa a menos de 40 °C hasta obtener un extracto seco (7,2 g), el extracto obtenido se almacenó en frasco color ámbar y se colocó al refrigerador hasta posterior uso.

3.2.2. Determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios (Lock de Ugaz, 1994).⁴¹

Se prepara una solución acuosa de 30 mg/mL y se realiza los siguientes ensayos:

a) Determinación de saponinas

a.1. Prueba de la espuma

A una solución acuosa de la muestra conteniendo 5mg/mL, se somete a una agitación vigorosa durante 30 segundos. La presencia de la

saponina se manifiesta por la formación de una espuma persistente durante 3 min.

a.2. Reactivo de Liebermann – Burchard

Tomar 10 gotas de la muestra se añade 10 gotas de ácido acético más 3mL de anhídrido acético/H₂SO₄ (50:1), con lo cual las saponinas triterpenoidales dan color rosado a púrpura, mientras las esteroidales dan azul – verdoso.

b) Determinación de taninos

b.1. Con gelatina – cloruro de sodio

A 1mL de muestra se agrega 3 gotas de reactivo, en un principio se forma en la solución una sustancia en forma de nube, luego se centrifuga, queda en el fondo un precipitado de color blanco que confirma la presencia de taninos.

b.2. Con Cloruro Férrico o Alumbre férrico

A 0,5 ml de la muestra se agrega 2 gotas de cloruro férrico o alumbre férrico; la coloración negra azulada nos indica que el tanino pertenece a los derivados del ácido pirogálico, mientras que la coloración verde nos indica que deriva de la catequina.

c) Determinación de flavonoides

c.1. Con Reactivo de Shinoda

En un tubo de ensayo se coloca 1mL de muestra con 1 limadura de magnesio pequeña, con un gotero se añade 3 gotas de HCl concentrado. Si observa un intenso burbujeo por la reacción de las limaduras y la solución adquiere una débil coloración naranja al principio; conforme va reaccionando más, la coloración naranja se va intensificando, hasta que después de 10 minutos la solución tiene un color anaranjado intenso, indica un resultado positivo.

d) Determinación de esteroides y triterpenoides

En un tubo de ensayo se coloca 10 gotas de muestra, se lleva a sequedad a baño maría y se adiciona 10 gotas de cloroformo y 3 gotas de anhídrido acético luego se adiciona 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado por las paredes sin agitar, una coloración verde-azul indica positivo la reacción.

e) Determinación de compuestos fenólicos

En un tubo de ensayo se coloca 10 gotas de muestra luego se adiciona 3 gotas de FeCl_3 al 10%, una coloración verde o azul indica positivo la reacción.

f) Determinación de alcaloides

f.1. Reactivo de Dragendorff.

Se disuelve 8 g de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 20 mL de HNO_3 se mezcla con 50 mL de una solución acuosa conteniendo 27,2 g de KI, se deja reposar la solución, se decanta el sobrenadante y se diluye a un volumen de 100 mL. Al agrega unas cuantas gotas de este reactivo a una solución ácida de la muestra, si observa la aparición de un precipitado que va del naranja al rojo la prueba es positiva.

f.2. Reactivo de Mayer.

Se disuelve 1,36 g de HgCl_2 en 60 mL de agua y se adiciona 10 mL de una solución conteniendo 5g de KI y se diluye hasta un volumen de 100 mL. Al agregar un exceso de reactivo a la solución acidulada de la muestra se observa la aparición de un precipitado de blanco a crema la prueba es positivo.

3.2.3. Determinación de la actividad antiinflamatoria (Método Arroyo et al.).⁸

a. Animales de Experimentación

Se usaron 36 ratas cepa Holtzman, machos albinos con peso promedio de 300 ± 20 g adquiridos del Instituto Nacional de Salud mantenidas en ayunas 12 horas en condiciones normales de humedad y temperatura. Se agruparon al azar en 6 grupos (n = 6):

- Grupo 1 : Solución Salina Fisiológica (5 mL/Kg);
- Grupo 2 : Indometacina (10 mg/Kg)
- Grupo 3 : Dexametasona (2 mg/kg)
- Grupo 4 : Extracto seco (250 mg/Kg)
- Grupo 5 : Extracto seco (500 mg/Kg)
- Grupo 6 : Extracto seco 750 mg/Kg)

b. Efecto Antiinflamatorio

Se usó el método del Edema Plantar haciendo uso de un plestismómetro. El edema fue inducido inyectando 0.1 mL de carragenina al 2% en solución salina fisiológica en la aponeurosis plantar de la pata trasera derecha de la rata. El extracto seco en estudio, la droga de referencia Indometacina, Dexametasona y el grupo control solución salina fisiológica se administraron por vía oral haciendo uso de una cánula intra gástrica 30 minutos antes de la inyección de carragenina. La inflamación se cuantificó midiendo los volúmenes normales e inflamados de la pata posterior derecha utilizando un plestismómetro manual a las 1, 3, 5 y 7 horas después de la administración del extracto seco.

3.2.4. Toxicidad Agua, determinación de dosis letal media (Método Silvero 2016).⁴²

Se utilizó 30 ratones albinos de 20 ± 2 g de peso corporal, adquirido del Instituto Nacional de Salud. Se aclimataron 7 días en el lugar de trabajo, luego se distribuyeron aleatoriamente en 5 grupos (n=6), según el siguiente diseño experimental:

Grupo 1 (n=6): 1,000 mg/Kg del extracto seco

Grupo 2 (n=6): 2,000 mg/Kg del extracto seco

Grupo 3 (n=6): 3,000 mg/Kg del extracto seco

Grupo 4 (n=6): 4,000 mg/Kg del extracto seco

Grupo 5 (n=6): 5,000 mg/Kg del extracto seco

Los ratones previo ayuno de 4 horas se administró por vía oral a los 5 grupos los tratamientos descritos, luego fueron observados individualmente al menos una vez durante los primeros 30 minutos, periódicamente durante las primeras 24 horas, con especial atención durante las primeras 4 horas, y diariamente de allí en adelante por un total de 14 días. Las observaciones de signos tóxicos se registraron sistemáticamente e incluye cambios en la piel y pelaje, ojos y membranas mucosas, sistema nervioso autónomo y sistema nervioso central, y patrón de comportamiento. La atención estuvo dirigida a observaciones de temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargia, sueño, coma y muerte. Se registraron el número de animales muertos en cada grupo y se calculó la dosis letal media (DL₅₀).

3.3. Población

La población para el estudio de actividad antiinflamatoria fue conformada por ratas cepa holtzman machos albinos obtenidos del Instituto Nacional de Salud con peso promedio de 300 ± 20 g. Para el estudio de toxicidad aguda la población fue conformada por ratones albinos 20 ± 2 g obtenidos del Instituto Nacional de Salud

3.4. Muestra

La muestra fue de 36 ratas distribuidas al azar en 6 grupos de 6 animales cada uno y para el estudio de toxicidad agudo se empleó 30 ratones, los cuales se distribuyeron al azar en 5 grupos de 6 ratones cada uno, luego de los tratamientos se observaron el número de vivos y muertos en cada grupo

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Los datos fueron recogidos individualmente de cada muestra en estudio y tabulados como se indica a continuación:

Tabla 1. Determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios

Metabolito secundario	Extracto seco Positivo (+); Negativo (-)
Saponinas	
Taninos	
Flavonoides	
Esteroides y/o triterpenoides	
Compuestos fenólicos	
Alcaloides	

Fuente: Elaborado por los investigadores

Tabla 2. Determinación de la actividad antiinflamatoria

Grupos	n	Basal	Valor medio de inflamación (mL) durante siete horas				Valor medio de inflamación (mL)	Eficacia antiinflamatoria (%)	Relación al 100% efecto
			1 h	3 h	5 h	7 h			
Solución Salina Fisiológica (5 mL/Kg)	6								
Indometacina (10 mg/Kg)	6								
Dexametasona (2 mg/Kg)	6								
Extracto seco (250 mg/Kg)	6								
Extracto seco (500 mg/Kg)	6								
Extracto seco (750 mg/Kg)	6								
Total	36								

Fuente: Elaborado por los investigadores

Tabla 3. Evaluación de la toxicidad aguda oral: Determinación de la DL₅₀

Animales	Dosis de Extracto seco en mg/Kg				
	1000	2000	3000	4000	5000
Vivos					
Muertos					

Fuente: Elaborado por los investigadores

3.6. Procesamiento de datos

Los datos se expresan como media aritmética \pm error estándar, porcentajes, figuras. Para el análisis estadístico se empleó el análisis de varianza de una vía (One-way ANOVA) para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa para la variable evaluada intergrupos e intragrupos, luego se realizó un análisis post hoc mediante el test de Scheffé. El nivel de significancia fijado fue para $P < 0.05$. Se usó el software estadístico SPSS for Windows versión 20.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Principales grupos de metabolitos secundarios

En la Tabla 4 se presentan los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”, en ella se puede apreciar la presencia principalmente de Flavonoides, compuestos fenólicos.

Tabla 4. Determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios

Metabolito secundario	Extracto seco Positivo (+); Negativo (-)
Saponinas	+
Taninos	+
Flavonoides	+++
Esteroides y/o triterpenoides	++
Compuestos fenólicos	+++
Alcaloides	+

Fuente: Elaborado por los investigadores

4.1.2. Determinación de la actividad antiinflamatoria

Tabla 5. Valores promedio de inflamación en mL porcentaje de variabilidad y eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólicos de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” sobre el edema inducido por carragenina

Grupos	n	Basal	Valor medio de inflamación (mL) durante siete horas (% Variabilidad)				Eficacia antiinflamatoria (%)	Relación al 100% efecto
			1 h	3 h	5 h	7 h		
Solución Salina Fisiológica (5 mL/Kg)	6	1,71±0,08	2,02±0,03 (+18%)	1,98±0,08 (+16%)	1,96±0,06 (+15%)	1,98±0,07 (+16%)	0	0
Indometacina (10 mg/Kg)	6	1,70±0,07	1,88±0,06 (+11%)	1,85±0,07 (+9%)	1,75±0,07 (+3%)	1,78±0,05 (+5%)	10%	0
Dexametasona (2 mg/Kg)	6	1,65±0,06	2,01±0,07 (+22%)	1,90±0,07 (+15%)	1,73±0,04 (+5%)	1,73±0,04 (+5%)	8%	0
Extracto seco (250 mg/Kg)	6	1,72±0,03	2,07±0,06 (+20%)	1,98±0,04 (+15%)	1,98±0,04 (+15%)	2,02±0,05 (+17%)	0%	0%
Extracto seco (500 mg/Kg)	6	1,75±0,02	2,08±0,07 (+19%)	1,88±0,06 (+7%)	1,80±0,04 (+3%)	1,75±0,02 (0%)	7%	100
Extracto seco (750 mg/Kg)	6	1,72±0,03	2,02±0,07 (+17%)	1,92±0,05 (+12%)	1,83±0,02 (+6%)	1,78±0,03 (+3%)	6%	86%
Total	36							

% Eficacia Antiinflamatoria = $100 - (\text{Tratamiento} * 100 / \text{Solución Salina Fisiológica})$

%Variabilidad = $(100 * \text{Tratamiento por hora} / \text{Basal}) - 100$

Fuente: Elaborado por los investigadores

En la tabla 5 se presenta los valores de efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólicos de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”. El porcentaje de eficacia antiinflamatoria obtenida fue de 7% y 6% para la dosis de extracto de 500 mg/Kg y 750 mg/Kg respectivamente, el cual es significativo ($p < 0,05$) comparado con el grupo control solución salina fisiológica, la dosis de 250 mg/Kg no presenta efecto antiinflamatorio ($p > 0,05$). El efecto antiinflamatorio de la dosis 500 mg/Kg y 750 mg/Kg no es significativo ($p > 0,05$) comparado con los grupos controles de indometacina y dexametasona. En la primera hora de tratamiento se observa que todos los grupos aumentan la inflamación con la carragenina

entre 17 % y 22 % según el porcentaje de variabilidad comparado con los datos del basal. Los valores medios durante las 7 horas de tratamiento disminuyen en todos los grupos ($p < 0.05$) con respecto a la primera hora, excepto el grupo control solución salina fisiológica ($p > 0.05$).

En la figura 1 se observa que la dosis del extracto de 500 mg/Kg tuvo mejor efecto antiinflamatorio similar al efecto de la dexametasona e indometacina ($p < 0,05$), su mayor efecto fue luego de 7 horas de tratamiento, la dosis de 250 mg no presenta efecto antiinflamatorio según las condiciones experimentales.

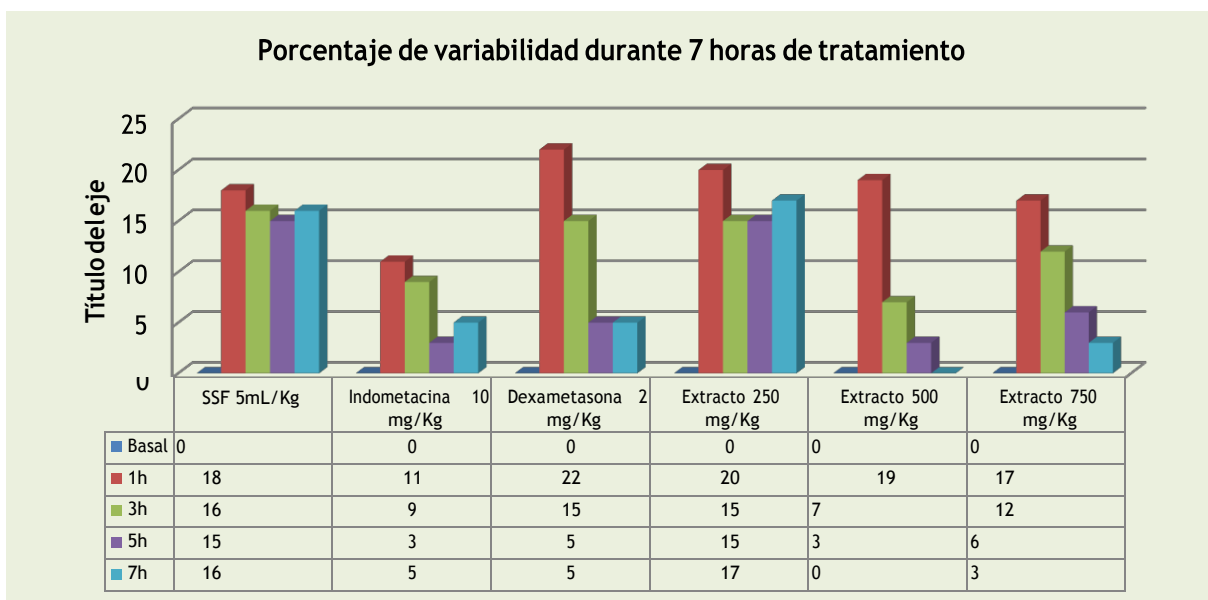
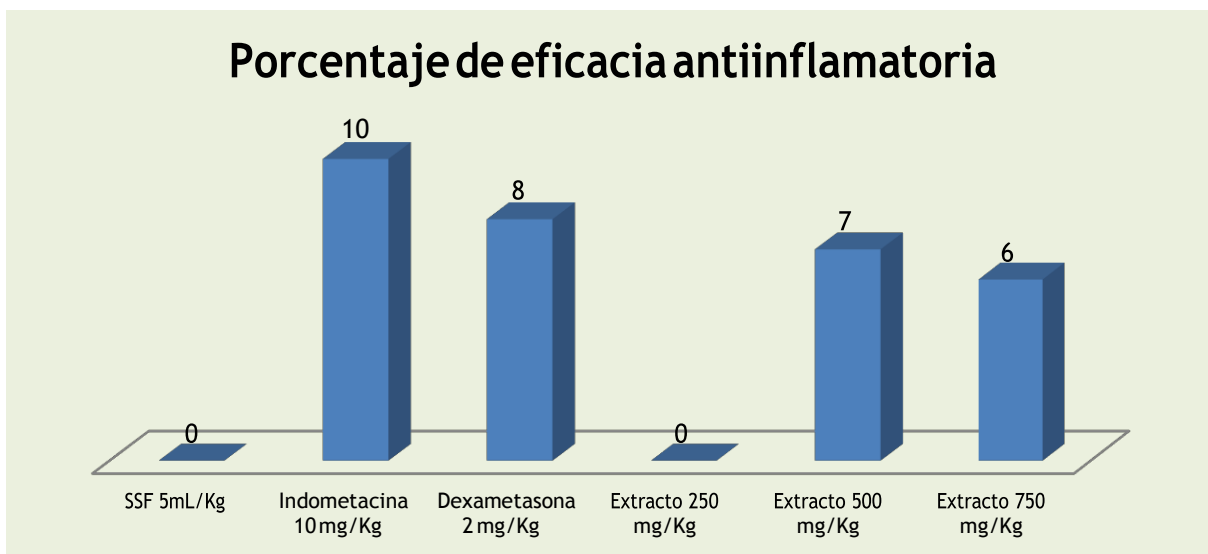


Figura 1. Porcentaje de variabilidad del efecto antiinflamatorio durante 7 horas de tratamiento

Fuente: Elaborado por los investigadores

En la figura 2 se observa que el mayor porcentaje de eficiencia antiinflamatoria fue para la indometacina, sin embargo esta eficiencia no es significativa ($p > 0,05$) al compararse con el efecto antiinflamatorio de la dexametasona y las dosis del extracto de 500 mg/Kg y 750 mg/Kg.



Fuente: Elaborado por los investigadores

Figura 2. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto hidroalcohólicos de las hojas de *Cestrum auriculatum Heritier* “Hierba Santa” sobre el edema sub plantar a las 7 horas de tratamiento

4.1.3. Determinación de la dosis letal media

Tabla 6. Porcentaje de mortalidad obtenido con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum Heritier* “Hierba Santa”

Animales	Dosis de Extracto seco en mg/Kg				
	1000	2000	3000	4000	5000
Vivos	100 %	95 %	75 %	60 %	50 %
Muertos	0 %	5 %	25 %	40 %	50 %

Fuente: Elaborado por los investigadores

La dosis letal 50 (DL50) estimada para extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum Heritier* “Hierba Santa” fue 5000 mg/Kg como se muestra en la tabla 6.

4.2. Contrastación de hipótesis

4.2.1. VARIABLE DEPENDIENTE

Efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación

Tipo de Variable : Cuantitativa

Estadístico : Promedio

Conclusión : Se compararon los promedios o medias

4.2.2. VARIABLE INDEPENDIENTE

Extracto hidroalcoholico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”

Número de grupos : 6

Grupo 1, 2 y 3 : Grupo Control blanco, Control positivo

Grupo 4, 5 y 6 : Grupos experimentales sometidos a tratamientos con dosis distintas del extracto hidroalcohólico de la Hierba Santa

Conclusión : Se compararon los promedios o medias de cada grupo

4.2.3. PRUEBA ESTADÍSTICA

Los datos tienen distribución normal y se trabajó con más de tres grupos, se realizó el análisis ANOVA (Análisis de varianza). Para determinar la significancia estadística para la variable intergrupos e intragrupos se realizó el análisis post hoc mediante el test de Scheffé.

4.2.4. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El análisis se realizó en el paquete estadístico SPSS versión 20, y los resultados se expresaron en promedios y presentados en tablas y gráficos, se trabajó a un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$)

4.3. Discusión de resultados

A los flavonoides se le atribuyen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias el cual estaría relacionado con inhibición de enzimas que participan en el metabolismo del ácido araquidónico, como la lipooxigenasa, ciclooxigenasa y radicales libres, reduciendo el estrés oxidativo.⁴³ Los flavonoides son atribuidas diversas actividades farmacológicas, como unirse a estructuras biológicas; ADN, enzimas, transportadores de hormonas, pueden formar complejos con metales, como hierro, zinc y cobre, además se ha evidenciado catálisis en el transporte de electrones y eliminar radicales libres, por estos mecanismos se han descrito efectos beneficiosos en diversas patologías como; cáncer, diabetes mellitus, infecciones víricas, cardiopatías, úlcera gastroduodenal, e inflamaciones.⁴⁴ así mismo se ha observado que la carragenina en su efecto inductor de inflamación en su fase inicial se le atribuye producción de histamina, leucotrienos, factor activador de plaquetas y posiblemente, ciclooxigenasa, así mismo en la fase tardía se le relaciona con la infiltración y secreción de radicales libres, así como la producción de otros mediadores derivados de neutrófilos.⁴⁵ Los mecanismos implicados en el efecto antiinflamatorio y en los cuales pueden participar los flavonoides son: inhibición de la migración celular de linfocitos al foco inflamatorio, liberación de histamina, acción frente a radicales libres originados en la inflamación, efecto protector vascular.⁷ Se ha reportado que los flavonoides y compuestos fenólicos participan en el efecto antiinflamatorio, este efecto es probable por la inhibición de la enzima prostaglandina sintetasa, inhibiendo de esta forma la síntesis de prostaglandinas, quien cumple papel

importante en la actividad inflamatoria, estos metabolitos secundarios se encuentran presentes en mayor cantidad en el extracto hidroalcohólico de las hojas de Hierba Santa y serían responsables del efecto antiinflamatorio hallados en nuestro estudio, el cual el mejor efecto fue con la dosis de 500 mg/Kg de peso, similar al efecto de la indometacina y dexametasona ($p < 0,05$). En la tabla 5 se presenta los valores de efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólicos de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”. El porcentaje de eficacia antiinflamatoria obtenida fue de 7% y 6% para la dosis de extracto de 500 mg/Kg y 750 mg/Kg respectivamente, el cual es significativo ($p < 0,05$) comparado con el grupo control solución salina fisiológica, la dosis de 250 mg/Kg no presenta efecto antiinflamatorio ($p > 0,05$). En la primera y tercera hora de tratamiento no existe diferencia significativa ($p > 0,05$) de efecto antiinflamatorio entre los grupos de tratamiento, a la quinta hora de tratamiento todos los grupos de tratamiento, excepto la dosis de 250 mg/Kg son estadísticamente significativo ($P < 0,05$) comparado con el grupo control solución salina fisiológica, así mismo el efecto antiinflamatorio de la dosis del extracto 500 mg/Kg no es estadísticamente significativo ($p > 0,05$) al ser comparado con el grupo de indometacina y dexametasona. A la séptima hora se observa que la dosis del extracto de 250 mg/Kg no tiene efecto antiinflamatorio, sin embargo la dosis del extracto de 500 mg/Kg y 700 mg/Kg si evidencia tener efecto antiinflamatorio al comparar su efecto con el grupo de indometacina y dexametasona no es estadísticamente significativo. La dosis letal media hallada fue de 5000 mg/Kg de peso corporal el cual según las normas de la Comunidad Europea se considera como no tóxico ya que supera los 2000 mg/Kg de peso corporal.⁴⁵

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. El extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” tiene efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación similar a la indometacina y desametsona según las condiciones experimentales de nuestro estudio
2. Los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” hallados en nuestro estudio son flavonoides, compuestos fenólicos en mayor cantidad, y en menor porcentaje se encontró saponinas, taninos, alcaloides, esteroides y/o triterpenoides.
3. La dosis del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” que tiene mayor efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación fue de 500 mg/kg de peso corporal.
4. La dosis letal media del extracto hidroalcohólico de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratones es de 5000 mg/kg de peso por el cual se puede considerar como una sustancia no tóxica ya que se encuentra por encima de los 2000 mg/Kg establecido por la comunidad europea.

5.2. Recomendaciones

1. Realizar estudios toxicológicos sub agudo y crónico para determinar posibles efectos adversos a largo plazo.
2. Realizar estudio pre clínico del efecto antiinflamatorio forma crónica empleando diversos métodos experimentales in vivo e in vitro, así estudio para identificar la estructura química de sus componentes activos
3. Realizar estudios para determinar el mecanismo exacto de acción del efecto antiinflamatorio así como evaluar la actividad antioxidante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Garcia P. Inflamación. Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat. (Esp). 2008; 102(1): 91-159
2. Bermúdez A, Oliveira M, Velasquez D. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. INCI. 2005.30 (8)
3. Lansky E, Newman R. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of Ethnopharmacology. 2007; 109: 177-206
4. Fernández P, Domínguez C, Figueredo Y, Sanabria M, Hernández I, González R, Echevarría M. Efecto antiinflamatorio del Extracto Acuoso Liofilizado de *Ocimum tenuiflorum L.* en ratas. Acta Farm. Bonaerense. 2004; 23 (4): 492-7
5. Janssen WJ, Henson PM. Cellular regulation of the inflammatory response. Toxicol Pathol. 2012;40(2):166-73
6. Ramírez E. Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora del extracto clorofórmico de las hojas de Chuquiraga lessing "Huamanpinya". Tesis de Grado de Doctor. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2014
7. Zaa C, Valdivia M, Marcel A. Efecto antiinflamatorio y antioxidante del extracto hidroalcohólico de Peliveria alliacea. Rev. Peru. biol. 2012.: 19(3): 329-334
8. Arroyo J, Villena C. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. Ciencia e Investigación. 2012; 15(1): 15-19
9. Poma E, Requis E, Gordillo G, Fuertes C. Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata L.* (guanábana) de cuzco. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM. 2011. (fecha de acceso 03 de setiembre de 2017). URL disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3168>

10. Hoyos V. Diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca) con efecto antiinflamatorio. Lima: Facultad De Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor De San Marcos; 2008
11. Zamora Z, Molina V, Mena L, Nodal C. Efecto antiinflamatorio de la terapia combinada del D-002 y Lyprinol en un modelo de inflamación crónica. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2017; 48(1): 6-11
12. Muñoz M. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de Santa maría "*Piper peltatum*" mediante el test de edema inducido en ratas (*rattus novergicus*). Ecuador: Facultad de ciencias, Escuela superior Politécnica de Chimborazo; 2014.
13. Bouriche H, Senator A, Meziti H, Arnhold J. Antiinflammatory, free radical-scavenging, and metal-chelating activities of *Malva parviflora*. Pharmaceutical Biology. 2011; 49(9): 942-946.
14. Baez C. 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 hispánica*, *Aloe vera*, *Opuntia ficus-indica* en un modelo animal. México: Registro en la Red Mexicana de Repositorios Institucionales; 2007.
15. Lagarto A, Tillán J, Bueno V, Chávez I, Guerra I, Vega Y, Valdés O, Gabilondo T. Toxicidad aguda oral y subcrónica en ratas de un extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. Revista de toxicología, Pamplona, España. 2005; 22(3): 175-179
16. Hernández I, Figueredo Y, Domínguez C, Hernández I, Sanabria M, González R, Echevarría M. Efecto antiinflamatorio del Extracto Acuoso Liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. en ratas. Acta Farm. Bonaerense. 2004; 23 (4): 492-7
17. Serhan C. Novel lipid mediators and resolution mechanisms in acute inflammation: to resolve or not. Am J. Pathol. 2010; 177(4): 1576-91
18. Nathan C. Points of control in inflammation. Nature. 2002; 420(6917): 846-52.

19. Janssen WJ, Henson PM. Cellular regulation of the inflammatory response. *Toxicol Pathol.* 2012;40(2):166-73
20. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Acute and chronic inflammation. In: Saunders (Elsevier). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease.* 8th. ed. New York: McGraw-Hill Interamericana; 2007; 58-31.
21. León R, Alvarado B, De Armas G, Miranda A, Varens C, Cuesta J. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. *Revista Finlay (revista en Internet).* 2017. URL Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/finlay/fi-2015/fi151f.pdf>. Fecha de acceso 05 noviembre 2017
22. Crofford L, Nonsteroidal anti.inflammatory dugs. Em: Harris E, Budd R, Firestein G, Genovese M, Sergent J, Ruddy S, Sledge C, editors. *Kelley's Textbook of Rheumatology, Seventh edition.* Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005; 839-858
23. Katzung B, Masters S, Trevor A. *Farmacología básica y clínica.* 11ª edición. McGraw-Hill. Interamericana. 2010:439-50
24. Fera M. Fármacos analgésicos, antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos artríticos. En: Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A, editores. *Farmacología humana.* 4º ed. Barcelona. 2003: 375-408.
25. Vane J. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971;231:232-235
26. Kawano M, Otsuka M, Umeyama K, Yamazaki M, Shiota T, Satake M, Okuyam E. Anti-inflammatory and analgesic components from "hierba santa," a traditional medicine in Peru. *The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer.* 2008. URL disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11418-008-0302-8?LI=true>
Fecha de acceso 26 noviembre 2017
27. Saavedra J. *Las plantas medicinales de la sierra central de Piura. Espacio y Desarrollo.* 1995. URL disponible en: <file:///C:/Users/Nesquen/Downloads/Dialnet->

[PlantasMedicinalesDeLaSierraCentralDePiura-5339610.pdf](#) Fecha de acceso 26 de noviembre 2017

28. Cytel - CNPq. Métodos de la evaluación de la actividad farmacológica de plantas medicinales. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 2001; 60 – 71.
29. Sociedad Cubana de Farmacología. Taller nacional sobre inflamación. Escuela Latinoamericana de Medicina 28 al 30 de noviembre. 2001; 16 – 69.
30. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. 2002; 17(6): 271-278
31. Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2009; 2(3): 119-145
32. Kuklinski, C. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, Farmacognosia. Barcelona: Omega; 2003.
33. Foy E, Mac D, Cuyos M, Gueñas R. Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. Biotempo. 2005; 1(5): 31-36
34. Sharapin N., Pinzon N, Rocha L. CYTED Organization, and Convenio Andrés Bello Organization. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo: Subprograma X Química Fina Farmacéutica, 2000.
35. Farmacología General. Editorial Médica Panamericana. 2010. URL disponible en: http://bibliotecas.unr.edu.ar/muestra/medica_panamericana/9788498352177.pdf Fecha de acceso 05 noviembre 2017
36. Cuellar A, Abreu O. Estrategias en la selección de plantas a investigar. Instituto de farmacia y alimentos. Universidad de La Habana. Cuba. 2008
37. Oliveira M, Bermúdez A, Velasquez D. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. INCI. 2005; 30(8).
38. Casale T, Adelman D, Corren J. Alergia e Inmunología. Madrid- España. 2005; 544

39. Crotan R, Kumar V, Robbins S. Patología estructural y funcional. Volumen I. 4ª edición. Editorial McGraw-Hill. Interamericana. Madrid. pp. 39-67. 1990.
40. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 1995. p. 220.
41. Lock de Ugaz, O. Investigación Fitoquímica. Segunda Edición. Lima: Editorial Fondo Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994.
42. Silvero A, Morínigo G, Meza O, Mongelós C, González A, Figueredo T. Toxicidad aguda de las hojas de *Xanthium spinosum* en ratones balb/c. Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Pública. 2016; 33(1): 113 – 119
43. Arroyo A, Enciso E. Antiinflammatory and antioxidant effects of *Jungia rugosa* Less (matico de puna) leaves flavonoids in rats. An Fac med. 2011; 72(4):231-7
44. Pérez J, Pérez G. Métodos para medir el daño oxidativo. Revista cubana Médica Militar. 2000; 29(3): 192 – 198
45. Rojo D, García L, García M, Hernández M. Plantas con propiedades antiinflamatorias. Rev Cubana Invest Biomed. 2002; 21(3):214-6.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratas con inducción a inflamación

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables e indicadores												
<p>Problemas General</p> <p>1. ¿En qué medida el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” tendrá efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>1. ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” que tendrán efecto antiinflamatorio?</p> <p>2. ¿Cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” que tendrá mayor efecto antiinflamatorio en ratas inducidas a inflamación?</p> <p>3. ¿Cuál será la dosis letal media del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i></p>	<p>Objetivo general</p> <p>1. Determinar en qué medida el extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” tendrá efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>1. Determinar cuáles serán los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” que tendrán efecto antiinflamatorio</p> <p>2. Determinar cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” que tendrá mayor efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación</p> <p>3. Determinar cuál será la dosis letal media del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i></p>	<p>Hipótesis general</p> <p>1. El extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” tiene efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación</p> <p>Hipótesis específicas</p> <p>1. Los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” tienen efecto antiinflamatorio</p> <p>2. La dosis del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa” que tiene mayor efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación es de 500 mg/Kg</p> <p>3. La dosis letal media del extracto hidroalcohólico de <i>Cestrum auriculatum</i> Heritier “Hierba Santa”</p>	<p>Variable Dependiente</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th>Dimensiones</th> <th>Indicador</th> <th>Nº ítems</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Componentes activos</td> <td>Metabolito secundario</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>Efecto anti-inflamatorio</td> <td>% eficacia antiinflamatori</td> <td>36</td> </tr> <tr> <td>Toxicidad aguda</td> <td>DL₅₀</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table>	Dimensiones	Indicador	Nº ítems	Componentes activos	Metabolito secundario	6	Efecto anti-inflamatorio	% eficacia antiinflamatori	36	Toxicidad aguda	DL ₅₀	5
Dimensiones	Indicador	Nº ítems													
Componentes activos	Metabolito secundario	6													
Efecto anti-inflamatorio	% eficacia antiinflamatori	36													
Toxicidad aguda	DL ₅₀	5													

Heritier "Hierba Santa" en ratones?	Heritier "Hierba Santa" en ratones	en ratones considerado no tóxico	
-------------------------------------	------------------------------------	----------------------------------	--

Método y Diseño	Población	Técnicas e Instrumentos	Método de Análisis de datos
<p>Enfoque: Cuantitativo</p> <p>Tipo: Experimental</p> <p>Tipo de estudio: Estudio prospectivo, longitudinal, experimental</p> <p>Diseño de Investigación: Diseño para evaluar la actividad antiinflamatoria por el método de edema plantar em ratas</p> <p>Grupo 1 : Solución Salina Fisiológica (5 mL/Kg);</p> <p>Grupo 2 : Indometacina (10 mg/Kg)</p> <p>Grupo 3 : Dexametasona (2 mg/kg)</p> <p>Grupo 4 : Extracto seco (250 mg/Kg)</p> <p>Grupo 5 : Extracto seco (500 mg/Kg)</p> <p>Grupo 6 : Extracto seco 750 mg/Kg)</p>	<p>Población:</p> <p>36 ratas machos y 30 tarones macho cepa holtzman con peso promedio 300 g obtenidos del Instituto Nacional de Salud</p> <p>Muestras:</p> <p>Pata trasera com Edema plantar de rata inducida a inflamación</p>	<p>Técnica:</p> <p>Observación</p> <p>Instrumento:</p> <p>Ficha de observación</p>	<p>Los datos se expresan como media aritmética \pm error estándar, porcentajes, figuras, etc. Para el análisis estadístico de las variables cuantitativas se emplea el análisis de varianza de una vía (One-way ANOVA). El nivel de significancia fijado es $P < 0,05$. Se usa el software estadístico SPSS for Windows versión 20</p>

Anexo 2. Clasificación taxonómica de la Hierba Santa

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL


"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 262-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama con hojas estéril) recibida de **Irma Odilla ZELADA SANCHEZ**; estudiante de la Universidad Inca Garcilaso de Vega, ha sido estudiada y clasificada como: *Cestrum auriculatum* L'Héritier y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: SOLANALES

FAMILIA: SOLANACEAE

GENERO: *Cestrum*

ESPECIE: *Cestrum auriculatum* L'Héritier

Nombre vulgar: "Hierba santa"
Determinado por: Bigo. Mario Benavente Paiaños

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere pertinente.

Lima, 07 de noviembre de 2017


Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddo

Anexo 3. Análisis descriptivo del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratas con inducción a inflamación

Tratamientos		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
basal	ssf	6	1.7167	.19408	.07923	1.5130	1.9203	1.40	1.90
	indometacina	6	1.7000	.16733	.06831	1.5244	1.8756	1.50	1.90
	dexametasona	6	1.6500	.13784	.05627	1.5053	1.7947	1.50	1.90
	Extracto 250 mg	6	1.7167	.07528	.03073	1.6377	1.7957	1.60	1.80
	Extracto 500 mg	6	1.7500	.05477	.02236	1.6925	1.8075	1.70	1.80
	Extracto 750 mg	6	1.7167	.07528	.03073	1.6377	1.7957	1.60	1.80
1 hora	ssf	6	2.0167	.07528	.03073	1.9377	2.0957	1.90	2.10
	indometacina	6	1.8833	.14720	.06009	1.7289	2.0378	1.70	2.10
	dexametasona	6	2.0167	.17224	.07032	1.8359	2.1974	1.80	2.30
	Extracto 250 mg	6	2.0667	.13663	.05578	1.9233	2.2100	1.90	2.30
	Extracto 500 mg	6	2.0833	.16021	.06540	1.9152	2.2515	1.80	2.30
	Extracto 750 mg	6	2.0167	.16021	.06540	1.8485	2.1848	1.90	2.30
3 hora	ssf	6	1.9833	.19408	.07923	1.7797	2.1870	1.80	2.30
	indometacina	6	1.8500	.17607	.07188	1.6652	2.0348	1.70	2.10
	dexametasona	6	1.9000	.17889	.07303	1.7123	2.0877	1.70	2.10
	Extracto 250 mg	6	1.9833	.09832	.04014	1.8802	2.0865	1.90	2.10
	Extracto 500 mg	6	1.8833	.14720	.06009	1.7289	2.0378	1.70	2.10
	Extracto 750 mg	6	1.9167	.11690	.04773	1.7940	2.0394	1.80	2.10
5 hora	ssf	6	1.9667	.15055	.06146	1.8087	2.1247	1.80	2.10
	indometacina	6	1.7500	.16432	.06708	1.5776	1.9224	1.60	2.00
	dexametasona	6	1.7333	.10328	.04216	1.6249	1.8417	1.60	1.90
	Extracto 250 mg	6	1.9833	.09832	.04014	1.8802	2.0865	1.90	2.10
	Extracto 500 mg	6	1.8000	.08944	.03651	1.7061	1.8939	1.70	1.90
	Extracto 750 mg	6	1.8000	.06325	.02582	1.7336	1.8664	1.70	1.90
7 hora	ssf	6	1.9833	.18348	.07491	1.7908	2.1759	1.80	2.30
	indometacina	6	1.7833	.11690	.04773	1.6606	1.9060	1.60	1.90
	dexametasona	6	1.7333	.10328	.04216	1.6249	1.8417	1.60	1.90
	Extracto 250 mg	6	2.0167	.13292	.05426	1.8772	2.1562	1.90	2.20
	Extracto 500 mg	6	1.7500	.05477	.02236	1.6925	1.8075	1.70	1.80
	Extracto 750 mg	6	1.7833	.07528	.03073	1.7043	1.8623	1.70	1.90

Anexo 4. Análisis de comparaciones múltiples del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratas con inducción a inflamación

Comparaciones múltiples								
Variable dependiente		(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
							Límite inferior	Límite superior
1 hora	DMS	Indometacina	Extracto 250 mg	-.18333	.08400	.037	-.3549	-.0118
			Extracto 500 mg	-.20000	.08400	.024	-.3715	-.0285
		Extracto 250 mg	Indometacina	.18333	.08400	.037	.0118	.3549
		Extracto 500 mg	Indometacina	.20000	.08400	.024	.0285	.3715
5 Horas	DMS	SSF	Indometacina	.30000	.06040	.000	.1766	.4234
			Dexametasona	.23333	.06040	.001	.1100	.3567
			Extracto 500 mg	.16667	.06040	.010	.0433	.2900
			Extracto 750 mg	.16667	.06040	.010	.0433	.2900
		Indometacina	SSF	-.30000	.06040	.000	-.4234	-.1766
			Extracto 250 mg	-.31667	.06040	.000	-.4400	-.1933
			Extracto 500 mg	-.13333	.06040	.035	-.2567	-.0100
			Extracto 750 mg	-.13333	.06040	.035	-.2567	-.0100
		Dexametasona	SSF	-.23333	.06040	.001	-.3567	-.1100
			Extracto 250 mg	-.25000	.06040	.000	-.3734	-.1266
		Extracto 250 mg	Indometacina	.31667	.06040	.000	.1933	.4400
			Dexametasona	.25000	.06040	.000	.1266	.3734
			Extracto 500 mg	.18333	.06040	.005	.0600	.3067
			Extracto 750 mg	.18333	.06040	.005	.0600	.3067
		Extracto 500 mg	SSF	-.16667	.06040	.010	-.2900	-.0433
			Indometacina	.13333	.06040	.035	.0100	.2567
			Extracto 250 mg	-.18333	.06040	.005	-.3067	-.0600
		Extracto 750 mg	SSF	-.16667	.06040	.010	-.2900	-.0433
			Indometacina	.13333	.06040	.035	.0100	.2567
			Extracto 250 mg	-.18333	.06040	.005	-.3067	-.0600
7 horas	DMS	SSF	Indometacina	.20000	.06845	.007	.0602	.3398
			Dexametasona	.25000	.06845	.001	.1102	.3898
			Extracto 500 mg	.23333	.06845	.002	.0935	.3731
			Extracto 750 mg	.20000	.06845	.007	.0602	.3398
		Indometacina	SSF	-.20000	.06845	.007	-.3398	-.0602
			Extracto 250 mg	-.23333	.06845	.002	-.3731	-.0935
		Dexametasona	SSF	-.25000	.06845	.001	-.3898	-.1102

		Extracto 250 mg		-.28333	.06845	.000	-.4231	-.1435
	Extracto 250 mg	Indometacina		.23333	.06845	.002	.0935	.3731
		Dexametasona		.28333	.06845	.000	.1435	.4231
		Extracto 500 mg		.26667	.06845	.001	.1269	.4065
		Extracto 750 mg		.23333	.06845	.002	.0935	.3731
	Extracto 500 mg	SSF		-.23333	.06845	.002	-.3731	-.0935
		Extracto 250 mg		-.26667	.06845	.001	-.4065	-.1269
	Extracto 750 mg	SSF		-.20000	.06845	.007	-.3398	-.0602
		Extracto 250 mg		-.23333	.06845	.002	-.3731	-.0935

Anexo 5. Pesos de las ratas en la evaluación de la actividad antiinflamatoria extracto hidroalcoholico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”

PESO DE LAS RATAS

TRATAMIENTOS	Nº RATA	GRUPO	PESO (g)
SSF	1	1	285
	2	1	305
	3	1	290
	4	1	310
	5	1	315
	6	1	280
Indometacina	1	2	320
	2	2	315
	3	2	312
	4	2	301
	5	2	286
	6	2	292
Dexametasona	1	3	311
	2	3	304
	3	3	293
	4	3	284
	5	3	283
	6	3	297
Extracto 250 mg	1	4	309
	2	4	317
	3	4	295
	4	4	301
	5	4	300
	6	4	285
Extracto 500 mg	1	5	294
	2	5	297
	3	5	307
	4	5	317
	5	5	315
	6	5	289
Extracto 750 mg	1	6	295
	2	6	320
	3	6	291
	4	6	317
	5	6	296
	6	6	299

Anexo 6. Pesos de los ratones en la evaluación de la toxicidad aguda oral del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa”

PESO DE LOS RATONES

TRATAMIENTOS	Nº RATONES	GRUPO	PESO (g)
Extracto 1000 mg/Kg	1	1	18
	2	1	29
	3	1	21
	4	1	20
	5	1	20
	6	1	18
Extracto 2000 mg/Kg	1	2	21
	2	2	22
	3	2	20
	4	2	19
	5	2	18
	6	2	18
Extracto 3000 mg/Kg	1	3	18
	2	3	20
	3	3	20
	4	3	21
	5	3	21
	6	3	22
Extracto 4000 mg/Kg	1	4	22
	2	4	21
	3	4	18
	4	4	19
	5	4	19
	6	4	20
Extracto 5000 mg/Kg	1	5	19
	2	5	20
	3	5	20
	4	5	21
	5	5	22
	6	5	21

Anexo 7. Testimonios fotográficos



Foto1. Hojas de Hierba Santa

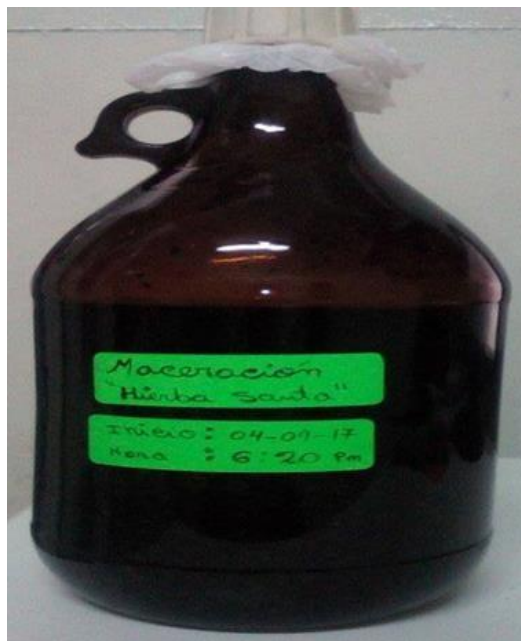


Foto 2. Macerado de las hojas de hierba Santa



Foto 3. Filtrado luego del macerado



Foto 4. Obtención del extracto seco



Foto 5. Administración de tratamientos a ratas



Foto 6. Inducción de inflamación a pata de la rata

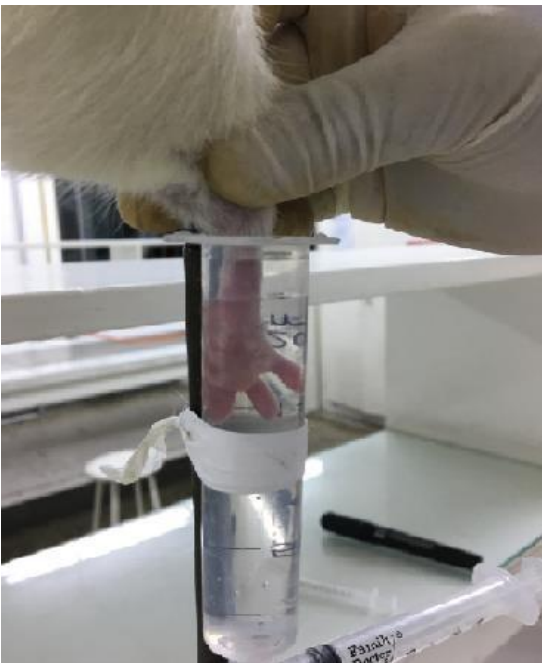


Foto 7. Medición de volumen de pata inflamada de rata



Foto 8. Medida de inflamación en pletismómetro



Foto 9. Ensayo de toxicidad aguda en ratones



Foto 10. Observación individual a ratones en la DL₅₀



Foto 11 Reactivos para marcha fitoquímica



Foto 12. Resultados de marcha fitoquímica

