

**UNIVERSIDAD INCA
GARCILASO DE LA VEGA**



**FACULTAD DE CIENCIAS
FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE
LAS HOJAS DE *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” EN
EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO EN RATAS ALBINAS.**

Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico

TESISTAS:

Bach. Jesus Ivan Solis Cerna.
Bach. Juan Carlos Cañedo Soplin

ASESOR: Mg. Henry Montellanos Cabrera

FECHA DE SUSTENTACION: 30-01-2018

**Lima - Perú
2018**

DEDICATORIA

A Dios, al Señor de los Milagros
por darme las fuerzas en los momentos
adversos para cumplir mis metas.

A mis padres, esposa e hijos
por impulsarme a seguir adelante,
y su comprensión para culminar
mi carrera.

AGRADECIMIENTO

A los docentes del programa profesional de la carrera de Farmacia y Bioquímica, por sus conocimientos y enseñanzas que sirvieron para nuestra formación profesional.

Mg. Henry Montellanos

Mi especial agradecimiento por sus consejos que nos sirvieron para culminar este trabajo de investigación.

RESUMEN

Esta investigación científica tiene como principal objetivo determinar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de la planta de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” en edema subplantar inducido en ratas albinas, a diferentes concentraciones (50,250 y 500mg/Kg) y los metabolitos secundarios (flavonas) que se encontraron en la planta tienen efecto antiinflamatorio. Para este trabajo de investigación se recolectaron hojas de la planta, secadas a una temperatura ambiente, trituradas en un mortero y luego se procedió a la maceración del extracto metanólico por 10 días, se filtró y se llevó la estufa 35 - 40 °C y se obtuvo un extracto seco. Luego se hizo la prueba de solubilidad con diclorometano, butanol, etanol y agua. Se procedió a realizar el screening fitoquímico con Molish, Antrona, Fehling, FeCl₃, Shinoda, Rosenheim, gelatina, Bontrager, Liberman-Burchard, Ninhidrina, Dragendorff – Mayer-Bertrand-Sonnenschein, hidroxilamina, vainillin sulfúrico y prueba de espuma según Olga Lock de Ugaz. Para purificar y aislar los metabolitos secundarios se aplicó la cromatografía de capa fina (CCF). Mediante espectros UV-visible se determinó las estructuras de algunas moléculas por comparación con la literatura. Para determinar el efecto antiinflamatorio se utilizaron 25 ratas albinas machos de cepa de Holtzmann con un peso promedio de 150-180 gr. y que fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud (INS). Esta investigación fue realizada en el Bioterio y en el Laboratorio Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Se utilizó el método del edema subplantar, se trabajó con cinco grupos de cinco ratas, un grupo medicamento (Ibuprofeno 100mg/5ml en suspensión); otro grupo con estándar y otros tres grupo recibieron diferentes dosis del extracto metanólico *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” (50, 250 y 500 mg/kg) administrado por vía oral por un día a diferentes frecuencias (horas), se midió la inflamación con el vernier digital. En los resultados se observa que la mayor disminución de la inflamación del edema subplantar de las ratas albinas, se produjo a las catorce horas, también se obtuvieron 4 espectros de tipo flavonas en la lectura espectrofotómetro UV-visible. Por tanto, en condiciones experimentales se demostró que el extracto

metanólico *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” en ratas presenta efecto antiinflamatorio.

Palabras clave: efecto antiinflamatorio, metabolitos secundarios, Edema subplantar.

ABSTRACT

This scientific investigation takes as a main target to determine the anti-inflammatory effect of the extract metanólico of the sheets of the plant of *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo" in edema to subplant induced in albino rats, to different concentrations (50,250 and 500mg/Kg) and the secondary metabolitos (flavonas) that were in the plant have anti-inflammatory effect. For this research work there were gathered sheets of the plant, dried to a temperature ambiente, crushed in a mortar and then one proceeded to the maceration of the extract metanólico for 10 days, filtered and 35 - 40 took the heater °C and a dry extract was obtained. Then the solubility test was done with diclorometano, butanol, ethanol and water. The screening fitoquímico one proceeded to realize with Molish, Antrona, Fehling, FeCL₃, Shinoda, Rosenheim, gelatine, Bontrager, Liberman-Burchard, Ninhidrina, Dragendorff – Mayer-Bertrand-Sonnenschein, hidroxilamina, vainillin sulphuric and it tries froth according to Olga Lock de Ugaz. To purify and to isolate the secondary metabolitos there was applied the chromatography of thin layer (CCF). By means of bogeys UV-Visible I decide the structures of some molecules for comparison with the literature. To determine the effect antinflamatorio there used 25 albino rats males of vine of Holtzmann with an average weight of 150-180 gm. and that were acquired in the National Institute of Health (INS). This investigation was realized in the Bioterio and in the Laboratory Pharmacology of the faculty of Medicine of the Biggest National University of San Marcos (UNMSM). The method of the edema was used to subplant, one worked with five groups of five rats, a group medicine (Ibuprofeno 100mg/5ml in suspension); another group with standard and others three group received different doses of the extract metanólico *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo" (50, 250 and 500 mg/kg) administered by oral route for one day to different frequencies (hours), the inflammation measured itself to the digital vernier. In the results it is observed that the biggest decrease of the inflammation of the edema to subplant of the albino rats, took place at fourteen o'clock, also 4 type bogeys were obtained flavonas in the reading espectrofotómetro UV-Visible. Therefore, in experimental conditions it was demonstrated that the extract metanólico *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo" in rats presents anti-inflammatory effect.

Key words: Anti-inflammatory effect, secondary metabolites, subplantar edema.

INDICE

I.	CARATULA	
II.	DEDICATORIA	
III.	AGRADECIMIENTO	
IV.	RESUMEN	
V.	ABSTRACT	
VI.	INDICE	
VII.	INDICE DE TABLAS	
VIII.	INDICE DE GRAFICOS	
IX.	INDICE DE FIGURAS	
X.	INDICE DE ANEXOS	
XI.	INTRODUCCION	1
	CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
	1.1. Descripción de la realidad problemática	3
	1.2. Formulación del problema	4
	1.3. Problema general	4
	1.4. Problemas específicos	4
	1.5. Objetivos de la investigación	5
	1.5.1. Objetivo general	5
	1.5.2. Objetivos específicos	5
	1.6. Justificación e importancia del estudio	5
	CAPITULO II: MARCO TEORICO	7
	2.1. Antecedentes del estudio	7
	2.1.1. Nacionales	7
	2.1.2. Extranjeros	10
	2.2. Bases teóricas	11
	2.2.1. Inflamación	11
	2.2.2. Inflamación aguda	12
	2.3.3. Inflamación crónica	13
	2.3.4. Importancia de las plantas medicinales	15
	2.3.5. Formas de uso y preparación de las plantas medicinales	16
	2.3.6. Espectroscopia UV- visible	20
	2.3.7. Modelo farmacológico: edema subplantar por carragenina	20

2.3.8. Descripción de la planta <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C	21
2.3.9. Flavonoides	22
2.3.10. Metabolismo secundario de la planta	23
2.3. Hipótesis	24
2.3.1. Hipótesis general	24
2.3.2. Hipótesis específicas	24
2.4. Variables	25
2.4.1. Tabla operacional de variables	25
2.5. Marco conceptual	25
CAPITULO III: METODOLOGIA	30
3.1. Tipo de estudio	30
3.2. Diseño a estudiar	30
3.3. Población	31
3.4. Muestra	31
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	31
3.6. Procesamiento de datos	45
CAPITULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS	46
4.1. Presentación de resultados	46
4.2. Contrastación de hipótesis	58
4.3. Discusión de resultados	58
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	61
5.1. Conclusiones	61
5.2. Recomendaciones	62
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	63
ANEXOS	67

INDICE DE TABLA

Tabla N°1: Tabla para utilizar la administración de dosis	30
Tabla N°2: Solventes para solubilidad	34
Tabla N°3: Resultados del screening fitoquímico.	35
Tabla N°4: Determinación del porcentaje de humedad	46
Tabla N°5: Determinación del porcentaje de rendimiento	46
Tabla N°6: Pruebas de Solubilidad en el extracto metanólico seco	47
Tabla N°7: Análisis fitoquímico cualitativo del extracto seco metanólico	48
Tabla N°8: Valores para determinar el efecto antiinflamatorio a la primera hora	52
Tabla N°9: Análisis estadístico descriptivo según el paquete estadístico IBM versión SPSS 22 de la primera hora de administración del extracto	52
Tabla N°10: Resultado de la primera hora por Anova	53
Tabla N°11: Determinación de efecto antiinflamatorio en cuatro horas (Medición de la pata derecha de las ratas albinas) mediante el método "Edema sub plantar por carragenina"	54
Tabla N°12: Análisis estadístico descriptivo según el paquete estadístico IBM versión SPSS 22 de las cuatro horas de administración del extracto	54
Tabla N°13: Resultado de las 4 horas por Anova	55

Tabla N°14: Valores para determinar el efecto antiinflamatorio a las catorce horas	56
Tabla N°15: Análisis estadístico descriptivo según el paquete estadístico IBM versión SPSS 22 de las catorce horas de administración del extracto	56
Tabla N°16: Resultado de las 14 horas por Anova	57

INDICE DE FIGURAS

Figura N°1: Estufa de aire circulante caliente	34
Figura N°2: Extracto seco de <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo"	34
Figura N°3: Solventes para solubilidad	34
Figura N°4: Cuba con la fase móvil Cloroformo: metanol (1:3)	36
Figura N°5: Sembrando en el cromatofolio	36
Figura N°6: Placa cromatográfica identificando metabolitos	37
Figura N°7: Manchas de colores en la luz ultravioleta	37
Figura N°8: Desorción	38
Figura N°9: Aplicación de la carragenina para producir la inflamación	40
Figura N°10: Administración de las dosis de <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C	40
Figura N°11: Prueba de solubilidad en el extracto metanólico <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo"	47
Figura N°12: Distinción de los diferentes colores en la luz ultravioleta a 366 nm de la planta <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo"	49

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico N°1: Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas.	24
Gráfico N°2: Flujograma del Proceso de investigación de la planta <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo"	44
Gráfico N°3: Fracción 1 en el espectrofotómetro UV-visible	50
Gráfico N°4: Fracción 2 en el espectrofotómetro UV-visible	50
Gráfico N°5: Fracción 3 en el espectrofotómetro UV-visible	51
Gráfico N°6: Fracción 4 en el espectrofotómetro UV-visible	51
Gráfico N°7: Medidas de inhibición de inflamación de diferentes grupos experimentales después de una hora de inducir al método edema subplantar de ratas albinas	53
Gráfico N°8: Medidas de inhibición de inflamación de diferentes grupos experimentales después de cuatro horas de inducir al método edema subplantar	55
Gráfico N°9: Medidas de inhibición de inflamación de diferentes grupos experimentales después de catorce horas de inducir al método edema subplantar de ratas albinas	57

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°1 Constancia de la planta <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) DC “Ishpingo”	66
ANEXO N°2 Método de edema subplantar en ratas	67
ANEXO N°3 Matriz de consistencia	69

INTRODUCCION

La planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo" es una planta medicinal, la infusión de la planta entera es cicatrizante, digestivo y antiinflamatorio de contusiones o golpes (hinchazón) en el Perú.

Los pobladores en el Perú utilizan estas plantas medicinales por sus propiedades curativas, en el Perú hay una gran diversidad de plantas que poseen propiedades terapéuticas, sin estudios farmacológicos que fundamenten la veracidad de su uso que se le destina. *Achyrocline alata* D.C es de la familia de las Asteráceas, son usadas en Sudamérica (Argentina, Brasil y Uruguay) que han hecho estudios de la planta sobre su actividad antiinflamatoria y antioxidante en la cual existe presencia de los metabolitos secundarios como Fenoles y Flavonoides. Estudios científicos en nuestro país acreditan que poseen antioxidantes, hipocolesterolemiantes y toxicidad aguda. Con este estudio trato de fomentar el consumo de esta especie y contribuir a la investigación científica en el Perú.

Se planteó determinar del efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo" mediante el empleo del método edema plantar por carragenina, se comprobó en los tiempos propuestos por Winter et al. (04 y 14 horas respectivamente) se aprecia recién el efecto antiinflamatorio.

En el presente trabajo de investigación divide en cinco capítulos:

En el primer capítulo es el planteamiento del problema, en la cual de acuerdo a los antecedentes nacionales e internacionales, comprobamos que no hay estudios sobre efecto antiinflamatorio de la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo".

El Segundo capítulo, marco teórico planteamos la fundamentación teórica para poder realizar la parte experimental, comprendemos temas como las bases

legales nacionales e internacionales y planteamientos de las hipótesis las cuales contrastamos con los resultados obtenidos en la parte experimental.

El tercer capítulo la metodología que se utilizó fue experimental, explicativo y cuantitativo en la hoja de especie *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” mediante el empleo del método edema subplantar por carragenina, la cual se tomó 25 ratas albinas de muestras para inducirlo con carragenina, se trabajó con cinco grupos de cinco ratas, un grupo farmacológico (Ibuprofeno 100mg/5ml en suspensión); otro grupo control y otros tres grupos recibieron diferentes dosis del extracto metanólico *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” (50, 250 y 500 mg/kg) administrado por vía oral por un día en diferentes frecuencias (1,4 y 14 horas), se midió la inflamación con el vernier digital.

En el cuarto capítulo se realizó la presentación y análisis de los resultados, la cual se realizó en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) por el método edema subplantar por carragenina en ratas albinas. Se trabajó con el paquete estadístico IBM SPSS 22.

EL Quinto capítulo se da las conclusiones y recomendaciones, se determinó que la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” posee efecto antiinflamatorio, también se encontró cuatro flavonas, se recomienda realizar estudios clínicos.

CAPITULO I. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Descripción de la realidad problemática

Durante tiempos antiguos las culturas han utilizado variedades de plantas para curar diferentes tipos de enfermedades del lugar donde viven. Estos conocimientos adquiridos lo hemos incorporado hoy en día, dándole a conocer como medicina natural. Son una alternativa para la medicina convencional.

Las *Achyrocline alata* son plantas de uso medicinal y aromático comúnmente utilizada por la pobladores del departamento de Cajamarca. A su vez, se ha constatado un aumento en el consumo directo de estas plantas por parte de la población como una forma de medicina alternativa, ya sea por cosecha individual de especies silvestres, por medio de cultivos familiares, o adquiriéndolos a través de mercados. Si bien estas especies son utilizadas tradicionalmente, es necesario conocer el principio activo antiinflamatorio responsable de la acción terapéutica.

Uno de los problemas en la actualidad es abuso de los antiinflamatorios que con lleva consecuencias graves para la salud. Estos fármacos se encuentran entre los que más se consumen en el mundo, sin embargo uso inadecuado puede desencadenar desde problemas gástricos a provocar de manera específica complicaciones digestivas, cardiovasculares, renales, hepáticas y hematológicas.

En el presente trabajo investigación se determinó el efecto antiinflamatorio de la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo", apoyándonos en las bases legales nacionales e internacionales y datos obtenidos de los usos de la especie vegetal en la medicina tradicional. Todos estos resultados y metas fueron alcanzados gracias a los protocolos experimentales que sirvieron de respaldo para concluir esta investigación.

Esta investigación puede ayudar reducir problemas gastrointestinales y reacciones adversas que producen los medicamentos antiinflamatorios convencionales, ya que medicina natural no produce.

1.2 Formulación del problema

Sabiendo que uno de los problemas en la actualidad es el abuso de los antiinflamatorios que producen problemas gastrointestinales, con este trabajo queremos apoyar el uso de esta planta, por eso se investigó el efecto antiinflamatorio de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”.

1.3 Problema general

¿Presentará efecto antiinflamatorio el extracto seco metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” en edema subplantar inducido en ratas albinas?

1.4 Problemas específicos

1. ¿Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” influye luego de una hora en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas?
2. ¿Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” influye luego de cuatro horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas?
3. ¿Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” influye luego de catorce horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas?
4. ¿Cuáles son los metabolitos del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” que influyen en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas?

1.5 Objetivos de la Investigación

1.5.1 Objetivo general

Determinar si el extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” tiene el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.

1.5.2 Objetivos específicos

1. Determinar si las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” influye luego de una hora en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.
2. Determinar si las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” influye luego de cuatro horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.
3. Determinar si las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” influye luego catorce horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.
4. Identificar los metabolitos del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” que influyen en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.

1.6 Justificación e importancia del estudio

En sus resultados la investigación presente permitirá corroborar y enriquecer la base teórica referentes al estudio de las plantas, en particular de la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”, este estudio aportará al área fitoquímica y al área de la ciencia farmacéutica. Esta investigación puede ayudar a reducir costos en la población, frente a los medicamentos tradicionales, al comprobar el efecto antiinflamatorio de la planta de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” y

su aplicación en la población como medicina natural y su uso. Podría servir para pacientes con dolores articulares e inflamatorio. El estudio confirma la utilidad del diseño metodológico empleado con la propuesta de hipótesis y manejo de variables el mismo que en sus resultados podría servir de fuente a quien posteriormente desee investigar las propiedades de esta especie.

CAPITULO II. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes del estudio

2.1.1 Nacionales

E. Alvarado 2014 “Estudio Fitoquímico Preliminar y Actividad Antioxidante de las Hojas de *Achyrocline alata* D.C, (Huiru-Huiru) y su relación con su contenido de compuestos fenólicos totales”, Arequipa.

En esta investigación identificamos los principales metabolitos secundarios que están en las hojas de la planta *Achyrocline alata* D.C. (Huiru-Huiru), además por el método de CURPAC se llega a determinar la capacidad antioxidante que posee y también el número de compuestos fenólicos por el método de FOLINCUIALTEU en los extractos metanólicos que se obtuvieron por los métodos de extracción como el método Soxhlet y el método de percolación. Se usaron las hojas de la planta *Achyrocline alata* D.C. (Huiru-Huiru) las cuales estaban previamente estabilizadas, desecadas y pulverizadas. El extracto en metanol se preparó de las hojas pulverizadas, por dos métodos de extracción como el método de Soxhlet y el método de percolación, el cual se pudo obtener de rendimiento un 29.41% de extracto metanólico por la extracción Soxhlet y un rendimiento de 19.72% que se obtuvo por el método de percolación. Se efectuó la cromatografía capa fina (CCF) para poder hallar los probables metabolitos secundarios que están presentes en las horas del extracto metanólico de Huiru-Huiru, se había realizado antes la separación a partir del extracto metanólico que se tuvo por el método de Soxhlet, con disolventes de diferentes polaridades empezando iniciando con los solventes que tienen menor polaridad hasta los solventes que poseen mayor polaridad como el hexano, acetato de etilo y n-butanol, los metabolitos secundarios que han sido posibles identificar son los ácidos fenólicos (ácido cafeico y ácido clorogénico) que se encontraron en las tres fracciones, flavonoides (flavonas y flavonoides), estuvieron solo en dos partes de

n-butanol, y acetato de etilo, taninos (taninos hidrolizables) presente solo en la parte de n-butanol, saponinas (saponinas esteroidales) solo en parte de n-butanol y cumarinas (hidroxicumarinas y furanocumarinas) obtenidas en las 3 fracciones. En el método de FOLIN-CIOCALTEU se hallaron compuestos fenólicos totales el cual fue mayor en el extracto metanólico obtenido por el método de percolación siendo de 255.88 mg de GAE/100g de extracto mientras que por otro lado fue menor el contenido de fenoles totales en el extracto metanólico obtenido por el método de Soxhlet siendo de 155.64 mg GAE/100g de extracto. Por el método de CURPAC se determinó la capacidad antioxidante, donde la gran parte de su capacidad antioxidante se había dado en el extracto metanólico por el método de percolación estando en 412.60 umol equivalente de ácido ascórbico/100g de extracto y la menor capacidad antioxidante se dio en el extracto por el método de Soxhlet siendo de 281.91 umol equivalente de ácido ascórbico/100g de extracto. La mayor parte de capacidad antioxidante y de la cantidad de compuestos fenólicos totales ha sido en el extracto metanólico que se obtuvieron por el método de percolación, encontrándose así una gran diferencia frente al método de Soxhlet.¹

C. SUEL 2012 "Efecto hipocolesterolemiante y toxicidad aguda del extracto seco hidroalcoholico de *Achyrocline alata* (Huiru-Huiru) en ratas albinas"; Cusco.

Investigación muy importante, trabajo tiene como objetivo determinar el efecto hipocolesterolemiante y la toxicidad aguda del extracto seco hidroalcohólico de *Achyrocline alata* (Huiru-Huiru) en ratas albinas; para ello se recolectaron las partes aéreas de la especie vegetal, se llevaron a sequedad a temperatura ambiente, se pulverizaron en molino, y luego fueron sometidas a maceración hidroalcohólica por espacio de 15 días, luego se filtró y se llevó a baño maría a 35 - 40 °C obteniéndose como resultado el extracto seco hidroalcohólico de *Achyrocline afata*. Luego se realizaron las pruebas siguientes: Benedict, Ninhidrina, Cloruro férrico, Shinoda - Amoniaco, Gelatina-sal, Dragendorff - Mayer, Afrosimétrico, Liberman-Burchard, Borotrager, según Domínguez. Para determinar el efecto hipocolesterolemiante se usaron un total de 30 ratas albinas

machos cepa Holtzmann con un peso promedio de 180 +/- 20 gr. procedentes del INS, se llegaron a acondicionar 5 días, con agua y alimento a libertad. La hipercolesterolemia fue inducida, según el método, seguido por Arroyo, con colesterol puro el cual fue administrado por la vía oral en dosis de 62,5 mg/kg suspendido en goma tragacanto al 2%. Se realizó con cinco grupos cada grupo con un número de 6 ratas, un grupo sin inducción de hipercolesterolemia; otro con inducción y sin tratamiento, y los otros tres grupos se administró las siguientes dosis de 100, 250 y 500 mg/Kg fueron preparadas del extracto seco hidroalcohólico de la planta *Achyrocline alata* (Huirá-Huirá), por vía oral durante 60 días. Posteriormente se extrajeron muestras de sangre para evaluar el nivel de colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos, según el método del kit enzimático VALTEK. Adicionalmente, se realizaron cortes histológicos de la arteria aorta en muestras de corazón para observar los efectos del extracto seco hidroalcohólico sobre este tejido. El modelo de toxicidad UP DOWN consistió en tomar una rata hembra por dosis hasta una dosis límite de 2000 mg/Kg observando si los animales de experimentación presentaban algún signo de toxicidad. Los datos obtenidos se les aplicó un análisis de varianza, posteriormente se pasó por el Tukey, con el fin de buscar diferencias entre los diferentes grupos. Existen diferencias significativas cuando $p < 0,05$. En el estudio fitoquímico se encontraron gran cantidad de Fenoles y Flavonoides en el extracto hidroalcohólico de la planta *Achyrocline alata*. En el análisis estadístico, según ANOVA (Análisis de varianza) existen diferencias significativas en la medición del colesterol total ($p < 0,05$) es decir se acepta la hipótesis planteada; la especie *Achyrocline alata* reduce significativamente los niveles de colesterol total y LDL colesterol, a diferencia de triglicéridos y HDL colesterol, en los cuales el extracto no presenta efecto. Solo presentan depósitos rasos tanto el grupo control positivo como el de la dosis de 500 mg/dl, lo cual está relacionado con los incrementos de colesterol total y LDL colesterol, esto significa el inicio de formación de ateromas, los cuales a medida que pasa el tiempo conducen a un cierre parcial de las arterias, causando en la mayoría de los casos enfermedades cardíacas. En cuanto a la Toxicidad aguda se considera al extracto seco como atóxico.²

2.1.2 Extranjeros

J. Contreras, 2015. “Evaluación de la actividad antioxidante y el efecto citotóxico de los extractos etanólicos, etéreos y fracciones de las inflorescencias y hojas de *Achyrocline bogotensis* (asterácea)”, Bogotá Colombia.

El estudio fitoquímico de sus hojas y sus flores de *Achyrocline bogotensis* permitió obtener extractos y fracciones en orden de polaridad creciente, algunas con una promisorio actividad antioxidante y citotóxica. La planta fue recolectado en la zona de Guasca e identificado preliminarmente en el lugar y a su posteriormente fue analizada e identificada por el Herbario Nacional del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia (UNC), para obtener el extracto se debieron de moler las hojas y flores de la esta planta para luego obtener el extracto por Soxhlet.

Debido a los estudios preliminares de esta planta permitió que se centraran en la búsqueda de Flavonoides, que son antioxidantes de varias especies. Para fraccionar los extractos se realizó por Soxhlet, se empleó técnicas cromatográficas con solventes polares. Se llegó analizar cada extracto y fracción para su determinación de la mayor actividad biológica en esta planta, quedando con los que superaban el 50% de actividad antioxidante y también de viabilidad celular.³

M. Rodríguez, 2009. “Caracterización citogenética y Contenido de ADN de especies nativas de Marcelas (*Achyrocline*; Asterácea)”, Montevideo Uruguay.

En Uruguay existen tres especies de marcela pertenecientes al género *Achyrocline* taxonómicamente identificadas como *A. satureioides*, *A. flaccida* y *A. alata*, y tres variantes fenológicas denominada s *A. sp.* “de la piedra”, *A. sp.* “de hoja fina” y *A. sp.* “costera”, esta última determinada recientemente como *A. crassiuscula*. Al no haber estudios genéticos del germoplasma nativo, el objetivo

de este trabajo fue realizar la caracterización cromosómica mediante tinción con orceína y con CMA/DAPI, así como el estudio comparativo del contenido nuclear de ADN de ejemplares pertenecientes a *A. satureioides*, *A. flaccida*, *A. alata* y los biotipos *A. sp.* “de la piedra” y *A. sp.* “costera” del Uruguay. Con las técnicas de citogenética empleadas se encontró que las cinco entidades presentan un número cromosómico somático de $2n = 2x = 28$. Los cariotipos muestran una estructura en gradiente de fórmula cromosómica de 9 metacéntricos y 5 submetacéntricos. Tras la contra tinción con CMA/DAPI se observa una banda CMA3 positiva y DAPI negativa en la región pericentromérica del par cromosómico 10 que es metacéntrico. Dicha región, coincide con una región heteropicnótica negativa luego de la tinción con orceína, de inequívoca identificación. Sólo el contenido de ADN nuclear permite distinguir a *A. alata* ($2C = 6, 0 33 \text{ pg}$) del grupo conformado por *A. satureioides*, *A. flaccida*, *A. sp.* “de la piedra” y *A. sp.* “costera” ($2C = 5, 711 \text{ pg}$). La gran homogeneidad detectada entre los cinco materiales permite suponer que tienen un origen reciente.⁴

2.2 Bases Teóricas

2.2.1. INFLAMACIÓN

Es una respuesta que emite el sistema inmunológico cuando existe un daño a las células y a sus tejidos vascularizados, debido a los agentes patógenos y también por otro agente biológico diferente, química, física o mecánica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica el cual pasa a ser una enfermedad degenerativa como artritis, arteriosclerosis o, incluso podría ser un cáncer.

Puede que se acompañe de una respuesta de fase aguda determinada por un cuadro clínico como por ejemplo malestares, fiebres y alteración del perfil de las proteínas y leucocitos circulantes, en ciertos casos, la inflamación aguda local estimula una reacción orgánica a nivel general es decir un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica que, en una secuencia de reacciones a modo de espiral sin control es decir inflamación maligna, conduce al fracaso funcional de los

diferentes órganos y sistemas fracaso multiorgánico y, tras ello, a la muerte del individuo.

Es importante saber diferenciar entre inductores y mediadores frente a una respuesta inflamatoria. Los inductores son las señales con las que se da inicio al proceso, se activan los sensores especializados los cuales causan la producción de grupos específicos de mediadores. Estos a su vez alteran los estados de las funciones de las células, tejidos y órganos que son los efectores de la inflamación, de manera que permitan su adaptación y después la reparación del daño infringido por el inductor.⁵

2.2.2. INFLAMACIÓN AGUDA

La inflamación aguda es la respuesta que se da inmediatamente frente al agente patógeno. Debido a los dos principales factores defensivos que frente a los anticuerpos y los leucocitos, se transportan por la sangre, no sería raro que desempeñen un papel un papel decisivo los fenómenos vasculares, durante el proceso de la inflamación aguda. La inflamación tiene 3 elementos principales:

- Las alteraciones en la dimensión de los vasos sanguíneos, que originan el aumento en el flujo de sangre que pasa.
- La alteración estructural del micro vasculatura, el cual permite la salida de proteínas plasmáticas y de los leucocitos.
- La migración de leucocitos desde donde dejan la microcirculación hasta el lugar de la lesión en el cual se acumulan.

La salida de líquido, proteínas y células de la sangre desde el sistema vascular hasta el tejido intersticial o cavidades del organismo se llama exudación. El exudado es un líquido extravascular de forma inflamatoria que presenta una concentración alta en proteínas, muchos restos celulares y un peso específico mayor a 1.020. Su presencia implica que se ha originado una alteración

significativa en la permeabilidad de los vasos de pequeño calibre en el área de la lesión.

Sin embargo, el trasudado es un líquido bajo en contenido de proteínas (abunda más la albumina) y un peso específico menor a 1.012. Es esencialmente un ultra filtrado del plasma sanguíneo y se debe al desequilibrio hidrostático del plasma sanguíneo y se debe al desequilibrio hidrostático a través del endotelio vascular.

La permeabilidad del endotelio es normal. El término edema es un exceso de fluido en el tejido intersticial o en las cavidades serosas; este fluido puede ser un exudado o un trasudado. El pus es un exudado de origen inflamatorio rico en leucocitos y en restos de células parenquimatosas.⁶

2.3.2. INFLAMATORIA CRÓNICA

La inflamación crónica es totalmente diferente, que es el resultado de 2 factores modificadores: la naturaleza del irritante y la destreza que tiene el cuerpo cuando reacciona frente a la irritación. Existen varios agentes irritantes que dañan los tejidos, pero no poseen suficiente virulencia para provocar el tipo de respuesta inflamatoria aguda que se ha descrito anteriormente.

En ciertos casos, los organismos piógenos producen una inflamación aguda dejan de ser destruidos por la afección y la lesión queda bloqueada. En estos casos, el organismo reacciona cambiando el proceso agudo en otro granulomatoso, el cual es mejor para atacar la infección. Cuando se dice crónico se hace referencia a una respuesta inflamatoria que persiste por varios días y por varias semanas.

Clínicamente, el dolor generalmente está ausente o es mínima intensidad. Sin embargo la inflamación crónica que ser que pase desapercibida y el paciente no manifieste dolor alguno, hasta el punto de que sea demasiado tarde para salvar un órgano o los órganos lo cuales están comprometidos. Existe una diferencia entre la inflamación crónica y aguda, esto es debido a que la inflamación crónica

no posee los puntos cardinales que si posee la aguda como calor, rubor, tumor, dolor y disminución de la función.

Una inflamación aguda si se puede volver una inflamación crónica. Por ejemplo cuando hay un absceso es una colección localizada de supuración el cual tiene neutrófilos viables. Este es una respuesta inflamatoria aguda clásica. La cavidad del absceso que tiene pus se recubre con tejido conectivo inmaduro conteniendo fibras colágenas y vasos sanguíneos de neo formación. Y ahora tenemos una inflamación crónica, puesto que se ha convertido en una lesión constante, además, el área central de la necrosis por licuefacción, está envuelto por una pared de tejido inflamatorio crónico. Las fibras de colágena están orientadas alrededor de la periferia de la lesión, formando como una especie de cápsula.

Además de los fibroblastos y células endoteliales, un número variable de linfocitos y macrófagos que se encuentran adentro de la membrana piogénica. Existe una relación muy cercana entre la respuesta inflamatoria crónica y la restauración. Lo cual se explicará en el subtema de regeneración y restauración. En realidad, la inflamación crónica puede ser tomada como una reparación frustrada. La reparación es impedida debida que se requiere una suspensión de la presencia de irritantes. La remoción total de irritantes es esencial para que la reparación progrese hasta su terminación.

Todo lo que se necesita para la reparación está presente en el tejido inflamatorio crónico. Esto es, fibroblastos, vasos sanguíneos pequeños y macrófagos (para la limpieza de daño). En realidad, la reparación está ocurriendo todo el tiempo en la inflamación crónica en un proceso alternado de balance.⁷

2.3.4. IMPORTANCIA DE LAS PLANTAS MEDICINALES

Las plantas medicinales están orientadas a mitigar los problemas de salud, pero además fuera de este contexto, son aplicables a una serie de actividades que el hombre realiza sacando provecho a sus diferentes partes estructurales como son: hoja, flor, fruto, semilla, corteza, tallo y raíz.

- **LA INDUSTRIA FARMACEUTICA:** aquí se elaboran productos fitoterapéuticos en diferentes presentaciones por ejemplo como; pastillas, cápsulas, jarabes, bolsitas filtrantes, etc.
- **LA INDUSTRIA COSMETICA:** donde los aceites esenciales obtenidos de las plantas son los componentes básicos para la elaboración de perfumes, lociones, desodorantes, etc. También tenemos la elaboración de cremas para la piel, enjuagues para el cabello, lápices labiales, jaboncillos, etc.
- **LA INDUSTRIA ALIMENTARIA:** usados como saborizantes, pigmentadores y enriquecedores nutricionales.
- **LA INDUSTRIA DE BIOCIDAS:** para la obtención de pesticidas como la rotenona extraída del Barbasco.
- **LA INDUSTRIA TEXTIL:** para la elaboración de telares a partir de fibras vegetales como el algodón y yute.

También podemos indicar la aplicación de las plantas medicinales en otros campos:

- El arte culinario desarrolla su prestancia con el uso de plantas consideradas como especies y/o condimentos-, así tenemos el Kion o Jengibre, Guisador o Palillo, Mostaza, Albahaca, Menta, etc. y las usadas regionalmente con mucha frecuencia como el Orégano y el Sacha culantro.

Así mismo tenemos el empleo de hojas como envoltura saborizante de preparados. Así es el caso del “juane” que se envuelve con las hojas de Bijao y para asar pescados la hoja de Ishquipango.

Un considerable porcentaje de la materia prima destinada a los trabajos artesanales proviene de las plantas. Tenemos las semillas de Huamanzamana. Achira, Shiringa, Huayruro, etc. Empleadas para confeccionar collares, aretes y

pulseras; tallos de Gramalote, para confeccionar abanicos y flores artificiales; lianas de la Uña de Gato para la fabricación de muebles rústicos; corteza de los peciolo del aguaje para elaborar esteras y paneros; fibras obtenidas de los brotes tiernos de la chambira para la confección de abanicos y sombreros, fibras del peciolo del Bombonaje y las raíces del Huambé para la confección de canastas y para esterillar muebles.

- Como componentes en los jardines, contribuyendo con la estética que hace más agradable la vida del hombre al entregar una gama de aromas y colores.
- Muchas especies actúan como repelentes de insectos nocivos, evitando daños a otras especies como a ellas mismas; ejemplo; Rosa sisa y Paico.

De todo lo indicados podemos apreciar la relevante importancia de las plantas medicinales que debe conllevar a optar por una permanente difusión de su cultivo a través del establecimiento de biohuertos en los colegios, hospitales, huertos familiares, parques y en toda área que permita conservarlas en las mejores condiciones sanitarias.

2.3.5. FORMAS DE USO Y PREPARACION DE LAS PLANTAS MEDICINALES

Antes de indicar las formas de preparación es importante anotar que las propiedades de las plantas se deben a su contenido de principios activos, o sea a sustancias sintetizadas y almacenadas es una concentración variable en hojas, corteza, flores, raíz, etc. Influyendo directamente para su concentración los siguientes factores: hábitat en que se desarrolla la planta, época de recolección con respecto a las etapas de crecimiento de la planta, y la forma de preparación a que son sometidas.

La efectividad que posee las plantas una vez cosechadas depende del modo de preparación; hay una diferencia de una infusión a un cocimiento, porque depende del tiempo al que está expuesto en altas temperaturas un parte de la planta o en su totalidad, dependerá también si pierde o se conserva sus principios activos.

Las formas de preparación y aplicación de las especies vegetales son variadas; lo que se indican a continuación:

- **BAÑOS:** entrada parcial o en su totalidad en un medio ya sea líquido o gaseoso con un fin terapéutico. Ej.: baños de asiento con infusión de hojas de Malva y Llantén como depurativos; baños corporales con la infusión de hojas de Hierba santa y Lancetilla contra la fiebre.
- **BUCHE O BUCHADA:** porción de líquido medicinal que cabe de una vez en la boca. Ej.: buchada con látex de Sangre de grado diluido en agua tibia, como cicatrizante en extracción dentaria y de hoja de Matico en infusión contra las aftas bucales.
- **CATAPLASMA:** preparado que se obtiene machacando una o varias partes de plantas frescas hasta formar una masa blanca, muchas veces adicionando polvos o harinas u otros elementos especialmente aplicados en las inflamaciones superficiales de la piel. Generalmente se prepara en caliente y pocas veces en frío. Ej.: cataplasma de Suelda con suelda para el tratamiento de fracturas y de hojas de Cresta de gallo en golpes o magulladuras.
- **COCIMIENTO, DECOCCIÓN O COCCIÓN:** es hervir parte de las plantas vegetales, con el fin de extraer los principios medicamentosos. Cuando hierve deberá ser fuego lento durante 10-15 minutos. ej.: cocimiento de la corteza de la Uña de Gato como antiinflamatorio de las articulaciones como antiinflamatorio renal del Huasai.
- **COLIRIOS:** líquidos medicamentoso obtenidos por infusión, cocimiento o dilución de materia vegetal para ser aplicado en los ojos. ej.: colirio de hojas de Llantén contra la conjuntivitis y colirio de las flores de Manzanilla contra las irritaciones del ojo.
- **COMPRESAS O FOMENTOS:** empapar una tela absorbente como por ejemplo una gasa, con la infusión o cocimiento de las plantas medicinales,

luego exprimir y aplicarlo bien caliente sobre la parte a tratar cambiándolo intermitente. ej.: compresa con hojas de Papailla para afecciones de la piel.

- **EMPLASTO:** elaborado a base de sustancia reblandecidas por el calor y luego esparcidas sobre un paño para ser aplicado. ej.: emplasto de látex de Pan de árbol y resina de Capinuri para el tratamiento de hernias.
- **ENEMA O LAVATIVA:** inyección de líquido medicinal o alimenticio en el recto mediante una jeringa. ej.: enema de las hojas de Malva, Llantén y Verbena.
- **GARGARISMOS O COLUTORIOS:** líquido empleado para gárgaras, que consiste en mantener el líquido en la garganta y agitarlo por la contracción del velo del paladar y la acción del aire espirado. ej.: gárgara con resina de Piñón diluida en agua tibia contra la amigdalitis y de la infusión de las hojas de Matico contra la inflamación de la garganta.
- **INFUSIÓN:** preparada que consiste en extraer los principios medicamentosos de los vegetales, echando sobre ellos agua hirviendo y dejándolos en reposo; generalmente se usa en hojas y flores. ej.: infusión de hojas de Menta contra los cólicos estomacales y de flores de Sauco contra la fiebre.
- **INHALACIONES:** consiste en aspirar el vapor procedente de la infusión o cocimiento de plantas medicinales o aspirar el aroma restregando plantas aromáticas o también de las maceradas en alcohol. ej.: inhalaciones del aroma de la cascara del Limón contra el mareo y del vapor de la infusión de las hojas de Eucalipto como descongestionante nasal.
- **JARABE:** solución que se obtiene del cocimiento de materia vegetal con la adición de altas concentraciones de azúcar o miel. ej.: jarabe del fruto del Huito y del fruto del tutumo contra la tos.
- **LINIMENTOS:** preparados líquidos o semilíquidos generalmente con una base aceitosa, puede ser también acuosa o alcohólica, empleada para friccionar partes del cuerpo por su efecto penetrante, astringente o

rubefaciente. ej.: linimento de rizomas de Jengibre y de hojas de Ajo sacha contra los dolores reumáticos.

- **MACERACIÓN:** es el modo de extraer los principios activos de una planta, usando un solvente como agua, alcohol, éter, etc. Dejándolo reposar por un tiempo determinado, esto podría ser horas o días. ej.: maceración acuosa de hojas de Malva contra las inflamaciones y maceración alcohólica de corteza de Chuchuasha contra el reumatismo.
- **POLVOS:** obtención de partículas menudas triturando y cerniendo partes vegetales secas, como hojas o rallando cortezas, raíces, etc., para su uso interno o externo. ej.: polvo de hojas de Matico como cicatrizante y de hojas de Llantén como antiséptico.
- **POMADA O UNGÜENTO:** preparación blanda de uso externo, compuesta de uno o más extractos vegetales mezclada con grasa animal o vaselina. ej.: unguento de corteza de Chuchuasha y tallo de Clavo huasca como antiinflamatorios.
- **TINTURA:** solución de una o varias plantas medicinales generalmente en alcohol de 60° a 80° o aguardiente de caña, dejándolo macerar durante 10-14 días, luego colar. ej.: tisana de hojas de Pampa orégano contra los cólicos estomacales.
- **TISANA:** preparado de partes vegetales que resulta del cocimiento ligero de agua. ej.: tisana de hojas de Pampa orégano contra los cólicos estomacales.
- **ZUMO:** líquido que se extrae mediante la presión o estrujamiento de partes vegetales frescas. ej.: zumo de Limón contra el resfrío y de Caña agria contra la tos.⁸

2.3.6. ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE

La espectroscopia UV-visible se basa en la emisión de fotones, usa una radiación electromagnética, es decir un haz de luz, la cual pasa por dos zonas la primera zona es la zona o región visible, ultravioleta (UV), es decir el intervalo de longitud de onda que pasa por la región uv-visible es de 80 nm – 400 nm, la longitud de onda que pasa por la región cercana es de 200 nm – 400 nm y de luz visible es de 400 nm – 800 nm. La absorción de esta radiación causa la promoción de un electrón a un estado excitado. Los electrones que se excitan al absorber radiación de ésta frecuencia son los electrones de enlace de las moléculas, por lo que los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace que están presentes en el compuesto. El espectrofotómetro o la espectroscopia UV-visible es usada para la determinación de grupos funcionales de las moléculas que se están proyectando, además se puede determinar el contenido o la valoración y fuerza de una sustancia la cual está en análisis. Es usada también para cuantificar los componentes presentes en una muestra analítica, es usada en laboratorios de industria farmacéutica para la determinación de la concentración de las sustancias presentes en medicamentos, además sirve para identificar las absorbancias máximas y mínimas como referencia, dado en un intervalo de longitud de onda.⁹

2.3.8. MÉTODO FARMACOLÓGICO: EDEMA SUBPLANTAR POR CARRAGENINA

Para estimar la inflamación en fase aguda es el modelo de edema subplantar (SP) y cambios en la permeabilidad vascular inducidos por sustancias irritantes en rata.

Este modelo nos permite cuantificar, de una manera fácil y reproducible, dos de los parámetros más característicos de la inflamación como son el edema y la extravasación de plasma al inducir una inflamación aguda localizada en la pata del animal tras administración de carragenina (CA) por vía subplantar. El edema SP inducido por carragenina (CA) en ratas, se caracteriza por una fase temprana (0-1 h) y es provocada por la liberación de histamina, 5 - hidroxitriptamina y bradiquinina seguido de una fase tardía (1-6 h) sostenida principalmente por las

prostanglandinas. La respuesta inflamatoria se cuantifica por el aumento en el tamaño de la pata (edema) que es máxima alrededor de 5 horas después de haberse aplicado la inyección de CA y es modulada por los inhibidores de moléculas específicas dentro de la cascada inflamatoria (Winyard y Willoughby 2003). La inhibición de la inflamación inducida por CA, ha demostrado ser altamente predictiva de la actividad de los fármacos en las enfermedades inflamatorias de humanos y las dosis de los AINEs en este modelo están bien correlacionadas con las dosis efectivas en los pacientes. Por lo tanto, ha tenido un papel vital en el desarrollo de fármacos novedosos.¹⁰

2.3.9. DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C

TAXONOMIA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: *Achyrocline*

ESPECIE: *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C

Nombre vulgar: “Ishpingo”

Esta es una planta que pertenece al grupo de las Asteráceas, se encuentra en América del Sur y América Central por el clima tropical y sub tropical, países como Argentina, Perú, Bolivia, Brasil, Paraguay, Uruguay y Venezuela, conteniendo en ellas compuestos fenólicos y flavonoides. Este género de planta tiene propiedades biológicas como la actividad antioxidante y sobre todo la antiinflamatoria. La acción terapéutica de estas especies es principalmente por la presencia de flavonoides. Esta especie de planta crece en los Andes Peruanos, por lo tanto a esta especie ni a esta parte de nuestro país se han realizado estudios fitoquímicos, actualmente sigue siendo usada por los pobladores de la sierra de nuestro país.¹¹

2.3.10. FLAVONOIDES

Los flavonoides son pigmentos de forma natural que se presentan en vegetales además protegen al organismo de los daños por agentes oxidantes, como los rayos UV, la polución ambiental, sustancias químicas que están presentes en alimentos, etc. El organismo produce estas sustancias químicas protectoras, se obtienen en forma de alimentos o en forma de suplementos. Se encuentran en las plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. Los flavonoides fueron descubiertos por Szent-György, quien en el año de 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia llamada citrina, que es la que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides se denominaron a un comienzo vitamina P, por permeabilidad y también vitamina C2 por el motivo que se había comprobado que también tenían propiedades parecidas a la vitamina C.

En el año de 1950 no se pudo confirmar que los flavonoides fueran vitaminas y estas denominaciones fueron descartadas. Sin embargo los flavonoides tienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante.

Tienen un papel clave, porque estos tienen una protección frente a los daños oxidativos y además tienen un efecto terapéutico frente a un gran número de patologías, además de las cardiopatías isquémicas, aterosclerosis o los carcinomas. Tienen propiedades de anti radicales libres los cuales van de frente hasta los radicales de hidroxilo y superóxido, que son especies las cuales son muy reactivas y están presentes al principio de la cadenas de per oxidación lipídica y se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides, y previene la agregación plaquetaria y protege a las lipoproteínas que tienen una densidad baja de la oxidación. Adicionalmente a esto de sus efectos antioxidantes que ya son conocidos, los flavonoides muestran otras propiedades que incluyen la estimulación de las comunicaciones a través de las uniones en hendidura, el impacto sobre la regulación del crecimiento celular y la inducción de enzimas de

destoxificación tales como las monooxigenasas dependientes de citocromo P-450, entre otras.¹²

2.3.11. METABOLISMO SECUNDARIO DE PLANTAS

El metabolismo de las plantas está dado por el conjunto de reacciones químicas que se dan en un organismo. La mayor parte del carbono, del nitrógeno y de la energía finaliza en moléculas comunes a todas las células, las cuales son necesarias para su funcionamiento y el del organismo. Los metabolitos primarios son los aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos y están presentes en toda la planta a su vez desempeña las mismas funciones. A diferencia de otros organismos, las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, y que se denominan metabolitos secundarios (también denominados productos secundarios, productos naturales).

Los metabolitos secundarios además de no presentar una función definida en los procesos mencionados, difieren también de los metabolitos primarios en que ciertos grupos presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies.¹³

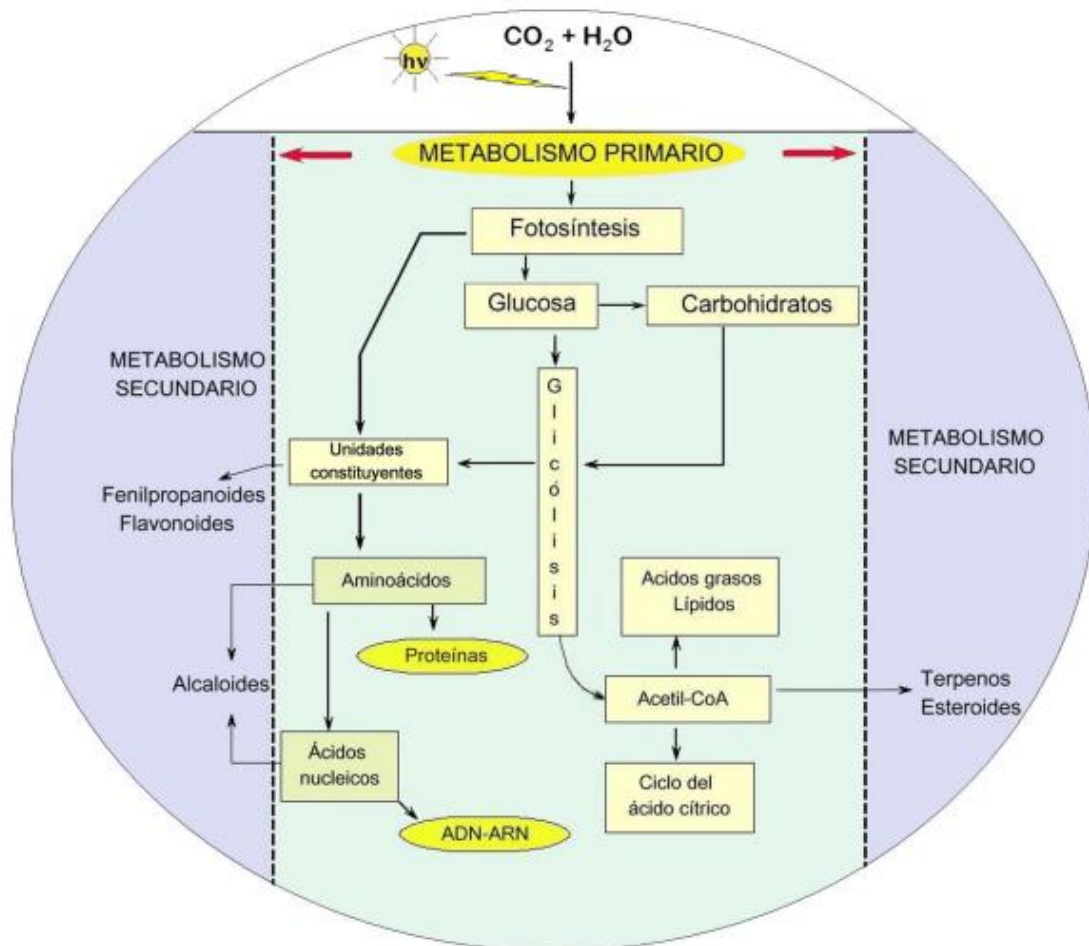


GRAFICO N°1: Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas.

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

El extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” tiene efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.

2.3.2. Hipótesis específicas

1. Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” influye positivamente luego de una hora en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.

2. Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” influye positivamente luego de cuatro horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.
3. Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” influye positivamente luego de catorce horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.
4. Los metabolitos de extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” sí influyen en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.

2.4 Variables

2.4.1 Tabla operacional de variables

Variable Independiente	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Valores final variable
Extracto metanólico de las hojas de <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C “Ishpingo”	Metabolitos secundarios	Concentración 50mg/Kg. Concentración 250mg/Kg. Concentración 500mg/Kg. Metabolitos.	Flavonas	Alta Medio Baja
Variable Dependiente	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Valores final variable
Efecto antiinflamatorio	Inhibición de la inflamación en ratas albinas	Medición de la inflamación en la zona subplantar.	Dimensiones del edema subplantar (mm).	Alta Medio Baja

2.5 Marco conceptual

ACHYROCLINE ALATA: Especie medicinal, posee virtudes antisépticas, utilizada para curar la ronquera, tos, catarrros y afecciones bronquiales; las ramitas, hojas y flores se toman en infusión con esta finalidad o en condición fresca o seca pueden ser hervidos en gran cantidad de leche contra la tos crónica y como expectorante en caso de enfermedades pulmonares. También esta planta actúa en caso de artritis y afecciones nerviosas como el estrés, para lo cual se utilizan en infusiones las ramitas terminales con hojas y flores .La infusión de la planta entera es cicatrizante, digestivo y antiinflamatorio de contusiones o golpes (hinchazón). Las ramas con hojas y flores frescas se trituran y se prepara un emplasto con el que se cubre la parte afectada del cuerpo; se refuerza su acción tomando agua de cocimiento de la planta .Las hojas sobre los párpados alivian la irritación de los ojos .Además por ser una especie fragante es usada en baños de vapor.¹⁴

AINE: Los denominados antiinflamatorios no esteroideos que son utilizados hoy día, en su inmensa mayoría inhiben las actividades de la ciclooxigenasa 1 (cox-1) presente en diversos tejidos y que medias reacciones fisiológicas, y la ciclooxigenasa 2 (cox-2) presente en el tejido lesionado¹⁵.

ANIMAL DE LABORATORIO: El animal de laboratorio es aquel que: es engendrado y producido en condiciones controladas, mantenido en un entorno controlado, posee claros antecedentes genéticos y microbiológicos, existe una comprobación sistemática de estos antecedentes. También es definido como cualquier especie animal que, mantenido bajo determinadas condiciones controladas es utilizado como instrumento de medida en experimentación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y docencia, para la generación de datos, los cuales son utilizados como información. Ejemplo de estas especies son: el ratón, la rata, el hámster, el conejo, el perro, el mono etc.¹⁶

ANOVA: La técnica del Análisis de la Varianza (ANOVA o AVAR) es una de las técnicas más utilizadas en los análisis de los datos de los diseños experimentales. Se utiliza cuando queremos contrastar más de dos medias, por lo que puede

verse como una extensión de la prueba t para diferencias de dos medias. El ANOVA es un método muy flexible que permite construir modelos estadísticos para el análisis de los datos experimentales cuyo valor ha sido constatado en muy diversas circunstancias. Básicamente es un procedimiento que permite dividir la varianza de la variable dependiente en dos o más componentes, cada uno de los cuales puede ser atribuido a una fuente (variable o factor) identificable.¹⁷

BALANZA ANALITICA: La balanza analítica ha sido construida de tal manera que puede proporcionar resultados exactos de pesada al emplearse bajo las condiciones habituales existentes en los laboratorios.¹⁸

BIOTERIO: Estructura física y organizacional especialmente diseñada para la cría y mantenimiento de animales de laboratorio. De ubicación exclusiva, fuera del alcance de peligros sanitarios.¹⁶

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA: La cromatografía en capa fina (en inglés thin layer chromatography o TLC) es una técnica analítica rápida y sencilla, muy utilizada en un laboratorio de Química Orgánica. Entre otras cosas permite:

- Determinar el grado de pureza de un compuesto. Se puede determinar así, por ejemplo, la efectividad de una etapa de purificación.
- Comparar muestras. Si dos muestras corren igual en placa podrían ser idénticas. Si, por el contrario, corren distinto entonces no son la misma sustancia.
- Realizar el seguimiento de una reacción. Es posible estudiar cómo desaparecen los reactivos y cómo aparecen los productos finales o, lo que es lo mismo, saber cuándo la reacción ha acabado. La muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina de plástico o aluminio que previamente ha sido recubierta de una fina capa de adsorbente (fase estacionaria). Entonces, la lámina se coloca en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados (eluyente o fase móvil). A medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente.¹⁹

DOSIS: es la cantidad de medicamento que se administra a un paciente.

Dosis = cantidad de medicamento (mg) por el peso corporal (kg) cada determinado tiempo (horas)

Dosis = Concentración (mg medicamento por cada kg peso) x tiempo

Es decir, 10 mg de propranolol por cada kg de peso del paciente cada 12 horas.²⁰

EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO: Este modelo permite cuantificar, de una manera fácil y reproducible, dos de los parámetros más característicos de la inflamación como son el edema y la extravasación de plasma al inducir una inflamación aguda localizada en la pata del animal tras administración de carragenina.²¹

EXTRACTO SECO: Extracto seco total es el conjunto de sustancias que bajo determinadas condiciones físicas, no se volatilizan. Estas condiciones deben ser fijadas de tal forma que las sustancias que compongan dicho extracto sufran el mínimo de alteraciones.²²

FLAVONA: Las flavonas son estructuras fenólicas que contienen un grupo carbonilo. Constituyen la familia más amplia de fenoles naturales. Su actividad frente a los microorganismos probablemente se debe a que forman complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared bacteriana, de forma similar a las quinonas.²³

FLAVONOIDES: Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. Se encuentran en vegetales, semillas, frutas y en bebidas como vino y cerveza. Se han identificado más de 5.000 flavonoides diferentes.²⁴

IBUPROFENO: El ibuprofeno es un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) perteneciente al subgrupo de los derivados del ácido propiónico (naproxeno, ketoprofeno), que posee una eficaz actividad antiinflamatoria, antipirética y analgésica. Es probablemente la molécula más estudiada clínicamente entre todos los AINES, y su popularidad ha aumentado recientemente a expensas del descubrimiento del polimorfismo de las cicloxigenasas y su aplicación a la clínica

con los cox-1, pues ha sido usado como el comparador en muchos estudios en la era de la investigación epidemiológica moderna, de la cual trataremos de presentar aquí los aspectos más necesarios para su uso en la práctica diaria.²⁵

METABOLITO SECUNDARIO: Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios.²⁶

SCREENING FITOQUÍMICO: El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos 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. El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación. Debe de permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente en una orientación y debe de interpretarse en conjunto con los resultados del screening farmacológico.²⁷

SOLVENTE ORGANICO: Son compuestos orgánicos volátiles basados en el elemento químico Carbono. Se utilizan solos o en combinación con otros agentes para disolver materias primas, productos o materiales residuales, utilizándose para la limpieza, para modificar la viscosidad, como agente tenso activo, como plastificante, como conservante o como portador de otras sustancias que una vez depositadas, quedan fijadas evaporándose el disolvente.²⁸

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo de estudio

El presente estudio presenta un diseño experimental con un grupo farmacológico, un grupo control y tres grupos experimentales, se utilizaron aleatoriamente las ratas albinas, por lo tanto no se controla las variables y es un tipo del estudio es analítico e inductivo. Diseño experimental.

3.2 Diseño a utilizar

Tabla N° 1: tabla para utilizar la administración de dosis

RG1	01	X1	02
RG2	03	X2	04
RG3	05	X3	06
•	•	•	•
•	•	•	•
•	•	•	•
RG _k	0 _{2k-1}	X _k	0 _{2k}
RG _{k+1}	0 _{2k+1}	—	0 _{2(k+1)}

G1: carragenina

G2: Ibuprofeno + carragenina

G3: concentración 50 mg/kg + carragenina

G4: concentración 250 mg/kg + carragenina

G5: concentración 500 mg/kg + carragenina

Se tienen diversos tratamientos experimentales y un grupo de control. Si éste es excluido, el diseño se llamaría “diseño de pre prueba-pos prueba con grupos distribuidos aleatoriamente” (Simón, 1985).

3.3 Población

La planta utilizada *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C, del Departamento de Cajamarca, Provincia de Cutervo, Distrito de Callayuc, poblado sector del campo se recolectó 20 kg.

3.4 Muestra

La muestra con la cual se trabajó en el presente trabajo es de 1,286 Kg.

3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

- **Equipos**

Los equipos usados para la presente investigación fueron:

- Balanza analítica OHAUS
- Espectrofotómetro UV-VIS Agilent
- Estufa aire circulante Memmert
- Ultravioleta

- **Materiales**

- Bagueta
- Beacker
- Guantes quirúrgicos
- Papel Filtro
- Frascos de 4 L
- Jaula metálica para ratas.
- Cuba para cromatografía
- Cromatogramas
- Cucharitas de metal para muestras.
- Viales de 5 mil
- Frascos ámbar de 100 mil

- **Reactivos**

- Metanol
- Cloroformo
- Sílica gel 60G
- Carragenina
- Agua destilada

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

PRUEBAS PRELIMINARES

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL

Recolección de la planta: La especie *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” se recolectó centro poblado de Sector el campo. Distrito de Callayuc. Provincia de Cutervo. Situada a una altura 2649 m.s.n.m. dentro del Departamento de Cajamarca, a partir del mes de Febrero del año 2017. El peso de la muestra recolectada fue aproximadamente de 20 kilos.

- **Selección:** Se seleccionaron las partes de hoja de la planta y se eliminaron las plantas en mal estado.
- **Secado:** Las hojas seleccionadas se colocaron en un ambiente seco y con buena ventilación, bajo sombra, por un espacio de 30 días.
- **Molienda:** Se procedió a moler la muestra, la muestra molida se recolectó en frascos de vidrio color ámbar estériles cerrados y rotulados.

DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD

La determinación de la Humedad de la muestra recolectada, se seca con muestra fresca trozada, previamente pesada, en estufa a 40°C hasta lograr peso seco de

la muestra. Después se determinó el porcentaje de humedad mediante la siguiente relación (Villar del Fresno, 1999).

$$\% H = \frac{M1-M2}{M1} \times 100$$

Dónde:

% H = Porcentaje de humedad

M 1 = Peso de muestra fresca

M2 = Peso de muestra seca

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO Y PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

La extracción se realizó en metanol, para la cual se utilizó la planta seca y molida, y se sometió a un tipo de maceración por 10 días, con agitación periódica. El porcentaje de extracción de la muestra se calcula de la siguiente manera:

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

%E= Porcentaje de extracto

Pf = Peso final

Pi=Peso inicial

Tiempo de maceración: El tiempo de maceración recomendado es entre 10 a 15 días, por lo cual se procedió a realizar la maceración por dicho tiempo, en metanol. Después se realizó el proceso de filtración y secado en una estufa a 40°C, obteniendo el extracto seco, y así la muestra lista para su respectivo análisis preliminar.



FIGURA N°1: Estufa de Aire Circulante Memmert



FIGURAO N°2: Extracto seco de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”

PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Para la realización de las pruebas de solubilidad, el extracto metanólico seco de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” se colocaron en diferentes tubos de ensayo y luego se añadieron solventes de diferente grado de polaridad, ordenados en forma descendente, para así determinar la disolución de los extractos.

Tabla N°2: Solventes para solubilidad

SOLVENTES
Diclorometano
Butanol
Metanol
Alcohol etílico 96°
Agua destilada



FIGURA N°3: Solventes para solubilidad

Fuente: Elaboración propia basada en la bibliografía recopilada (OLGA LOCK, 1997)

ANÁLISIS FITOQUÍMICO:

Para determinar la presencia de metabolitos se procedió a un proceso de análisis fitoquímico cualitativo de la siguiente forma:

Tabla N° 3: Screening Fitoquímico.

REACTIVO	METABOLITO SECUNDARIO
MOLISH	CARBOHIDRATOS GENERALES
ANTRONA	CARBOHIDRATOS GENERALES
FEHLING	AZUCARES REDUCTORES
FeCl ₃	COMPUESTOS FENOLICOS
SHINODA	FLAVONOIDES
ROSENHEIM	CATEQUINAS O ANTOCIANINA
GELATINA	TANINOS
BORTRANGER	ANTRAQUINONA O NAFTOQUINONAS
LIEBERMAN	COMPUESTOS TRITERPENOIDES O ESTEROIDES
NINHIDRHINA	AMINOÁCIDOS
DRAGENDORF	ALCALOIDES
MAYER	ALCALOIDES
BERTRAND	ALCALOIDES
SONNENSEHEIN	ALCALOIDES
HIDROXILAMINA	COMPUESTO CARBONILO
PRUEBA DE ESPUMA	SAPONINA
VAINILLIN SULFURICO	GLICOSIDOS

Fuente: Elaboración propia basada en la bibliografía recopilada (OLGA LOCK, 1997)

MÉTODO CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (CCF)

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

FUNDAMENTO

Se basa en el principio general de separación selectiva de los componentes de una mezcla por acción de la fase móvil que fluye a través de la fase estacionaria, distribuyéndose el compuesto entre las dos fases.

PROCEDIMIENTO

- Se utilizó como fase estacionaria placas de silica gel con soporte de vidrio, en tamaños iguales 15 x 5 cm, trazando una línea horizontal en ambos extremos a 1 cm. del borde superior e inferior.

- La fase móvil a utilizar fue de acuerdo al metabolito a estudiar, la cual fue depositada en cantidad adecuada en la cámara cromatografía pero sin que esta llegue a la línea de sembrado en la fase estacionaria.
- Posteriormente fue tapada y se dejó en reposo por unos 15 min, con el fin de saturar el interior de la cuba con los vapores de la solución.



FIGURA N°4: Cuba con la fase móvil Cloroformo: metanol (1:3)

- Se procedió al sembrado de la placa cromatográfica o fase estacionaria con la muestra concentrada del extracto obtenido de la planta, en la línea horizontal inferior trazada anteriormente, se utilizó tubos capilares para el sembrado.



FIGURA N°5: Sembrando en el Cromatofolio

- Luego se introdujo la placa cromatográfica de forma vertical con una ligera inclinación dentro de la cuba cromatográfica.
- Se desarrolló el cromatograma poniendo en contacto la fase móvil con la fase estacionaria hasta la línea trazada en el borde superior de la placa.

- Se retiró la placa para dejarla secar en medio ambiente entre 15 a 20 min, para posteriormente realizar los procedimientos de revelado para observar las manchas de colores.



FIGURA N°6: Placa Cromatográfica identificando metabolitos

LOCALIZACIÓN DE LOS ANALITOS EN LA PLACA

Los métodos para localizar los analitos, se basa en el examen de la placa bajo la luz UV, ya que al contener la placa material fluorescente, esta fluorescencia es eliminada por los componentes de la muestra de forma tal que, toda la placa exhibe fluorescencia excepto los lugares donde se encuentran los componentes de la muestra no fluorescentes.



FIGURA N°7: Manchas de colores en la luz ultravioleta

Desorción

Se procedió a realizar la desorción de la cromatografía en capa fina posteriormente se procedió a colocar en envases pequeños de color ámbar.



FIGURA N°8: Desorción

Análisis por UV-visible

TÉCNICA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

MÉTODO

Test de actividad antiinflamatorio “Edema subplantar por carragenina” según Winter *et al*, 1970.

FUNDAMENTO

Consiste en provocar un edema en la región sub subplantar de la pata del animal de experimentación, por inyección de una sustancia irritante como la carragenina. El proceso inflamatorio así provocado, está constituido por dos fases. La primera fase o fase inicial, que ocurre inmediatamente después de la administración hasta la primera hora, está relacionada a mediadores de la inflamación, como la

serotonina e histamina. A la hora y media intervienen las quininas. La segunda fase o fase tardía, ocurre aproximadamente a la tercera hora luego de la administración de carragenina, y está relacionada con la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico, incluso se afirma que se induce y activa COX-2. La migración de 36 neutrófilos probablemente al lugar de la inflamación ocurra alrededor de las dos horas.

PROCEDIMIENTO

- Se distribuyó las ratas según el grupo de tratamiento al azar y se las identificó según el grupo asignado.
- Se midió el espesor de la pata derecha posterior de las ratas de los grupos experimentales con vernier digital.
- Se administró 0.1ml de una solución de carragenina al 1% en suero fisiológico; en la pata derecha posterior de cada rata.
- Se administró los tratamientos:
 - Grupos Experimental 1: se administró oral el extracto metanólico de las hojas *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” 50mg/Kg.
 - Grupo Experimental 2: se administró oral el extracto metanólico de las hojas *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” 250mg/Kg.
 - Grupo Experimental 3: se administró oral el extracto metanólico de las hojas *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” 500mg/Kg.
 - Grupo farmacológico: Administración oral la suspensión del ibuprofeno 100mg/5ml.
 - Grupo control: Pata inflamada sin ningún tratamiento.

- Se realizó lectura de la pata posterior derecha al cabo de 1, 4, y 14 horas.
- Se halló el porcentaje de inflamación de cada grupo, considerando el volumen inicial medido.



FIGURA N°9: Aplicación de la carragenina para producir la inflamación



FIGURA N°10: Administración de las dosis de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C

TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

MEDIA ARITMÉTICA

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

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

MEDIDAS DE DISPERSIÓN

La dispersión de un conjunto de observaciones se refiere a la variedad que muestran éstas. Una medida de dispersión conlleva información respecto de la cantidad total de variabilidad presente en el conjunto de datos. Si todos los valores son iguales no hay dispersión, pero si no todos son iguales, entonces existe dispersión en los datos.

La magnitud de la dispersión es pequeña cuando los valores, aunque diferentes, son cercanos entre sí.

LA VARIANZA

Cuando los valores de un conjunto de observaciones se encuentran ubicados cerca de su media, la dispersión es menor que cuando están esparcidos.

En consecuencia, se puede pensar intuitivamente que es posible medir la dispersión en función del esparcimiento de los valores alrededor de su media. Esta medición se efectúa mediante lo que se conoce como varianza.

Para calcular la varianza de una muestra de valores, se resta la media de cada uno de los valores individuales, las diferencias se elevan al cuadrado y después se suman entre sí.

Esta suma de desviaciones elevadas al cuadrado de los valores con respecto a la media se divide entre el tamaño de la muestra, menos 1, para obtener la varianza de la muestra. Si se asigna la letra s^2 para simbolizar la varianza de la muestra, el procedimiento descrito se expresa como sigue:

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_j - \bar{X})^2}{n - 1}$$

DESVIACIÓN ESTÁNDAR

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

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

ESTADÍSTICA INFERENCIAL

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

El análisis de varianza de un tratamiento se aplica a los test estadísticos sobre más de dos grupos. Se crea una suma de cuadrados que represente las diferencias entre las medias de cada uno de los grupos y una segunda suma que represente la variación en cada uno de ellos. ANOVA es una técnica estadística eficiente; si la hipótesis nula está fundamentada (es decir, si no se encuentra evidencia para rechazarla), normalmente uno no continúa con las siguientes comparaciones estadísticas que permiten analizar datos empíricos para determinar si hay diferencia significativa entre el conjunto de medias, en cambio si encontramos evidencia suficiente para rechazarla se aceptara la hipótesis alternativa a lo cual se podría aplicar un test de comparación múltiple que nos señale en forma precisa y específica que grupos son similares o diferentes. Esta prueba es la prueba de Tukey.

PRUEBA HSD DE TUKEY

La prueba de Tukey, que generalmente se conoce como prueba de HSD (diferencia verdaderamente significativa), es una prueba de comparación múltiple, utiliza medias graduadas, se basa en el análisis de varianza y asegura que la probabilidad de que una o más comparaciones que se juzgue significativa solamente por azar no sea mayor de 5%.

FLUJOGRAMA DE LOS PROCESOS DE LA INVESTIGACION

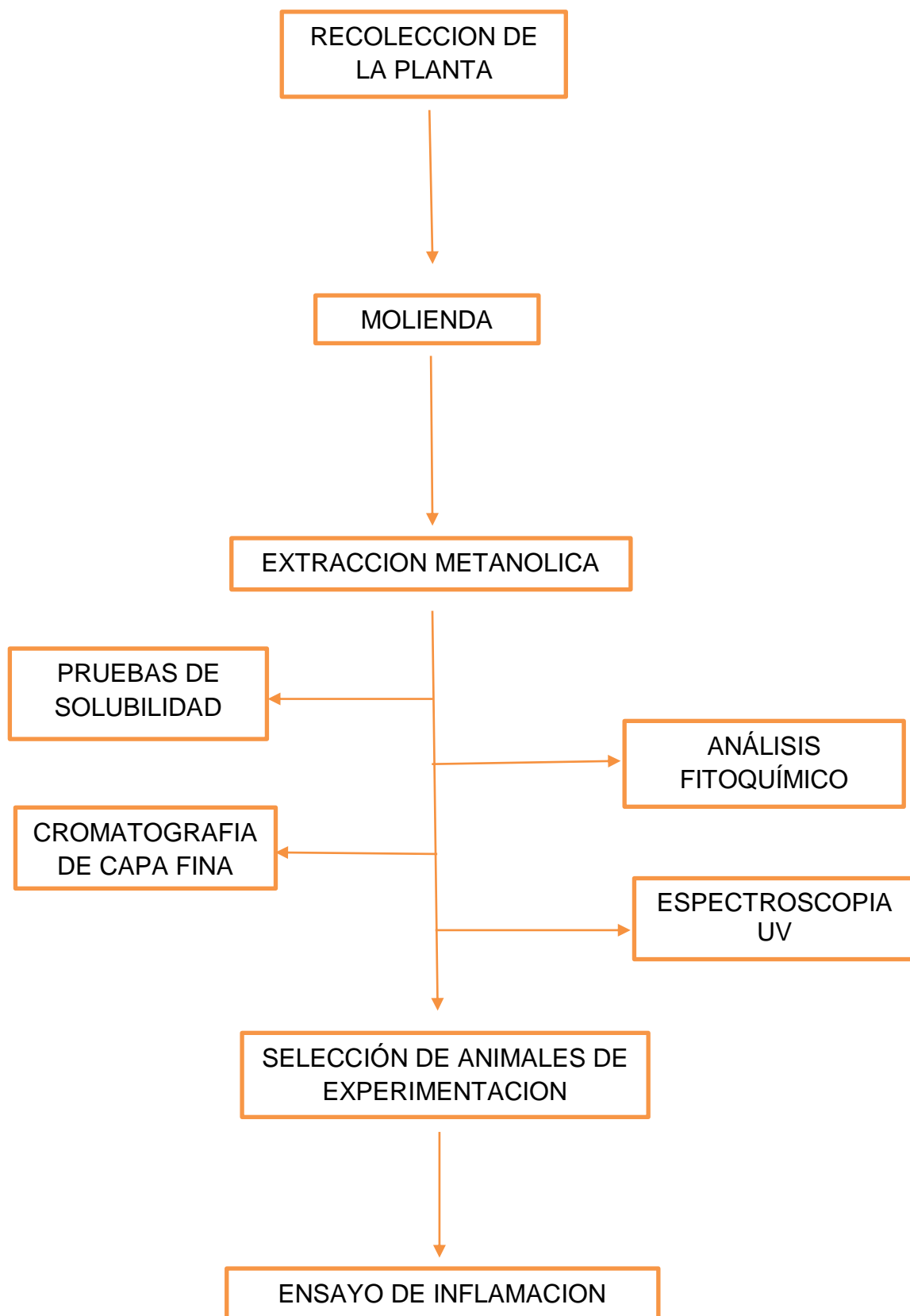


GRAFICO N°2: Flujograma del proceso de investigación de la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo"

3.6. Procesamiento de Datos

La información estadística la cual se proporciona en el presente trabajo de investigación ha sido realizada por el programa de IBM SPSS versión 22 en idioma español.

CAPÍTULO IV. PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS

4.1 PRESENTACION DE RESULTADOS

Los datos serán procesados por el mismo software de los equipos y posteriormente se reprocesarán para obtener resultados finales. Adicionalmente se usará el Excel.

Como primer resultado se determinó el porcentaje de humedad de la muestra a investigar, *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”, obteniendo como resultado el porcentaje de humedad en la muestra.

Tabla N°4: Determinación del porcentaje de humedad

ESPECIE VEGETAL	<i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C “Ishpingo”
Peso de Muestra Fresca (g)	1286 g
Peso de muestra seca (g)	558 g
Porcentaje De Humedad (%)	56.6 %

Fuente: Datos experimentales

En este segundo resultado determinamos el porcentaje de rendimiento de la extracción de la muestra de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”

Tabla N°5: Determinación del Porcentaje de Rendimiento

	Extracto metanólico
Peso inicial de muestra molida (g)	500 gr
Peso final del extracto seco (g)	8 gr
Porcentaje de extracción (%)	1.6%

Fuente: Datos experimentales

Como tercer resultado tenemos las pruebas de solubilidad que se le realizó a la hoja de la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”, obteniendo como mayor solubilidad en metanol.

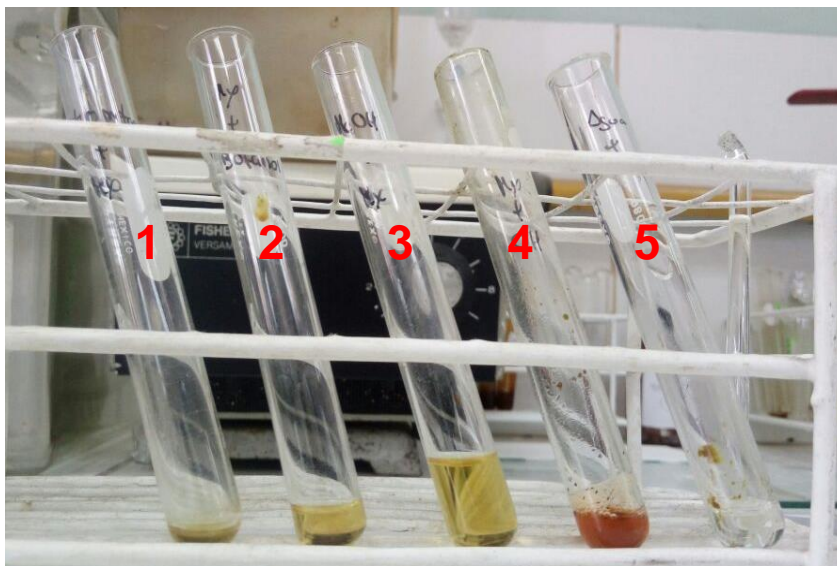


FIGURA N°11: Prueba de solubilidad en el extracto metanólico *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”

Tabla N°6: Pruebas de Solubilidad en el extracto metanólico seco

SOLVENTE	EXTRACTO METANÓLICO
1. Diclorometano	++
2. Butanol	++
3. Metanol	++++
4. Alcohol etílico 96°	+++
5. Agua destilada	++

Fuente: Datos Experimentales

Leyenda: ++++: Muy soluble; +++ : soluble; ++ : Poco soluble.

El cuarto resultado tenemos el screening fitoquímico según el esquema de Olga Lock.

Tabla N°7: Resultados análisis fitoquímico cualitativo del extracto seco metanólico

REACTIVO	IDENTIFICACION	EXTRACTO METANÓLICO
MOLISH	CARBONIDRATOS GENERALES	+++
ANTRONA	CARBONIDRATOS GENERALES	++
FEHLING	AZUCARES REDUCTORES	+
FeCl ₃	COMPUESTOS FENOLICOS	+++
SHINODA	FLAVONOIDES	+++
ROSENHEIM	CATEQUINAS O ANTOCIANINA	+
GELATINA	TANINOS	+++
BORTRANGER	ANTRAQUINONA O NAFTOQUINONAS	++
LIEBERMAN	COMPUESTOS TRITERPENOIDES O ESTEROIDES	+++
NINHIDRHINA	AMINOÁCIDOS	+
DRAGENDORF	ALCALOIDES	++++
MAYER	ALCALOIDES	++
BERTRAND	ALCALOIDES	+
SONNENSEHEIN	ALCALOIDES	++
HIDROXILAMINA	COMPUESTO CARBONILO	+
PRUEBA DE ESPUMA	SAPONINA	-
VAINILLIN SULFURICO	GLICOSIDOS	++++

Leyenda: ++++: Muy Abundante cantidad; +++: Abundante cantidad; ++: Moderada cantidad;

+ Poca cantidad; - Ninguna

En este quinto resultado se distingue una fluorescencia amarilla, naranja, celeste y azul en la luz UV a 366 nm, lo cual evidencia la presencia de flavonoides en el extracto metanólico de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo".

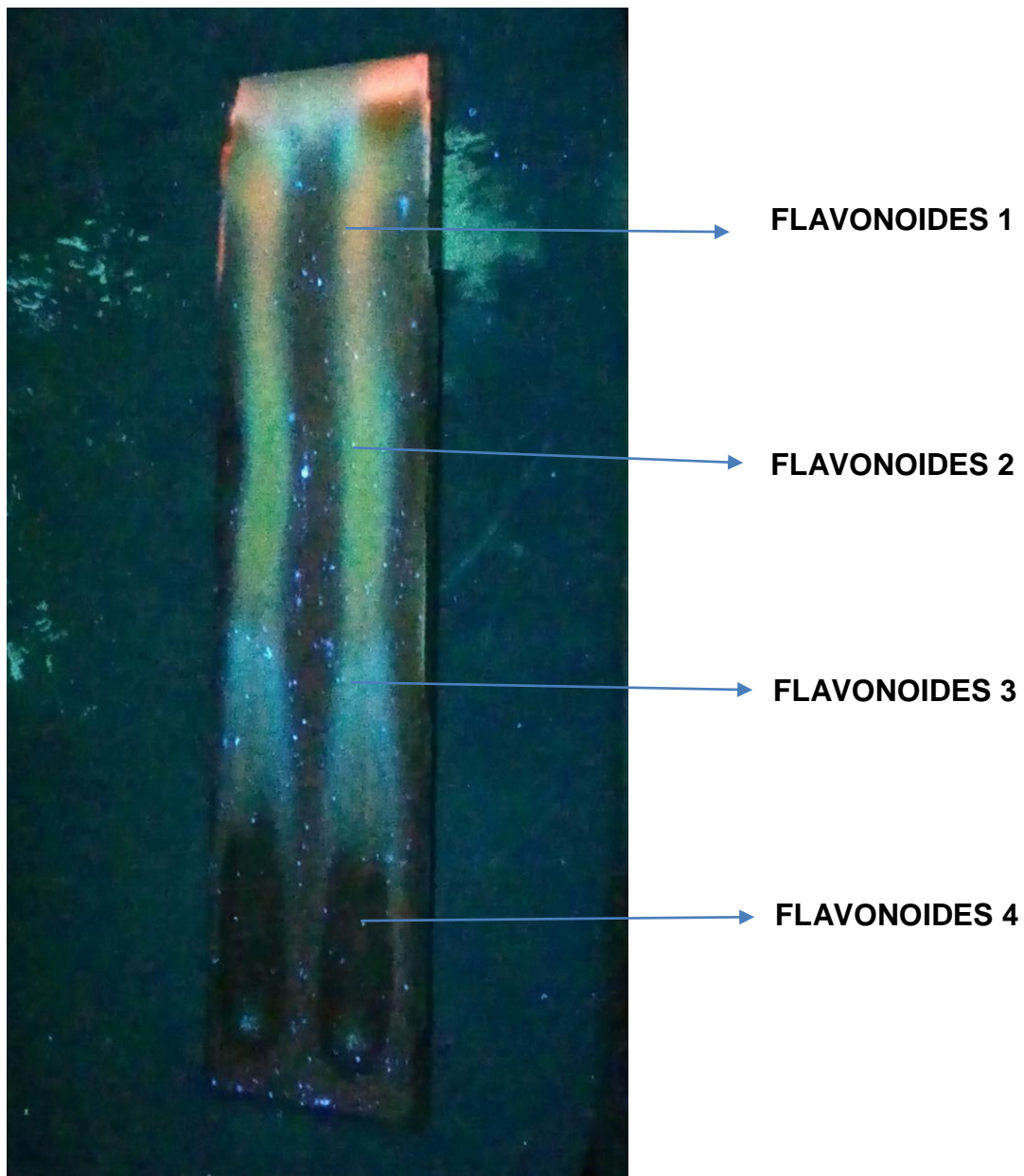


FIGURA N°12: Distinción de los diferentes colores en la luz ultravioleta a 366 nm de la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”

Propuesta de estructura química mediante Espectroscopía UV-visible se obtuvo 4 espectros de flavonoides.

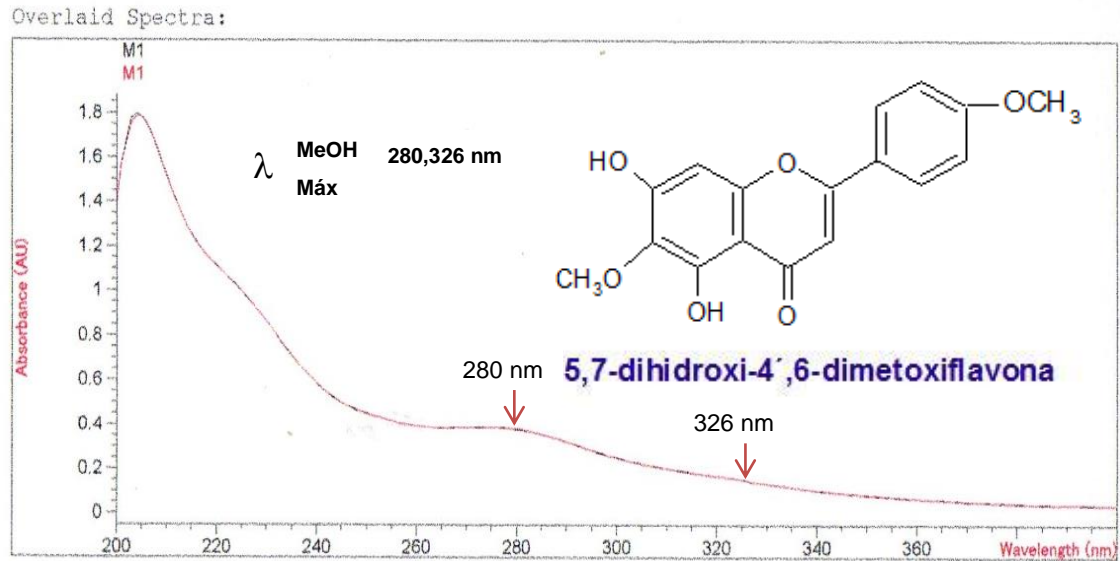


GRAFICO N°3: Fracción 1 en el espectrofotómetro UV-visible

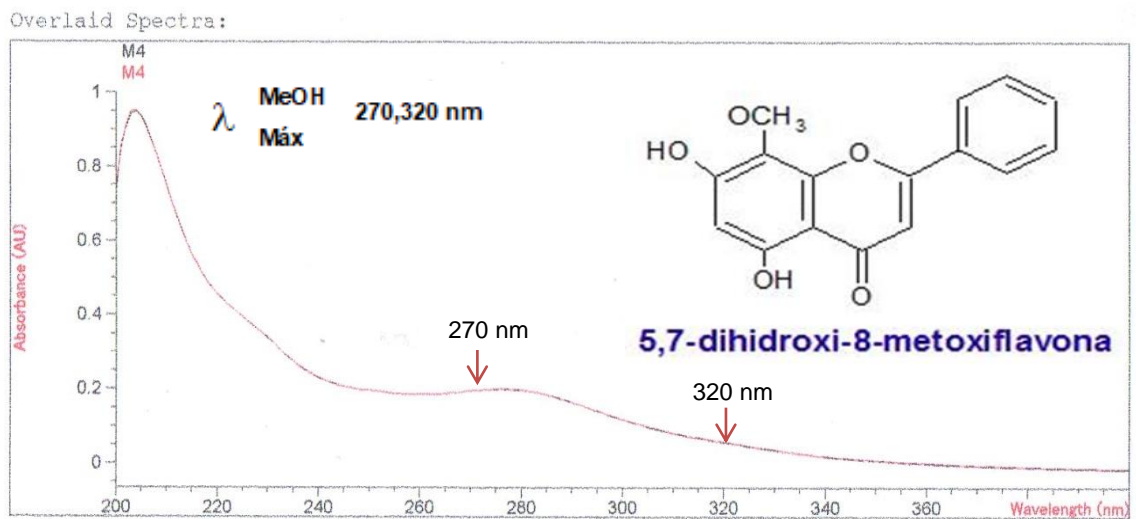


GRAFICO N°4: Fracción 2 en el espectrofotómetro UV-visible

Overlaid Spectra:

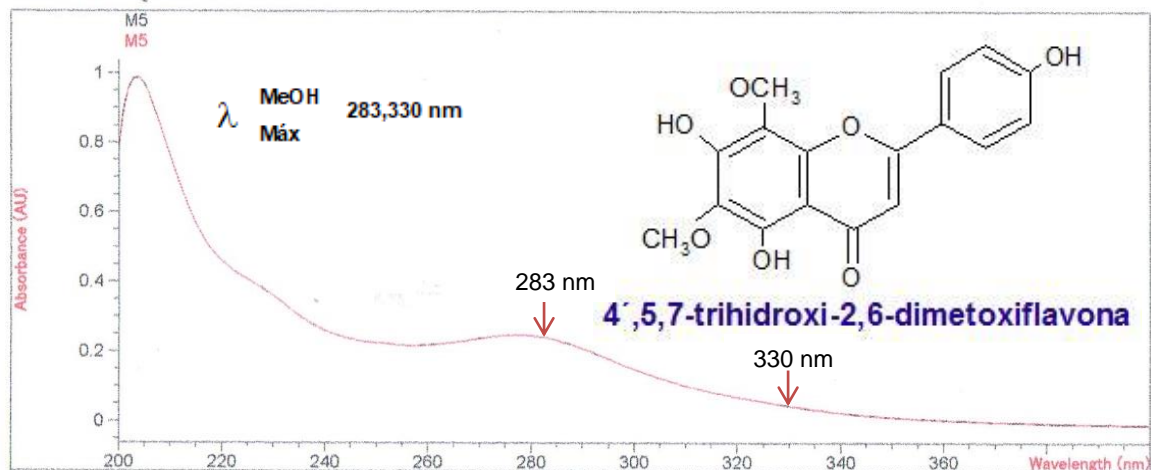


GRAFICO N°5: Fracción 3 en el espectrofotómetro UV-visible

Overlaid Spectra:

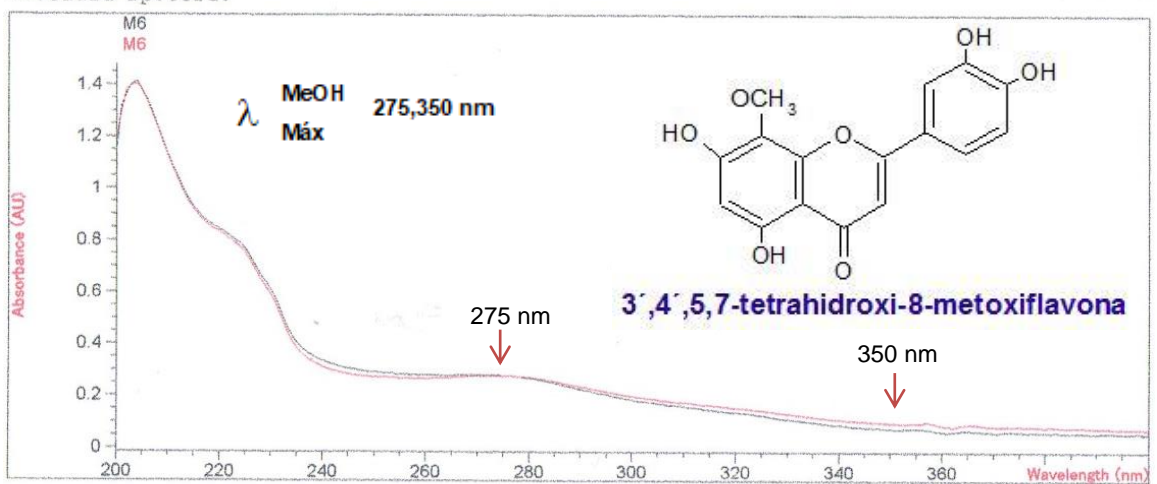


GRAFICO N°6: Fracción 4 en el espectrofotómetro UV-visible

DETERMINACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO A LA PRIMERA HORA

Medición de la pata derecha, para determinar el efecto antiinflamatorio durante la primera hora después de haberle administrado el extracto metanólico de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” a las ratas albinas, mediante el método “edema subplantar por carragenina”.

Tabla N°8: Valores para determinar el efecto antiinflamatorio a la primera hora

GRUPOS DE RATAS	RATA 01	RATA 02	RATA 03	RATA 04	RATA 05
CONTROL	6.97	6.02	6.32	5.6	6.39
IBUPROFENO	6.59	6.74	5.96	5.96	6.7
EXTRACTO 50mg/Kg	5.56	6.24	6.4	5.89	5.98
EXTRACTO 250mg/Kg	5.91	6.13	6.07	6.7	5.98
EXTRACTO 500mg/Kg	6.14	6.36	5.97	6.35	5.93

Fuente: Datos experimentales

Tabla N°9: Análisis estadístico descriptivo según el paquete estadístico IBM versión SPSS 22 de la primera hora de administración del extracto

Descriptivos

		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza 95% para la Media		Mínimo	Máximo
						Límite Inferior	Límite Superior		
UNA_HORA	CONTROL	5	6.26	.50	.23	5.63	6.89	5.60	6.97
	EXTRACTO 50 MG	5	6.01	.33	.15	5.61	6.42	5.56	6.40
	EXTRACTO 250 MG	5	6.16	.31	.14	5.77	6.55	5.91	6.70
	EXTRACTO 500 MG	5	6.15	.20	.09	5.90	6.40	5.93	6.36
	IBUPROFENO	5	6.39	.40	.18	5.90	6.88	5.96	6.74
	Total	25	6.19	.35	.07	6.05	6.34	5.56	6.97

Fuente: Datos estadísticos

Tabla N°10: Resultado de la primera hora por Anova

ANOVA

		<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>df</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Sign.</i>
<i>UNA_HORA</i>	<i>Entre Grupos</i>	.39	4	.10	.75	.572
	<i>Intra Grupos</i>	2.63	20	.13		
	<i>Total</i>	3.02	24			

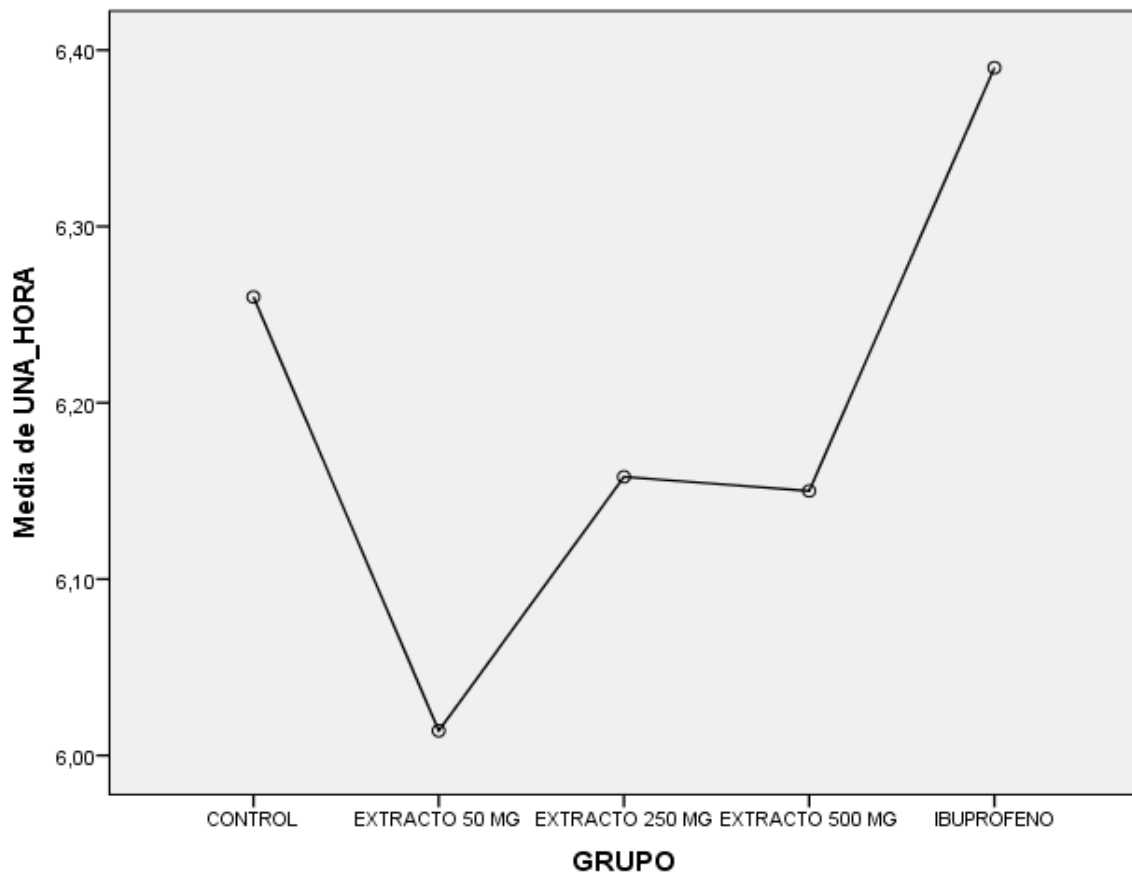


GRAFICO N°7: Medidas de inhibicion de inflamacion de diferentes grupos experimentales después de una hora de inducir al método edema subplantar de ratas albinas.

DETERMINACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO A LAS CUATRO HORAS

Medición de la pata derecha, para determinar el efecto antiinflamatorio a las 4 horas después de haberle administrado el extracto metanólico de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” a las ratas albinas, mediante el método “edema subplantar por carragenina”.

Tabla N°11: Valores para determinar el efecto antiinflamatorio a las cuatro horas

GRUPOS DE RATAS	RATA 01	RATA 02	RATA 03	RATA 04	RATA 05
CONTROL	6.98	6.74	6.16	5.96	6.7
IBUPROFENO	5.38	5.85	5.39	5.86	5.56
EXTRACTO 50mg/Kg	5.34	6.13	6.07	5.36	5.8
EXTRACTO 250mg/Kg	5.56	5.62	5.71	5.89	5.89
EXTRACTO 500mg/Kg	6.12	5.84	5.96	5.78	5.85

Fuente: Datos experimentales

Tabla N°12: Análisis estadístico descriptivo según el paquete estadístico IBM versión SPSS 22 de las cuatro horas de administración del extracto

		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza 95% para la Media		Mínimo	Máximo
						Límite Inferior	Límite Superior		
CUAT_HRS	CONTROL	5	6.51	.43	.19	5.98	7.04	5.96	6.98
	EXTRACTO 50 MG	5	5.74	.38	.17	5.27	6.21	5.34	6.13
	EXTRACTO 250 MG	5	5.69	.19	.08	5.45	5.92	5.50	5.89
	EXTRACTO 500 MG	5	5.91	.13	.06	5.74	6.08	5.78	6.12
	IBUPROFENO	5	5.52	.20	.09	5.26	5.77	5.38	5.86
	Total	25	5.87	.44	.09	5.69	6.05	5.34	6.98

Fuente: Datos estadísticos

Tabla N°13: Resultado de las 4 horas por Anova

ANOVA

		<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>df</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Sign.</i>
<i>CUAT_HRS</i>	<i>Entre Grupos</i>	2.91	4	.73	8.64	.000
	<i>Intra Grupos</i>	1.69	20	.08		
	<i>Total</i>	4.60	24			

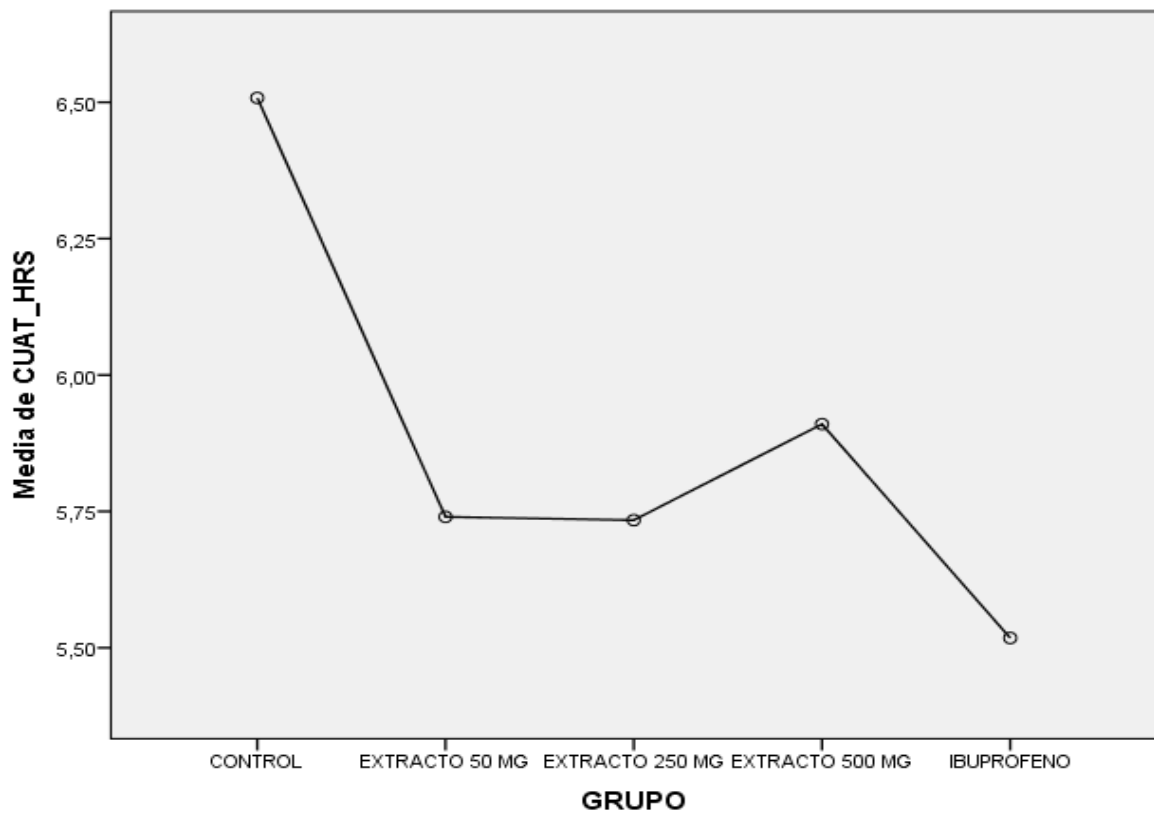


GRAFICO N°8: Medidas de inhibicion de inflamacion de diferentes grupos experimentales después de cuatro horas de inducir al método edema subplantar

DETERMINACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO A LAS CATORCE HORAS

Medición de la pata derecha, para determinar el efecto antiinflamatorio a las 14 horas después de haberle administrado el extracto metanólico de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” a las ratas albinas, mediante el método “edema subplantar por carragenina”.

Tabla N°14: Valores para determinar el efecto antiinflamatorio a las catorce horas

GRUPOS DE RATAS	RATA 01	RATA 02	RATA 03	RATA 04	RATA 05
CONTROL	7.34	6.75	6.05	4.95	4.97
IBUPROFENO	5.16	5.4	5.24	5.26	5.3
EXTRACTO 50mg/Kg	5.12	5.02	5.29	5.44	5.58
EXTRACTO 250mg/Kg	4.95	5.6	5.5	5.29	5.15
EXTRACTO 500mg/Kg	4.97	5.36	5.38	5.18	5.11

Fuente: Datos experimentales

Tabla N°15: Análisis estadístico descriptivo según el paquete estadístico IBM versión SPSS 22 de las catorce horas de administración del extracto

Descriptivos

		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza 95% para la Media		Mínimo	Máximo
						Límite Inferior	Límite Superior		
CAT_HRS	CONTROL	5	6.60	.55	.25	5.91	7.29	6.04	7.34
	EXTRACTO 50 MG	5	5.29	.23	.10	5.01	5.57	5.02	5.58
	EXTRACTO 250 MG	5	5.34	.32	.14	4.95	5.74	4.95	5.71
	EXTRACTO 500 MG	5	5.20	.17	.08	4.99	5.41	4.97	5.38
	IBUPROFENO	5	5.36	.28	.12	5.02	5.71	5.16	5.85
	Total	25	5.56	.62	.12	5.30	5.81	4.95	7.34

Fuente: Datos estadísticos

Tabla N°16: Resultado de las 14 horas por Anova

ANOVA

		<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>df</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>Sign.</i>
<i>CAT_HRS</i>	<i>Entre Grupos</i>	6.83	4	1.71	15.03	.000
	<i>Intra Grupos</i>	2.27	20	.11		
	<i>Total</i>	9.10	24			

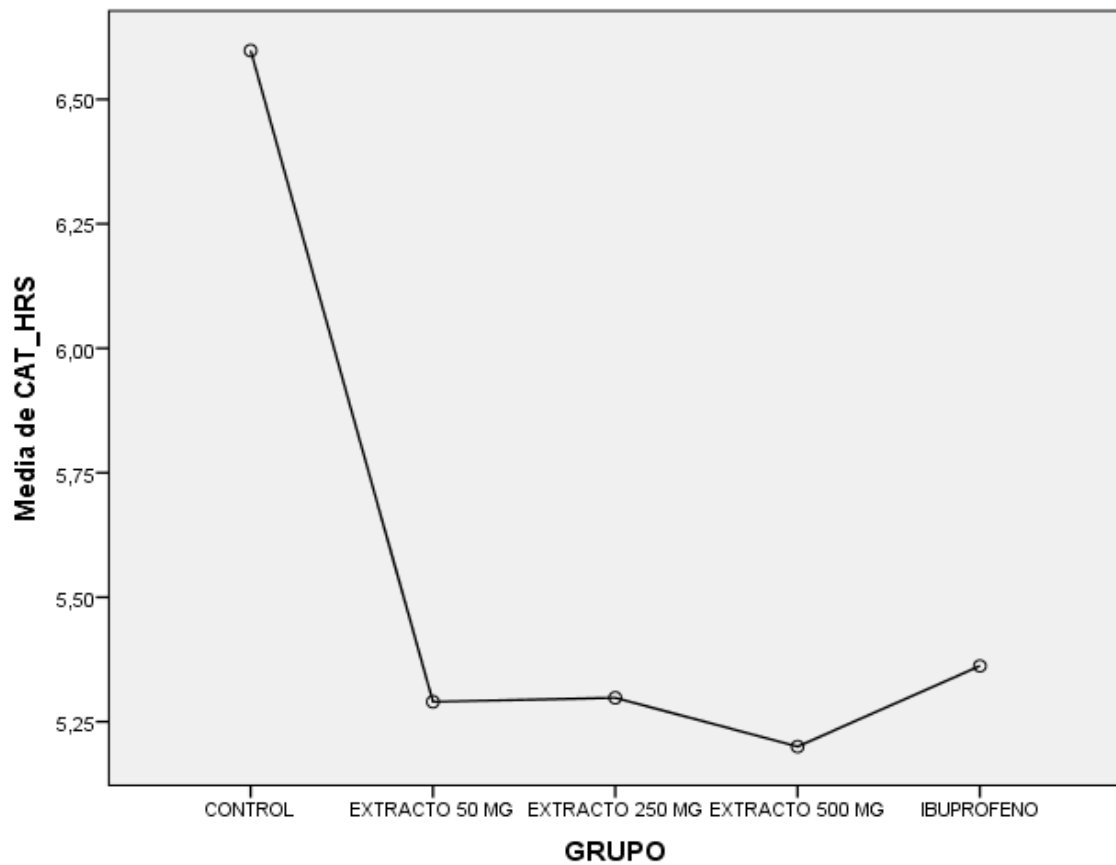


GRAFICO N°9: Medidas de inhibicion de inflamacion de diferentes grupos experimentales después de catorce horas de inducir al método edema subplantar de ratas albinas.

4.2. Contrastación de hipótesis

Se acepta la hipótesis planteada (Sí presenta efecto antiinflamatoria las concentraciones en una hora) y se rechaza la hipótesis nula (No presenta efecto antiinflamatorio las concentraciones en una hora), ya que al aplicar el método estadístico por análisis de varianza (ANOVA), se aprecia que el efecto del extracto de la hoja recién comienza.

Se acepta la hipótesis planteada (Sí presenta efecto antiinflamatoria las concentraciones en cuatro horas) y se rechaza la hipótesis nula (No presenta efecto antiinflamatorio las concentraciones en cuatro horas), ya que al aplicar el método estadístico por análisis de varianza (ANOVA), nos demuestra una significatividad menor a 0.05 ($p < 0.05$).

Se acepta la hipótesis planteada (Sí presenta efecto antiinflamatoria las concentraciones en catorce horas) y se rechaza la hipótesis nula (No presenta efecto antiinflamatorio las concentraciones en catorce horas), ya que al aplicar el método estadístico por análisis de varianza (ANOVA), nos demuestra una significatividad menor a 0.05 ($p < 0.05$).

Se acepta la hipótesis general al comprobar que las tres concentraciones tienen efecto antiinflamatorio del extracto seco metanólico de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo"

4.3. Discusión de resultados

En la tabla N° 4 se tiene la muestra de hoja la cual fue peso 1286 g, posteriormente se llevó a secar a la estufa el peso obtenido fue 558 g de la muestra de hoja seca. Se determina la humedad obteniendo 56.6%. Como se observa la diferencia entre los pesos de la hoja de planta es considerable.

En la tabla N° 5 se determinó el porcentaje de rendimiento de las extracción 1.6%, el rendimiento de extracción es bajo ya que se observó en otros trabajos de investigación es mayor 6% a 16% de rendimiento.

En la tabla N°6 se observa las diferentes solubilidades que tiene el extracto de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C donde el metanol posee la mayor solubilidad debido a que el solvente es polar y por lo tanto disuelve el analito semejante.

En la tabla 7 el resultado del screening fitoquímico se identificó los principales grupos constituyentes químicos en el extracto metanólico de las hojas, se identifica la presencia de compuesto fenólicos y flavonoides. Por otro lado se identificó un grupo de alcaloides con los reactivos de Dragendorf, Mayer Bertrand y Sonnensehein, teniendo mayor presencia con el reactivo de Dragendorf, lo cual nos puede indicar que esta planta al ser consumida puede tener un grado de toxicidad. Se tomó como fuente de referencia Olga Lock de Ugaz.

Los resultados obtenidos en los gráficos N°15, N°16, N°17 y N°18, se observan que a las absorbancias indicadas se proponen las estructuras respectivas como: 5,7-dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona; 5,7-dihidroxi-8-metoxiflavona; 4',5,7-trihidroxi-2,6-dimetoxiflavona; 3',4',5,7-tetrahidroxi-8-metoxiflavona, estas estructuras que se proponen de tomaron como fuentes de referencias Olga Lock de Ugaz y T.J.Mabry,K.R.Markham and M.B.Thomas.

Como se puede observar en la tabla N°8, los valores pertenecientes a los animales de experimentación de los grupos de 50, 250, 500 mg/Kg e ibuprofeno, obtenidos durante la primera hora de haberlas inducido, se aprecia que el efecto del extracto de las hojas recién comienza.

Como se observa en la tabla N°11 que las concentraciones de 50, 250 y 500 mg/Kg. de extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo", los valores obtenido a las 4 horas de haberlas inducido, se evidencia que la el extracto está cumpliendo con el objetivo trazado, disminuir la inflamación ocasionado por la carragenina.

Como se observa en la tabla N°14 que las concentraciones de 50, 250 y 500 mg/Kg. de extracto metanólico de las hojas de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”, presenta valores muy significativos a las 14 horas de haberlas inducido con carragenina, esto quiere decir que el extracto cumple con su actividad antiinflamatoria.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. Se observa que en las concentraciones 50 mg/Kg, 250 mg/Kg y 500 mg/Kg en una hora de haberle administrado extracto seco metanólico de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” presentan efecto antiinflamatorio, existe mayor disminución de la inflamación en la concentración 50 mg/Kg.
2. Se observó que en las tres concentraciones hay una disminución de la inflamación de la pata de las ratas albinas en cuatro horas de haberle administrado extracto seco metanólico de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”. Existe una mayor disminución significativa de inflamación en las concentraciones 50 y 250 mg/Kg.
3. Se observó que en las tres concentraciones hay una disminución de la inflamación significativa de la pata de las ratas albinas en catorce horas de haberle administrado extracto seco metanólico de *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”. Existe una mayor disminución significativa de inflamación en la concentración 500 mg/Kg.
4. También se demostró y encontró que la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” tiene 4 metabolitos secundarios tipo flavonas: (5,7-dihidroxi-4,6-dimetoxiflavona; 5,7-dihidroxi-8-metoxiflavona; 4,5,7-trihidroxi-2,6-dimetoxiflavona; 3,4,5,7-tetrahidroxi-8-metoxiflavona) que influyen en el proceso de inhibición de la inflamación.

5.2. Recomendaciones

1. Se recomienda realizar otros estudios para identificar otros metabolitos secundarios, durante el análisis fitoquímico de la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo”, ya que se observó abundantes metabolitos de sustancia de naturaleza básica y glicósidos los cuales pueden tener otra actividad terapéutica.
2. Se recomienda hacer estudios de toxicidad aguda de la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C “Ishpingo” para saber su DL₅₀. Actualmente se utiliza de manera popular por su efecto antiinflamatorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Nayra, E. "Estudio Fitoquímico Preliminar y Actividad Antioxidante de las Hojas de *Achyrocline alata* DC, (Huirá-Huirá) y su relación con su contenido de compuestos fenólicos totales". Arequipa. 2014
2. SUEL, C. "Efecto hipocolesterolemiante y toxicidad aguda del extracto seco hidroalcohólico de *Achyrocline alata* "Huirá-Huirá" en ratas albinas". CUSCO. 2012
3. Contreras, J. "Evaluación de la actividad antioxidante y el efecto citotóxico de los extractos etanólicos, etéreos y fracciones de las inflorescencias y hojas de *Achyrocline bogotensis* (asterácea)". Colombia. 2005
4. Rodríguez, M. "Caracterización citogenética y Contenido de ADN de especies nativas de Marcelas (*Achyrocline*; Asterácea)". Montevideo Uruguay. 2009
5. García, P. "Inflamación" Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. Vol. 102, Nº. 1, pp 91-95, 2008
6. Collins, T. "Inflamación aguda y crónica" capítulo 3 p.53-68 disponible en: <http://patologiafesc.webcindario.com/archivos/Capituloinflam3a%5B1%5D.pdf>
7. Rivas, R. Patología Pulpar: reacción inflamatoria crónica, UNAM [02-12-17] disponible en: <http://www.iztacala.unam.mx/rrivas/NOTAS/Notas7Patpulpar/infcronica.html>
8. Cerruti, T "Plantas medicinales cultivo, importancia y formas de uso" Primera edición. Iquitos – Perú, p 15-23, Marzo 2000

9. Servicio Técnicos de Investigación. Universidad de Alicante [02-12-17] disponible en: <https://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-rayos-x-de-monocristal-y-espectroscopias-vibracional-y-optica/espectroscopia-ultravioleta-visible.html>
10. LEAL, M. “Evaluación del efecto antiinflamatorio de un concentrado de frutos de *Aristotelia chilensis* en un modelo de inflamación aguda subplantar inducida por carragenina en ratas”. Valdivia – Chile. 2009
11. M. Rodríguez, C. Mazzella “Orientación genética y evolución caracterización citogenética y contenido de ADN de especies nativas de Marcelas (Achyrocline; Asterácea)”; Universidad de la República Facultad de Ciencias. Uruguay 2009
12. S. Martínez - Flórez. “Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes”. Nutr. Hosp. (2002) XVII (6) 271-278.
13. García, A “Metabolismo secundario de plantas”. p. 119-145, Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid – España 2009.
14. S. Terreros. “Caracterización morfológica de arbustos con potencial para prácticas de protección de suelos en las provincias de Jauja y Concepción, Junín”. Universidad Nacional Agraria la Molina. Perú 2016
15. A Pérez, A López, I Grau León. “Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)” Rev Cubana Estomatol v.39 n.2 Ciudad de La Habana, Mayo. 2002
16. F Fuentes, R Mendoza, A Rosales, R Cisneros. “Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio”, Lima. 2008: disponible en: http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA_ANIMALES_RATON.pdf

17. I. Tamayo, "Análisis de varianza con spss 8.0", disponible en:
http://www.ugr.es/~imartin/TEMA5_ANOVA.pdf
18. Balanzas analíticas y de precisión v2.3. Disponible en: <http://www.kern-sohn.com/manuals/files/Spanish/770-GS-GJ-BA-s-0023.pdf>
19. Cromatografía en placa fina, disponible en
<https://www.uam.es/docencia/jppid/documentos/practicas/actuales/guion-p6.pdf>
20. M. Zanatta. "Farmacología General", disponible en:
<https://m4ytex.files.wordpress.com/2010/09/farmacologia-basica.pdf>. 2010
21. M. Leal. "Evaluación del efecto antiinflamatorio de un concentrado de frutos de *Aristolelia chilensis* en un modelo de inflamación aguda subplantar inducida por carragenina en ratas", Universidad Austral de Chile. Valdivia-Chile. 2009.
22. L. García, V. Trebes, "Determinación del extracto seco total densimétrico". Argentina 2013. Disponible es
http://www.inv.gov.ar/inv_contenidos/pdf/foro/2013/20-INV-ExtractoSecoDensimetrico_19-09-13.pdf
23. L Saldaña, D García. "Evaluación fitoquímica y actividad antibacteriana In vitro de *Clidemia hirta* L Don "Mullaca morada" por el método de disco difusión, frente a microorganismos patógenos" p.40, Perú. 2016.
24. S Martínez, J Gonzales, J Culebras. "Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes", Nutr. Hosp. XVII ISSN 0212-1611 • CODEN NUH0EQ. España 2002.

- 25.A Avalos, E Pérez. "Metabolismo secundario de plantas", Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145 ISSN: 1989-3620; p. 119 – 120, España 2009
- 26.P. Bejarano. "Ibuprofeno y Analgesia" Madrid, España, p.39. Volumen 5 Enero/Febrero 2006. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/reumatologia/propiedades_del_ibuprofen.pdf
- 27.M. Palacios. "Metabolitos primarios y secundarios", Farmacognosia y Fitoquímica Universidad Católica "Los Ángeles de Chimbote" Perú. Disponible en: http://files.selvafarma.webnode.es/200000192-6def76ee8d/TEMA_04.pdf
28. Química Orgánica "solventes orgánicos". Disponible en: http://electrofilos.blogspot.pe/2009/04/solventes-organicos_7777.html
- 29.O. Lock. "Investigación Fitoquímica métodos en el estudio de productos naturales". Segunda edición. Pontificia Universidad Católica del Perú Fondo editorial. Lima-Perú. 1994
- 30.T. Mabry, K. Markham, M. Thomas. "The systematic identification of Flavonoids". New York-Heidelberg-Berlín. 1970

ANEXOS

ANEXO N°1

Constancia de la planta *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C "Ishpingo"



Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Integración Nacional y el Reconocimiento de Nuestra Diversidad"

CONSTANCIA N°. 338-USM-2012

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

La muestra vegetal (Planta completa), recibida de **Jesús Iván SOLIS CERNA**, de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Achyrocline alata* (H.B.K) D.C.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: *Achyrocline*

ESPECIE: *Achyrocline alata* (H.B.K) D.C



Nombre vulgar: "Ishpingo".

Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 19 de octubre de 2012



Haydeé Montoya Terreros
Dra. HAYDEÉ MONTOYA TERREROS
JEFA DEL HERBARIO DE SAN MARCOS (USM)
JEFE

ANEXO N°2

Método de edema subplantar en ratas

Modelo
4.3

Test de edema subplantar en ratas

MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS

Método: Test de actividad antiinflamatorio "Edema subplantar por Carragenina" Según Winter et al., 1970.

Procedimiento:

1. Aclimatación mínimo dos días en jaulas metálicas con viruta de madera; en condiciones estándares iluminación y temperatura para eliminar el efecto del estrés, con alimentos y agua a libertad. Se pueden utilizar otras cepas de ratas.
2. Se utilizarán ratas machos cepa Holtzman con un peso promedio (210 ± 10 g), las cuales serán aleatorizadas, pesadas y marcadas, para formar grupos de seis animales cada uno como indica el siguiente diseño.

Grupos	Tratamientos	Dosis
1	Solución suero fisiológico	4mL/Kg
2	Carragenina + Ibuprofeno	120 mg/Kg
3	Carragenina + Prednisona	1.2 mg/Kg
4	Carragenina + Producto a evaluar	Dosis 1
5	Carragenina + Producto a evaluar	Dosis 2
6	Carragenina + Producto a evaluar	Dosis 3

3. Se administraran los extractos a dosis diferentes y solución control de Tween 80 al 1% y otros grupos una dosis del agente antiinflamatorio previamente y los estándares farmacológicos de Ibuprofeno a dosis del 120 mg/Kg y Prednisona 1.2 mg/Kg de peso.
4. Media hora después de la administración de las soluciones, se inyectará 0.1 ml de una disolución acuosa al 1% de carragenina en la aponeurosis plantar derecha de las ratas.
5. La medida del diámetro del volumen de la pata derecha inflamada se realizará por medición directa con un micrómetro digital en la zona plantar. Esta medición se realizará 1 h, 4 h y 14 horas después del inicio del experimento.
6. Por diferencia entre diámetros de las patas medidas antes de la inflamación y a los tiempos 1 h, 4 h y 14 horas se calculará el porcentaje de inflamación producido.
7. Se tomará como indicador: Inflamación pedal y los valores de proteína C reactiva (PCR).
8. La unidad de medida: Volumen de inflamación pedal en mililitros (mL) o en milímetros (mm).

ANEXO N° 3

MATRIZ DE CONSISTENCIA

MATRIZ DE CONSISTENCIA

EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE ACHYROCLINE ALATA (HBK) DC "ISHPINGO" EN EDEMA SUBPLANTAR INDUCIDO EN RATAS ALBINAS						
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	METODOLOGIA	INSTRUMENTOS
<p>GENERAL: ¿Presentará efecto antiinflamatorio el extracto metanólico de las hojas de Achyrocline alata (H.B.K) D.C. "Ishpingo" en edema subplantar inducido en ratas albinas?</p> <p>ESPECIFICOS: ¿Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de Achyrocline alata (H.B.K) D.C. "Ishpingo" influye luego de una hora en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas?</p>	<p>GENERAL: Determinar si el extracto metanólico de las hojas de Achyrocline alata (H.B.K) D.C. "Ishpingo" tiene el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p> <p>ESPECIFICOS Determinar si las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de Achyrocline alata (H.B.K) D.C. "Ishpingo" influye luego de una hora en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p> <p>Determinar si las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de Achyrocline alata (H.B.K) D.C. "Ishpingo" influye luego de una hora en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p>	<p>GENERAL: El extracto metanólico de las hojas de Achyrocline alata (H.B.K) D.C. "Ishpingo" tiene efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p> <p>ESPECIFICOS: Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de Achyrocline alata (H.B.K) D.C. "Ishpingo" influye positivamente luego de una hora en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p> <p>Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de Achyrocline alata (H.B.K) D.C. "Ishpingo" influye positivamente</p>	<p>VI: extracto metanólico de la hoja de achyrocline alata (HBK) DC "Ishpingo"</p> <p>VD: efecto antiinflamatorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Concentración al 50 mg. ✓ Concentración al 250 mg. ✓ Concentración a 500 mg. ✓ Metabolitos 	<p>Diseño: Experimental Puro</p> <p>Enfoque: Cuantitativo</p> <p>Nivel: Demostrativo</p> <p>Tipo: Aplicada</p> <p>Población: 25 ratas albinas. (Macho cepa Holtzman).</p> <p>Muestra: El extracto metanólico de la hoja de Achyrocline alata (HBK) DC "Ishpingo"</p> <p>Técnica: Inducción de la carragenina en la pata de la rata</p> <p>Instrumento: Programa de IBM SPSS versión 22 en idioma español.</p>	<p>Edema sub plantar por carragenina" según Winter et al. 1970.</p>

<p>¿Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo" influye luego de catorce horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas?</p> <p>¿Cuáles son los metabolitos del extracto metanólico de las hojas de <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo" que influyen en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas?</p>	<p>de cuatro horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p> <p>Determinar si las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo" influye luego de catorce horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p> <p>Identificar los metabolitos del extracto metanólico de las hojas de <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo" que influyen en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p>	<p>luego de cuatro horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p> <p>Las concentraciones del extracto metanólico de las hojas de <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo" influye positivamente luego de catorce horas en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p> <p>Los metabolitos de extracto metanólico de las hojas de <i>Achyrocline alata</i> (H.B.K) D.C "Ishpingo" sí influyen en el efecto antiinflamatorio en edema subplantar inducido en ratas albinas.</p>				
--	---	---	--	--	--	--

