



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**“EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
LAS HOJAS Y TALLOS DEL *Senecio calvus Cuatrecasas*
(HUAMANRIPA SERRANA) EN RATAS CON EDEMA PLANTAR
INDUCIDAS CON CARRAGENINA”**

**Tesis para optar el Título Profesional de Químico
Farmacéutico y Bioquímico**

TESISTA:

Bach. Ajahuana Villafan Teresa Mónica

ASESOR: Dra. Q.F. Heddy Teresa Morales Quispe

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A Dios, a mis padres Esther Villafan Santos y Fernando Ajahuana Ramos, por brindarme su apoyo y me enseñaron a superarme cada día.
A mi hermano Jesús Ajahuana, por su ayuda incondicional en la elaboración de mi tesis.

AGRADECIMIENTO

A mi asesora, Dra. Q.F. Heddy Teresa Morales Quispe que con su conocimiento y paciencia influyó con sus lecciones y experiencia para terminar este trabajo de tesis.

A mi Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por abrirme las puertas para mi formación profesional, y a los docentes de la Facultad, por su apoyo y sus enseñanzas que ayudaron mucho para el desarrollo de este proyecto de tesis con su gran conocimiento.

A mis más queridos colegas Milagro Vargas, Paola Quintana, Fabiola López, Alexandra Cruzat, Jordan Fabián Hornes por su apoyo constante y afecto.

ÍNDICE

Data de sustentación

Dedicatoria

Agradecimiento

Índice de tablas

Índice de figuras

Índice de anexos

Resumen

Abstract

Introducción.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	3
1.2 Problemas	4
1.2.1 Problema general	4
1.2.2 Problemas específicos	4
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos.....	4
1.4 Justificación.....	5
1.5 Limitaciones metodológicas	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 Estado del arte	7
2.1.1 Antecedentes nacionales	7
2.1.2 Antecedentes extranjeras.....	8
2.2 Bases teóricas y/o legales.....	11
2.2.1. <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa o wamanripa).....	11
2.2.2 Extracción.....	18
2.2.3 Marcha fitoquímica	19
2.2.3 Análisis cromatográfico	20
2.2.4 Método según Arroyo (edema plantar)	21
2.2.5 La Piel	22
2.2.6 La inflamación	26
2.2.7 Sistema inmunitario (SI) y respuesta inmune (RI)	28
2.2.8 Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES).....	30

2.3 Hipótesis.....	35
2.3.1 Hipótesis general.....	35
2.3.2 Hipótesis específicos.....	35
2.4 Definición de términos básicos.....	35
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	38
3.1 Tipo , diseño y nivel de la investigación	38
3.2 Población y muestra	38
3.3 Equipos, materiales y reactivos.....	39
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	41
3.4.1 Técnica de recolección de datos	41
3.4.2 Instrumento de recolección de datos.....	41
3.4.3 Validación.....	41
3.5. Procedimiento	42
3.5.1 Colección de la especie vegetal a estudiar	42
3.5.2 Obtención del extracto etanólico de las hojas y tallo de <i>Senecio calvus</i> <i>Cuatrecasas</i>	42
3.5.3 Análisis fisicoquímico del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio</i> <i>calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana)	43
3.5.4 Marcha fitoquímica	44
3.5.5 Cromatografía de capa fina	45
3.5.6 Evaluación del efecto antiinflamatorio de extracto etanólico del <i>Senecio calvus</i> <i>Cuatrecasas</i> “Huamanripa serrana” (Método del edema plantar)	46
3.5.7 Estudio histológico	49
3.5.8 Dosis letal media	49
3.6 Procesamiento de datos.....	52
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	53
4.1 Presentación de resultados.....	53
4.1.1 Resultado del porcentaje de rendimiento del extracto:.....	53
4.1.2 Prueba de solubilidad.....	53
4.1.3 Tamizaje fitoquímico.....	54
4.1.4 Cromatografía capa fina.....	55
4.1.5 Prueba de hipótesis del efecto antiinflamatorio en el extracto etanólico del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i>	57

4.1.6 Prueba histológica	68
4.1.7 Dosis letal media	72
4.2. Discusión de resultados.	75
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	78
5.1 Conclusiones.....	78
5.2 Recomendaciones.....	79
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
ANEXO.....	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 : Taxonomía del <i>Senecio calvus</i> Cuatrecasas emitida por Biólogo. Hamilton Beltrán (Ver anexo n°1).....	13
Tabla N° 2: Potenciales efectos farmacológicos de diferentes flavonoides en humanos y animales.	15
Tabla N° 3: Clasificación de los AINES según su índice COX-2/COX-1	31
Tabla N° 4 : Tabla de solventes ordenados de acuerdo a su polaridad	43
Tabla N° 5: Reconocimiento fitoquímico de los metabolitos secundarios	45
Tabla N° 6: Concentraciones de las sustancias administradas a cada grupo de trabajo para la evaluación	47
Tabla N° 7: Concentraciones de las sustancias administradas a cada grupo de trabajo para su evaluación del efecto antiinflamatorio.....	48
Tabla N° 8: Signos y síntomas evaluados.....	51
Tabla N° 9: Tratamientos de experimentación en dosis letal media.....	51
Tabla N° 10: Rendimiento del extracto.....	53
Tabla N° 11: Marcha de solubilidad del extracto seco de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus</i> Cuatrecasas	53
Tabla N° 12: Tamizaje fitoquímico del extracto seco de las hojas y tallos del <i>Senecio</i> <i>calvus</i> Cuatrecasas.....	54
Tabla N° 13: Frente de retención (Rf) del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus</i> Cuatrecasas	56
Tabla N° 14: Revelado con la luz ultravioleta de las cromatoplacas de los extractos	56
Tabla N° 15 Evaluación del modelo de análisis de varianza (ANOVA) de la magnitud en mm (milímetro) de la inflamación.	58
Tabla N° 16: Comparación post-hoc de las medias de la magnitud en mm (milímetros) de la inflamación entre tratamiento a evaluar y momento de evaluación (Test de Tukey)	59
Tabla N° 17: Momento a comparar: 0 min.....	59
Tabla N° 18: Momento a comparar: 30 min.....	60
Tabla N° 19: Momento a comparar: 60 min.....	61

Tabla N° 20: Momento a comparar: 120 min.....	62
Tabla N° 21: Momento a comparar: 360 min.....	63
Tabla N° 22: Momento a comparar: 480 min.....	64
Tabla N° 23: % Porcentaje actividad antiinflamatoria para cada momento experimental.....	66
Tabla N° 24: Análisis de la aceptación de la hipótesis general como respuesta inductiva a los resultados estadísticos de sus hipótesis específicas.....	67
Tabla N° 25: Resultado de la toxicidad aguda oral.....	72
Tabla N° 26: Resumen de observaciones.....	72
Tabla N° 27: Medida del peso del hígado al evaluar toxicidad.....	73
Tabla N° 28: Medida del peso del riñón al evaluar toxicidad.....	73
Tabla N° 29: Evolución temporal de la media del peso corporal del ratón.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Ejemplos de algunos flavonoides descritos para el género Senecio.....	17
Figura N° 2: Ejemplos de algunos terpenos descritos para el género Senecio	18
Figura N° 3: Partes de la sección transversal de la piel	23
Figura N° 4: Fases evolutivas de los procesos inflamatorios	28
Figura N° 5 : Ácido acetilsalicílico	31
Figura N° 6: Naproxeno sódico	33
Figura N° 7: Esquema del tratamiento de la planta	43
Figura N° 9 : Evaluación del efecto antiinflamatorio en relación con el tiempo y el tratamiento de los extractos %	65
Figura N° 10 : Piel de rata 40x estado normal.....	68
Figura N° 11: Piel rata 40x + carragenina+ suero fisiológico.....	69
Figura N° 12 : Piel rata + carragenina + <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> extracto 125mg/kg 40X	69
Figura N° 13 : Piel rata + carragenina + <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> extracto al 250mg/kg 40X	70
Figura N° 14 : Piel rata + carragenina + <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> extracto al 500mg/kg 40X	70
Figura N° 15: Piel rata + carragenina + AAS 0.25% 40X	71
Figura N° 16: Piel rata + carragenina + Naproxeno sódico 0.5% 40X.....	71

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1: Certificación botánica de la especie <i>Senecio Calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana)	88
Anexo N° 2 : Matriz de consistencia.....	89
Anexo N° 3 : Matriz de operacionalización de variables.....	91
Anexo N° 4: Ficha de recolección de datos “Para la evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) en ratas con edema plantar inducidas con carragenina en ratas” (Juicio de expertos).....	92
Anexo N° 5: Fotos del trabajo de investigación (tesis)	92
Anexo N° 6: Matriz de validación por juicio de expertos.....	92

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación es determinar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos de *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) en ratas con edema plantar en diferentes concentraciones: 125 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg. Esta planta se recolectó en la región de Ancash (Universidad Santiago Antúnez de Mayolo) y fue clasificada taxonómicamente por el biólogo Hamilton Beltran.

Para la determinación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas y tallos de *Senecio calvus Cuatrecasas*, se llevaron a cabo pruebas de detección fitoquímicas, solubilidad y cromatografía.

Con respecto a la evaluación del efecto antiinflamatorio, se utilizó la técnica para inducir edema plantar con carragenina al 1 por ciento (método de Arroyo) con una población de 30 ratas albinas machos de 2 meses y medio de edad que se distribuyeron en 6 grupos: control (1 por ciento de carragenina), ácido acetilsalicílico, naproxeno sódico y el extracto de etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas* en concentraciones de 125 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg. Usando el análisis estadístico de Anova se evidenció un mayor efecto antiinflamatorio en la concentración de 500 mg/kg (38.99%) en comparación con las otras concentraciones de 125 mg/kg (22.84%), 250 mg/kg (31,17%) y el patrón ácido acetilsalicílico (24.70%), pero menor porcentaje que el naproxeno sódico (43,71%).

Se arribó a la conclusión de que el extracto etanólico de las hojas y tallos de *Senecio calvus Cuatrecasas* (huamanripa serrana) tiene un efecto antiinflamatorio y se ha demostrado que es seguro porque es una sustancia no tóxica en ratas según la técnica de dosis letal.

Palabras clave: *Senecio calvus Cuatrecasas* "huamanripa serrana"; antiinflamatorio, carragenina.

ABSTRACT

The objective of the present investigation is to determine the anti-inflammatory effect of the ethanolic extract of the leaves and stems of *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) in rats with plantar edema in different concentrations: 125 mg / kg, 250 mg / kg and 500 mg / kg. This plant was collected in the region of Ancash (University Santiago Antúnez de Mayolo) and was classified taxonomically by the biologist Hamilton Beltran.

For the determination of the secondary metabolites present in the ethanolic extract of the leaves and stems of *Senecio calvus Cuatrecasas*, phytochemical detection tests, solubility and chromatography were carried out.

Regarding the evaluation of the anti-inflammatory effect, the technique to induce plantar edema with 1% carrageenan (Arroyo method) was used with a population of 30 male albino rats of 2 and a half months of age that were divided into 6 groups: control (1 percent carrageenan), acetylsalicylic acid, naproxen sodium and the ethanol extract of *Senecio calvus Cuatrecasas* in concentrations of 125 mg / kg, 250 mg / kg and 500 mg / kg. Using the statistical analysis of Anova showed a greater anti-inflammatory effect in the concentration of 500 mg / kg (38.99%) compared to the other concentrations of 125 mg / kg (22.84%), 250 mg / kg (31.17%) and the acetylsalicylic acid pattern (24.70%), but lower percentage than naproxen sodium (43.71%).

It was concluded that the ethanolic extract of the leaves and stems of *Senecio calvus Cuatrecasas* (huamanripa serrana) has an anti-inflammatory effect and has been shown to be safe because it is a non-toxic substance in rats according to the lethal dose technique.

Keywords: *Senecio calvus Cuatrecasas* "huamanripa serrana"; anti-inflammatory, carrageenan.

INTRODUCCIÓN

A nivel global, actualmente se invierte mucho en el desarrollo de nuevos medicamentos para el tratamiento de las enfermedades, pero aún no ha sido abordado los daños adversos que estas generan, cuando la respuesta para este problema ha estado desde la antigüedad en la medicina tradicional la cual ha desempeñado un rol importante aliviando las enfermedades y el dolor.

Según una encuesta realizada por la OMS, un tercio de la población mundial, no tiene acceso a los medicamentos considerados básicos por los altos costos de estas, mientras a su vez el 80 por ciento de la población prefieren otra alternativa farmacéutica: la medicina tradicional. En base a ello existe un gran interés por la obtención del mayor conocimiento y uso de medicinas alternativas como tratamiento; asimismo hay investigaciones científicas que avalan los beneficios de diversas plantas medicinales en diversas afecciones. ⁽¹⁾

En el Perú, se sabe que existe una inmensa variedad de plantas medicinales las cuales muchas de esas, aún desconocidas, poseen alguna propiedad.

La presente investigación fruto a esta problemática evaluó in vivo el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* "Huamanripa serrana", mediante el uso de los modelos de Arroyo en donde se trabajó con la reducción del edema plantar inducido con carragenina al 1 por ciento en modelos biológicos, los cuales fueron ratas, con el objetivo de evaluar la eficiencia antiinflamatoria a distintas concentraciones así como compararlo con fármacos convencionales.

La presente tesis expone en cinco capítulos el proceso de desarrollo de la investigación realizada a saber:

El capítulo 1 aborda el problema, los objetivos, la justificación y las limitaciones metodológicas.

El capítulo 2 desarrolla el marco teórico, exponiendo los antecedentes, las hipótesis y la definición de términos básicos.

El capítulo 3 expone la metodología asumida en lo referente al tipo y diseño de investigación, la población y la muestra, los equipos y materiales utilizados

procedimiento y procesamiento de los datos.

El capítulo 4 presenta los resultados.

El capítulo 5 las conclusiones y recomendaciones.

CAPÍTULO I:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

Las especies vegetales de uso medicinal constituyen productos de valor en el tratamiento de la salud, aunque no existen cifras exactas para evaluar el uso global de estas. Según lo estimado por la OMS la población que recurre de modo rutinario a la medicina tradicional sobrepasa el 80 por ciento del total. ⁽²⁾ El Perú es un país multidiverso en cuanto a la flora medicinal, ya que comprende alrededor de unas 25.000 especies de las cuales no todas han sido estudiadas pero los pobladores usan de manera rutinaria estas para suplir sus dolencias.

De otro lado, la acción bacteriológica, un traumatismo u otro tipo de dolencias que afectan a los tejidos lesionados, son los causantes de la inflamación.

El tratamiento inoportuno o inadecuado de una inflamación es la raíz de la aparición de reacciones de hipersensibilidad así como de enfermedades crónicas, tales como fibrosis pulmonar, artritis reumatoide y arterosclerosis.

Se estima que el 60 por ciento de personas de edad adulta mayor padece de artrosis, la cual es una enfermedad degenerativa del cartílago, que tiene su antecedente en las inflamaciones mal tratadas. Sin embargo está establecido que el 65 por ciento de la población de 35 a 70 años padece de artrosis. ⁽³⁾

La problemática descrita indica que los índices de las enfermedades mencionadas sigan en aumento, la falta de control adecuado, la no existencia de servicios de salud que brinden calidad en su atención y ofrezcan medicamentos a costos económicos para los sectores poblacionales de menos ingresos.⁽⁴⁾

1.2 Problemas

1.2.1 Problema general

¿El extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) tendrá efecto antiinflamatorio en ratas albinas con edema plantar inducidas con carragenina al uno por ciento?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿El extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) tendrá algunos tipos de metabolitos secundarios que generan la actividad antiinflamatoria?
2. ¿Cuál será la concentración que contiene la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana)?
3. ¿Tendrá actividad antiinflamatoria el extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) en comparación con los fármacos antiinflamatorios como el naproxeno sódico y el ácido acetilsalicílico?

1. 3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) en ratas albinas con edema plantar inducidas con carragenina.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar qué tipo de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) poseen el efecto antiinflamatorio.

2. Determinar la concentración que contiene la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana).

3. Comparar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) en comparación con los fármacos antiinflamatorios como el naproxeno sódico y el ácido acetilsalicílico.

1.4 Justificación

La investigación en su procedimiento se propuso evaluar el efecto antiinflamatorio que posee el *Senecio calvus Cuatrecasas* “Huamanripa serrana” en ratones con edema plantar. Con ello, obtener datos para mostrar los efectos no estudiados con anterioridad, ya que por muchos años ha sido un vacío la utilización del *Senecio calvus Cuatrecasas* debido al desconocimiento de sus efectos y principio activos para los tratamientos de la inflamación y problemas respiratorios.

La investigación es relevante, ya que al emplear plantas medicinales, como la Huamanripa serrana, estas no generan efectos adversos en la población; lo que podrá mejorar notablemente los temas de salud en las inflamaciones.

Es pertinente dentro de un contexto donde el uso de medicamentos es una opción para su tratamiento en el Perú que posee una rica variedad de plantas medicinales. Los pobladores de Ancash han encontrado una manera de suplir sus dolencias mediante el *Senecio calvus Cuatrecasas* cual posee muchos flavonoides y alcaloides característicos de esta planta, por ende esta ha generado controversia en las investigaciones científicas pero solo ha sido estudiado su efecto expectorante más aún queda la duda del otro efecto por ello en este proyecto se estudiará el efecto antiinflamatorio cual fue dejado.

El propósito es sustituir al método convencional por la medicina tradicional cual es más económico y viable para las personas de escasos recursos a su vez

evitar las reacciones adversas causadas por los medicamentos.

1.5 Limitaciones metodológicas

La gran limitación fue la obtención de la cantidad exacta de las ratas para el presente estudio.

La medición de la pata izquierda de la rata sería más exacta si esta se realizara con un pletismómetro.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Estado del arte

2.1.1 Antecedentes nacionales

Jesús F. (2014) realizó la investigación “Evaluación de los Principios activos de *Senecio calvus* en la Formación de Biopelículas de contra *Pseudomonas aeruginosa*”, bacteria oportunista muy utilizada debido a que es una bacteria que forma rápidamente biopelículas. En este se mezclaron los cultivos de *P. aeruginosa* en fase de crecimiento junto a los extractos y fracciones de *S. calvus* para determinar el grado de inhibición de las biopelículas; para tal efecto se usaron concentraciones subinhibitorias. Los resultados arrojaron una inhibición de 92.9 y 76.4% en dos de los extractos y de hasta 88% en las fracciones cromatograficas, lo cual indica que *Senecio calvus* es un buen candidato para el aislamiento de una molécula inhibidora de biopelículas con potencial patentable.

Margarita C. Et. al (2017) en su proyecto “Evaluación del efecto antiinflamatorio en ratas albinas según el modelo edema plantar y efecto analgésico en ratones albinos según el modelo tail flick del extracto etanólico de *Dalea isidori Barneby* (Yerbechil)” determinó el efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de “Yerbechil”, empleando el método de edema plantar inducido por λ carragenina utilizando una población de 36 ratas albinas divididas en: un grupo control, tres grupos para dosis diferentes del extracto (125 mg/Kg, 250 mg/Kg y 500 mg/Kg) y dos grupos para fármacos patrones (Ácido acetilsalicílico 50 mg/Kg, Naproxeno sódico 50 mg/Kg), mediante un pletismómetro digital PANLAB LE7500, resultando con mayor efecto antiinflamatorio la dosis de 250mg/kg; mientras que para su efecto analgésico se evaluó con el método de retirada de la cola empleándose 36 ratones, divididos en 2 grupos para fármacos patrones (tramadol 20 mg/Kg y

paracetamol 400 mg/Kg) y cuatro grupos para dosis diferentes del extracto (125 mg/Kg, 250 mg/Kg, 500 mg/Kg y 750 mg/Kg); cuantificándose el efecto analgésico con un medidor Tail-Flick.

Siendo su mayor efecto analgésico la dosis de 125 mg/Kg y 250 mg/Kg. Finalmente, según la guía 23 de la OECD, se determinó un DL50 oral mayor a 5000 mg/Kg para el extracto etanólico.

2.1.2 Antecedentes extranjeras

Cuachtemoc P. (2013), en su estudio “Actividad antiinflamatoria y composición de *Senecio salignus Kunth*” (Universidad Autónoma de San Luis Potosí), México ⁸ se investigó la actividad antiinflamatoria de *Senecio salignus* en extractos de cloroformo y metanol de la planta que se probaron con 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA-) en el edema inducido en orejas de ratones. El extracto de metanol de la planta inhibió el edema en un $36 \pm 4,4\%$ en comparación con el control, mientras que el extracto de cloroformo mostró un nivel de inhibición aún mayor 64.1% . La actividad antiinflamatoria de esta fracción fue luego probada en el edema de oído inducido por TPA en ratones, y encontramos que la fracción activa podría inhibir el edema en un 46.9% . El efecto antiinflamatorio de la fracción también se analizó en el edema de pata inducido por carragenina en ratas a dosis de 100 mg /kg; una reducción de $58.9 \pm 2.8\%$ del edema se observó 4 h después de la administración de carragenano, y el efecto se mantuvo durante 5 h.

Brenda Alvarado. (2014), en su estudio “Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Senecio confusus*”⁽¹⁰⁾ La infusión del *Senecio confusus* se evaluó en un cuadro inflamatorio inducido por el medicamento de carragenina. Dos dosis (5 y 10 mg / kg) del extracto acuoso del *Senecio confusus* de los cuales fueron probados en suero fisiológico e indometacina usados como controles midiendo el hinchamiento con un pletismómetro digital. El porcentaje de inhibición observado mostró que la dosis de 10 mg/kg tuvo una mayor actividad antiinflamatoria en la primera hora, mientras que la dosis de 5 mg/kg tuvo una mayor actividad antiinflamatoria. Sin embargo, estas dosis

muestran menos efecto de lo obtenido por el tratamiento con indometacina. Mientras que al observar el tejido digestivo de los animales después del tratamiento, se observó un mayor daño en ratas tratadas con indometacina. Así que aunque el extracto de *Senecio confusus* mostró un menor efecto antiinflamatorio a las dosis utilizadas, causa menos daño al organismo.

Claudia V. (2010), en su estudio “Caracterización estructural de los metabolitos del género *Senecio polypodioides*” IPN MEXICO. ⁽¹¹⁾

En el estudio fitoquímico de los extractos hexánico de la parte aérea y metanólico de la raíz de *Senecio polypodioides* (Asteráceae) se aislaron por cromatograma en columna abierta el nuevo eudesmanoide y los alcaloides pirrolizidinos ya descritos sarracina N-óxido, sarracina y 7 β -angeloiloxi-1-metilen-8 α -pirrolizidina. Se presenta la caracterización estructural de los compuestos aislados de los extractos hexánicos de la parte aérea y metanólico de la raíz de *Senecio polypodioides*. La asignación de los datos espectroscópicos del resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C se hizo a través de análisis en una y dos dimensiones (gCoty, gHYQC, gHMBC, NOE difference y NOESY 2D) así como el análisis conformacional llevado a cabo a través de análisis de constantes de acoplamiento.

Chengli Y. (2016), en su investigación “Los efectos antiinflamatorios y analgésicos de *Senecio scandens Buch-Ham* extractos de etanólico (SSBHE).” Capital medical university, China ⁽¹²⁾; tuvo como objetivo estudiar los efectos antiinflamatorios y analgésicos de los extractos de etanólico del *Senecio scandens* y observar su mecanismo de acción preliminarmente. La reacción de retorcimiento HAC y la prueba de placa caliente se usaron para observar el efecto analgésico del *Senecio scandens*. Los métodos de la hinchazón de la oreja del ratón inducida por el xileno, la hiperplasia del tejido de granulación de la rata inducida por la bola de algodón y el edema de la pata de la rata estudian el efecto antiinflamatorio del *Senecio* mediante la determinación del formaldehído en ratones, el experimento de analgesia y el pie de rata exudado inflamatorio del contenido de PGE2 para estudiar los mecanismos antiinflamatorios y analgésicos.

Demostó que el extracto de etanólico del *Senecio scandens* puede disminuir significativamente los tiempos de la torsión corporal de los ratones y aumentar significativamente el umbral de dolor de los ratones, la hinchazón de la oreja de ratón inducida por xileno, indujo hiperplasia de tejido de granulación de rata inducida por bola de algodón y la Inflamación de la pata de la rata produjo una reducción de una inflamación pudiendo reducir el contenido de exudado inflamatorio de PGE2 garras del pie garras.

Kai-Jun Xiao (2014), en su estudio “Actividad Anti Inflamatoria Y Composición Química de Los Aceites Esenciales de *Senecio flammeus* Universidad de tecnología. China ¹³ pudo determinar un total de 48 componentes que representan el 98.41% de los aceites totales fueron identificados. Los principales compuestos en los aceites fueron α -farneseno (11.26%), cariofileno (8.69%), ácido n-hexadecanoico (7.23%) y α -pineno (6.36%). La actividad antiinflamatoria de los aceites esenciales se evaluó en roedores (10-90 mg / kg) en modelos clásicos de inflamación [edema de pata inducido por carragenina, Edema de oído inducido por 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA) y pelotita de algodón granuloma]. Los aceites esenciales en dosis de 10, 30 y 90 mg / kg de peso corporal redujeron significativamente el edema de la pata inducido por carragenina al 1% en un 17,42%, 52,90%, y 66.45%; después de 4 h del tratamiento respectivo, mientras que los aceites esenciales (10, 30 y 90 mg / kg) también produjeron una respuesta dosis dependiente significativa para reducir el edema de la oreja inducido por TPA en un 20.27% ,33.06% y 53.90%, respectivamente. Los aceites esenciales produjeron significativamente la actividad antiinflamatoria en la dosis-respuesta contra el granuloma inducido por gránulos de algodón que alcanzó su punto máximo a la dosis más alta de 90 mg / kg (49.08% de peso húmedo y 47.29% de peso seco). Demostrando que los aceites esenciales de *Senecio flammeus* fueron efectivos en el tratamiento de ambas condiciones inflamatorias agudas y crónicas.

2.2 Bases teóricas y/o legales

2.2.1. *Senecio calvus* Cuatrecasas (Huamanripa o wamanripa)

2.2.1.1 Descripción botánica:

Existen aproximadamente 51 tipos de esta planta, dependiendo de sus hojas hallándose en la costa y sierra del Perú, y son conocidas de manera general con la misma denominación de “Huamanripa” o “Huirahuirah”, además de que entre ellas tienen aspectos y caracteres morfológicos iguales (*Senecio calvus*, *S. tephrosioides*, *S. comosus*, *S. rhizomattus*, *S. klatti*, etc.). En el país se pueden encontrar alrededor de 106 especies de este género que representan cerca del 60% de la diversidad de la especie de *Senecio* en todo Sudamérica. (14)

La planta *Senecio calvus* es una especie vegetal que pertenece al grupo de la familia de las asteráceas (Compositae). En la parte morfológica presenta:

Tallo

Son de tipo floríferos, erectos y violáceos con altura media de 32 cm con numerosos foliolos y capitulescencias escamosa.

Hoja

Sus hojas son basales lanceoladas lineales con láminas enteras o tenuemente dentadas, de 20-22cm de largo (incluyendo el peciolo) x 1.5-2.5cm de ancho, vena central pronunciada por el envés y con filotaxia alterna dística.

Flor.

Las flores son de color amarillo agrupadas en inflorescencias tipo capitulo, las flores del disco varían desde estrechamente tubulares con pequeña diferenciación entre el tubo y la garganta.

Las corolas son dim-miicas con las flores pistiladas marginales y las flores son centrales o del disco con corolas tubulares y sus lóbulos mucho más cortos, las anteras con collar anterico. (15)

2.2.1.2. Distribución botánica

Perú, en Áncash (Huaraz), en el distrito de Independencia ubicada con altitud 3023 m.s.n.m. y latitud 09°31'08" Sur (-9.51917), mientras que en Lima ha sido colectada en Canta en entre los 3500 a 4500 m.s.n.m.; según un nuevo reporte.

2.2.1.3 Taxonomía

Familia Asteráceae

Las especies asteráceas son plantas que se conocen por contener las moléculas lactonas sesquiterpénicas en su composición, las mismas que son objeto de atención y amplio interés de científicos e investigadores, en razón de la amplitud de alternativas de un conjunto de actividades biológicas que poseen tales como la actividad antiinflamatoria, antitumoral, citotóxica, antibacteriana, antimalaria y actividad neurotóxica y alérgica.

El género Senecio

Este género comprende a un gran número de especies de las cuales en su mayoría se pueden encontrar en el Perú, considerándose al Senecio como la de mayor distribución.

Es utilizado principalmente para tratar afecciones respiratorias y particularmente como antitusígeno, a modo de infusión. Las plantas de este género también son ampliamente utilizadas como antiinflamatorias, antimicrobianas y analgésicos

Sus hojas suelen ser basales variando de forma longepeciolada con láminas enteras hasta láminas pinnatisectas, las capitulescencias varían desde capítulos solitarios estos capítulos son variados en tamaños y de organización radial. ^(16,17)

En la medicina tradicional las especies de Senecio que tienen mayor utilización se encuentran: *Senecio canescens*, *S. chionogeton*, *S. mathewsii*, *S. rudbeckiaefolius* y *S. tephrosioides*.

Hasta la fecha, en el Perú la especie *Senecio calvus* c. ha sido identificada solo en las zonas correspondientes a la región de Ancash. ⁽¹⁸⁾

Tabla N° 1 : Taxonomía del *Senecio calvus* Cuatrecasas emitida por Biólogo. Hamilton Beltrán (Ver anexo n°1)

<i>Reino:</i>	<i>Plantae</i>
<i>Subreino :</i>	Viridiaeplantae
<i>División:</i>	Magnoliophyta
<i>Phylum :</i>	Traqueófitas
<i>Clase:</i>	Magnoliopsidas
<i>Subclase:</i>	Asteridae
<i>Superorden :</i>	Campanulanae
<i>Orden:</i>	Asterales
<i>Familia:</i>	Asteraceae
<i>Subfamilia :</i>	Asteroideae
<i>Tribu:</i>	Senecioneae
<i>Género:</i>	Senecio
<i>Especie:</i>	<i>Senecio calvus</i> Cuatrecasas.

2.2.1.4 Usos tradicionales

De acuerdo a lo propuesto por el “Centro científico de medicina naturista” (Áncash), estas plantas tanto la hembra como el macho, tienen uso medicinal, en mixtura o en combinación con otras especies de la medicina tradicional como la sanguinaria y el llantén, utilizados para tratar los casos de asma bronquial, tos crónica, bronconeumonía, y otro tipo de dolencias que afectan a los pulmones. Por otro lado, han sido empleados para atender a mujeres con dolores de matriz o de útero; así mismo para personas con dolores estomacales, resfríos o trasminados del frío, dolencias de las vías urinarias, reumatismo en manos, dolores en codos, hombros, pies, tobillos, rodillas y caderas. Señalándose que todos los afectados pudieron recuperar la tranquilidad física y normalidad biológica, culminando sin afecciones.

2.2.1.5 Metabolitos secundarios

El metabolismo es un conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan **metabolitos secundarios**, también conocidos como productos naturales son los que atribuyen la acción terapéutica la cual es especial de cada órgano de la planta (flor, hoja, tallo, raíz).²⁰

2.2.1.6 Clases de metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios se clasifican de acuerdo a sus grupos funcionales compuestos fenólicos, terpenoides y esteroides y los alcaloides.

a) Compuestos fenólicos :

Hace referencia al grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más hidroxilos y que recurren frecuentemente como glicósidos combinados con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua, pueden ser detectados con cloruro férrico cuando se agrega una solución acuosa o alcohólica al 1%. (21, 22)

Flavonoides:

Compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpirano (C6-C3-C6) .La actividad de los estos como antioxidantes depende de sus propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos. Son solubles en agua y en etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistema aromático y conjugado. Su ruta biogenética es a través de la ruta del shikimato y acetato malonato (siendo la chalcona el precursor a partir de la cual se derivan los demás. La reacción química de la formación de la chalcona es controlada por las enzimas: chalcona sintasa y chalcona flavona isomerasa)

Clasificación:

1. Flavonanos: con un grupo –OH en la posición 3 del anillo C.
2. Flavonoles: posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en la

posición del anillo C.

3. Flavonas: poseen un grupo carbonilo en la posición 4 del anillo C y carecen de hidroxilo en la posición C3.
4. Antocianidina: tienen unido un grupo –OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre en C3 y C4 del anillo C. ^{22,23}

Propiedades farmacológicas

Desde su descubrimiento por parte del científico húngaro Albert Szent-Györgyi (ganador del premio Nobel de Fisiología y Medicina (1937)) y el nombramiento de vitamina P», se han descrito para los flavonoides propiedades los cuales serán detallados a continuación:

Tabla N° 2: Potenciales efectos farmacológicos de diferentes flavonoides en humanos y animales.

ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA	FLAVONOIDES
Analgésica	Quercetina, hesperidina, miricitrina, 5,7-dimetoxiflavanona-4'-O-[D-apiofuranosil-(1→2)]-D-glucopiranosido, β'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-chalcona-4O--D-glucopiranosido.
Antialérgica	Quercetina
Antiaterogénica	
Anticancerígena	Baicaleína, epigallocatequina, kaenferol-3-O-Dglucopiranosido, nobiletina, quercetina, rutina, tangeretina, tricina, woogonina.
Antidiarréica	Apigenina, kaenferol, morina, miricetina, naringenina, quercetina, quercitrina
Antidiabética	Quercetina
Antihepatotóxica	Gospina, hispidulina, hidroxietilrutósido, kolavirona, quercetina, silimarina
Antiinflamatoria	Apigenina, crisina, gospina, hibrifolina, hipolaetina-8-D-glucósido, luteolina, miricetina, nepetina, quercetina, quercitrina, rutina
Antiosteoporótica	Ipriflavona
Antiulcerosa	Hipolaetina-8-glucósido, kaenferol, quercetina, rutina, solona, naringin
Protector Vascular	Antocianidina, citrina, rutósido.
Antiespasmódica	Apigenina, crisina, kaenferol, quercetina

Fuente: Bonkanka ⁽³⁹⁾

b) Terpenos y esteroides

Conocidos también como constituyentes odoríferos o aceites esenciales, han sido utilizados durante aproximadamente 3500 años con aplicaciones en cosméticos, perfumes, disolventes o materias primas para la producción de pinturas, grasas, ceras, y los potenciadores sensoriales como en los alimentos. Los terpenoides son moléculas derivadas o modificadas de los terpenos.

Pueden clasificarse como monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterpenos (C25), triterpenos (C30) y tetraterpenos (C40) según el número de sus unidades de hemiterpenos (isoprenos). ^(22,23, 25)

c) Alcaloides:

Estructura: compuesto orgánico cíclico que contiene nitrógeno (compuesto heterocíclico) en un estado de oxidación negativo con una distribución limitada entre los organismo vivos

Como su nombre lo sugiere, la mayoría son sustancias alcalinas que a valores de pH citosólico (pH: 7,2) o vacuolar (pH: 5 a 6), protonizan el átomo de nitrógeno, por lo que la mayoría de los alcaloides están cargados positivamente y generalmente forman sales solubles en agua como citratos, malatos, tartratos, benzoatos, etc.

Existen tres tipos principales de alcaloides:

1) Alcaloides verdaderos: son aquellos en los que el átomo de nitrógeno forma parte de un anillo heterocíclico, poseen una significativa actividad farmacológica y biosintéticamente derivan de aminoácidos.

2) Protoalcaloides: son aminas simples en las que el átomo de nitrógeno no forma parte de un anillo heterocíclico, son básicos y son elaborados in vivo a partir de aminoácidos.

3) Pseudoalcaloides: Presentan las características de los alcaloides verdaderos, tienen un anillo heterocíclico con N, pero no derivan de aminoácidos. ⁽²⁴⁾

Los alcaloides derivan principalmente de los aminoácidos ornitina, lisina, fenilalanina (o tirosina), triptófano y del ácido antranílico a través de una serie

de reacciones, cómo las del tipo aldólico entre dos compuestos conteniendo grupo cianuro (-C=N) reacciones tipo Mannich (genera enlaces C-C-N).

2.2.1.7 Estructura química del género Senecio

Según ha sido ya reportado en un reciente estudio de las partes aéreas para el género Senecio

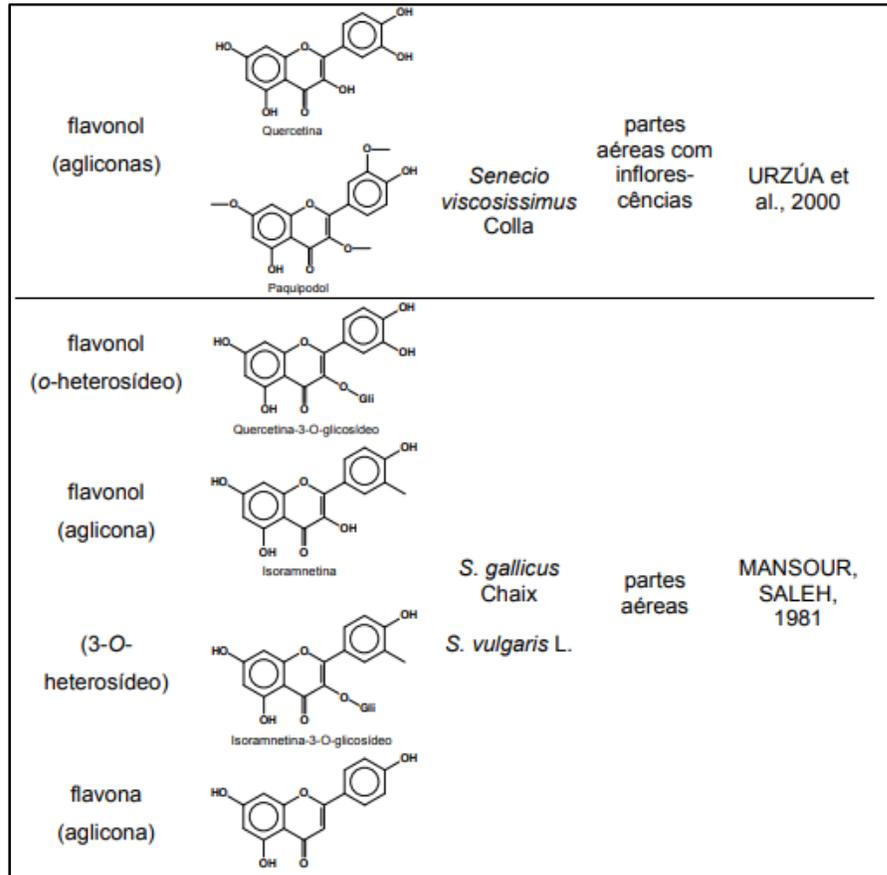


Figura N° 1: Ejemplos de algunos flavonoides descritos para el género Senecio

Fuente: Zuanazzi, Montana, 2003

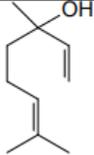
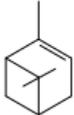
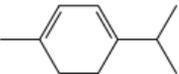
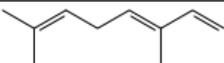
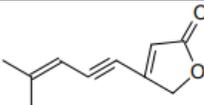
linalol		<i>S. articulatus</i> Sch. Bip.	inflorescências	KITE, SMITH, 1997
α -pineno		<i>S. farfarifolius</i> Boiss. et Kotschy	partes aéreas sem inflorescências	BASER; DEMIRCI, 2004
α -terpineno		<i>S. viscosissimus</i> Colla	toda planta sem inflorescências	ÚRZUA, ANDRADE, 2001
ocimeno		<i>S. trichopterygius</i> Muscher	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1980
cleviolido		<i>S. clevelandii</i> Greene	partes aéreas	BOHLMANN et al., 1981a

Figura N° 2: Ejemplos de algunos terpenos descritos para el género Senecio

Fuente: Sánchez Ramos, Castañeda, 2001

2.2.2 Extracción

El propósito de toda extracción es separar los metabolitos solubles de las plantas, dejando atrás el residuo celular insoluble. Los extractos crudos iniciales que usan estos métodos contienen una gamma compleja de muchos metabolitos tales como flavonoides, glucósidos, fenólicos, terpenoides, etc.

2.2.2.1 Métodos de extracción

Maceración

Método el cual consiste en poner en contacto directo la droga seca la cual esta previamente triturada con el disolvente usado para extracción a temperatura ambiente, manteniéndose todo a agitación periódica durante un determinado tiempo que dependerá de la característica de la droga y de la naturaleza del principio activo. Normalmente se usa agua, glicerina o sustancias hidroalcohólicas.

Finalmente se decanta para obtener el extracto líquido con el principio activo. Se usa con principios activos muy solubles y la estructura de la droga muy permeable al disolvente. ^(25,24)

2.2.3 Marcha fitoquímica

Compuestos fenólicos

Reactivo de cloruro férrico: unas gotas de solución de FeCl_3 al 1 % sobre un extracto etanólico del material, darán coloraciones azul, verde o marrón con compuestos fenólicos. ⁽²⁰⁾

Flavonoides

Reacción de Shinoda: a una solución alcohólica de la materia se agrega un pequeño trozo de cinta de magnesio seguido de gotas de HCL concentrado. Las coloraciones rojas (flavonas), roja a crimson (flavonoles), crimson a magenta (flavononas) y algunas veces azul o verde, son consideradas positivas.

Nota: Las chalconas y auronas, dan coloración roja directamente por acción de HCL concentrado al extracto alcohólico.

Saponinas y compuestos:

Prueba de la espuma: la droga pulverizada se prepara un extracto acuoso al 1%, se filtra y el filtrado se agita durante 30 s. La presencia de la saponina es indicada por la formación de una espuma persistente por 30 min. ⁽²²⁾

Reacción de Liebermann-Burchard: se añade una solución reciente de una gt de H_2SO_4 en 1 mL de Ac_2O helado a 1 mL de extracto clorofórmico del material pulverizado. Se observa el desarrollo del color a los 2, 5, 20 y 60 min después de realizada dicha mezcla.

Cumarinas:

Se coloca en un tubo de ensayo 0.5 g de material ya pulverizado con 5mL de agua destilada y se cubre con un papel filtro humedecido con solución de NaOH al 10%. El tubo así cubierto se coloca en un baño de agua en ebullición por varios minutos, se remueve el papel y se expone a la luz ultravioleta.

La aparición de una fluorescencia amarilla-verdosa o azul es indicativa de la presencia de cumarina.

Nota: El procedimiento es aplicable solo a cumarinas volátiles. ^(22,26)

Taninos:

Reacción de gelatina-sal: se obtiene un extracto acuoso a partir de un extracto etanólico del material seco y pulverizado. A una solución de NaCl al 5% se agrega una porción de este extracto; a una segunda porción se le agrega solución de gelatina al 1% y a un tercer reactivo gelatina-sal.

La precipitación con este último reactivo, o con ambos el segundo y el tercero, es indicativa de la presencia de tanino. Si solamente ocurre con el primero, el test es negativo. ^(22, 25)

Antraquinonas:

Reacción de Borntrager: el material seco y pulverizado se deja en benceno, se separa el benceno el cual se agita con solución acuosa al 5% de NaOH, la producción de una coloración rosada a roja en la capa acuosa es indicativa de antraquinona. ⁽²²⁾

Glicósidos antraquinónico: 0,5 g de material seco y pulverizado se extrae con 30 ml de CHCL₃ para separar la antraquinona libre; el marco se calienta con 25 ml de HCL al 10% por 30 min. Se enfría y se extraen las agliconas con éter. El extracto se prueba como para antraquinona libre. ^(22,25)

Alcaloides

Se hace ensayos generales con reactivos de Dragendorff, Mayer o Wagner, sobre el extracto ácido (acuoso o alcohólico). Se considera que hay presencia de alcaloides si se obtienen resultados positivos a por los menos dos de los reactivos nombrados. ^(22, 26,27)

2.2.3 Análisis cromatográfico

Cromatografía en capa fina (TLC)

O por sus siglas en inglés (THIN LAYER CHROMATOGRAPHY) es una aplicación especial de la cromatografía de adsorción, la cual hace uso de una capa fina de adsorbente soportada encima de una superficie plana, la elución se consigue por el movimiento capilar ascendente del disolvente a través de

la capa fina adsorbente, los adsorbentes más usados en el TLC son de partículas más pequeñas en comparación en una cromatografía de columna. Los compuestos menos polares se unen (adsorben) con menos fuerza al adsorbente (FE) que los más polares, los más ampliamente utilizados son la gel de sílice (SiO₂), la alúmina (Al₂O₃) y celulosa los dos primeros son de carácter polar por lo tanto, se mueven más rápidamente cuando la mezcla se eluye con algún disolvente (fase móvil). Los disolventes polares moverán los componentes de la mezcla más rápidamente que los disolventes menos polares.

Si la polaridad de los disolventes es demasiado alta, todos los componentes se arrastrarán con el disolvente y no habrá separación.

La visualización del cromatograma, para localizar la posición de cada uno de los compuestos en la mezcla separada dependerá de los tipos de moléculas presentes en la muestra original el método más usado es el vapor de yodo. ²⁸

2.2.4 Método según Arroyo (edema plantar)

Fue Winter quien lo describió por primera vez y posteriormente modificado por Arroyo (2012). Consiste en administrar de manera subcutánea una solución de carragenina (mucopolisacárido sulfatado extraído del alga marina *Chondus crispus*) a nivel de la aponeurosis plantar (pata), esta provoca una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autocoides (histamina ,serotonina , bradiginina y prostaglandinas) además de diversos factores de complemento . Una hora después de la administración de la sustancia problema, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. ⁽³³⁾

Aproximadamente de 1 a 2 horas y media después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores.

La última fase esta mediada por prostaglandinas (PGE1 y PGE2, PGF2) .La respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 3 horas de su administración de carragenina y coincide con la fase de medida por las prostaglandinas.

La extravascularización de proteínas ocurre durante la respuesta del agente

edematogeno. La migración celular fundamentalmente leucocitos polimorfo nucleares, comienza a las 2 horas de haberse inyectado el agente.

Nota: Es importante la estandarización del ensayo: hora, temperatura, etc. ⁽³⁵⁾

2.2.5 La Piel

2.2.5.1 Definición

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano con una superficie promedio de 1.6-2 m² y representa el peso corporal total de un ser adulto aproximadamente el 15%. Esta protege los músculos, los huesos, los ligamentos y los órganos internos Actúa como interfaz hacia el medio ambiente, también protege al cuerpo contra cualquier agente o patógeno que produzca inestabilidad, controla la pérdida de agua, regula la temperatura corporal, protege los nutrientes esenciales en el cuerpo y absorbe el oxígeno requerido para la capa más externa de las células. ^(34, 36)

Está formado por tres capas:

Epidermis:

Es una capa de epitelio pavimentoso escamoso estratificado. Los queratinocitos difieren del "claro" mientras que las células dendríticas por poseer puentes intercelulares y unas amplias cantidades de citoplasma teñible (Murphy, 1997).

Capas de la epidermis:

- Capa córnea: formada por células que no tienen núcleo, por lo que con los colorantes de rutina (hematoxilina y eosina) se tiñe únicamente por la eosina

El estrato lúcido: es una línea intensamente eosinófilas ubicada por debajo de la capa córnea y se le identifica en los sitios donde ésta es gruesa (palmas y plantas)

- La capa o estrato granuloso: está formado por células romboidales que tienen gránulos de queratohialina, mismos que le dan su nombre y que se tiñen intensamente con la hematoxilina.
- Capa espinosa: la capa basal, germinal o germinativa, está formada por

células cilíndricas que se disponen generalmente en una hilera, se tiñen intensamente con la hematoxilina, tienen puentes intercelulares que son menos evidentes que los de la capa espinosa.

Células fundamentales de la epidermis

Queratinocitos: produce queratina la cual proporciona dureza a la piel (su morfología difiere según el tamaño de la epidermis)

Melanocito: produce melanina

Células de Langerhans: función inmunitaria (su origen es mesodérmico (medula ósea) poseen núcleo cerebriforme)

Célula Merkel: función táctil (son mecanorreceptores) 36,37,

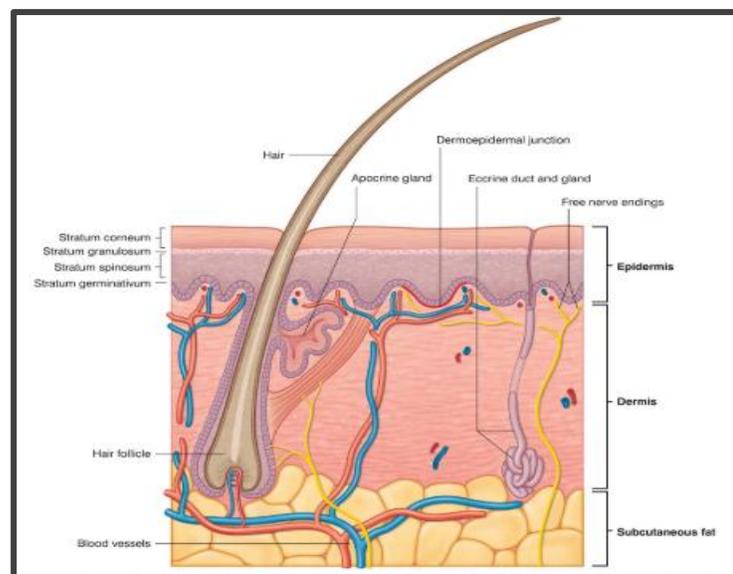


Figura N° 3: Partes de la sección transversal de la piel

Fuente: Surgery of the Skin E-Book: Procedural Dermatology, by June K. Robinson, C. William Hanke, Daniel Mark Siegel, Alina Fratila, Ashish C Bhatia, Thomas E. Rohrer

Dermis:

Tejido conjuntivo compuesto en su mayor parte de proteínas y mucopolisacárido (llamada sustancia fundamental). Esta matriz sirve como el andamio que apoya las redes neurovasculares complejas, las cuales tienen

una trayectoria a través de la piel, y apoya también las estructuras de los anexos ecrinas (glándulas sudoríparas) y foliculares (pelo).

El colágeno es la principal proteína fibrosa de la dermis y representa más del 70% de su peso seco.

La dermis se divide en dos partes: la dermis papilar superior y la dermis reticular inferior. La dermis papilar es la más delgada de las dos y se distingue de la dermis reticular por tener haces de fibras de diámetro mucho más pequeño.

Casi todas las proteínas estructurales fibrosas de la dermis están compuestas de colágeno tipos I y III, y una red de microfibrillas elásticas también está entretejida en todo el espesor de la dermis. Los fibroцитos, las unidades sintéticas de las proteínas estructurales, son omnipresentes, y hay también mastocitos y células inmunitarias dendríticas dispuestas de manera ordenada en toda la dermis. ⁽³⁸⁾

Hipodermis o tejido subcutáneo

Llamada también panículo adiposo o tejido celular subcutáneo, está constituido por células grasas, que se conocen con el nombre de adipocitos, los cuales se disponen en lóbulos separados por tejido conectivo llamados septos o tabiques inter lobulillares. El complejo pilosebáceo está formado por: Complejo pilosebáceo., Glándulas sudorípara (formado por los siguientes: El folículo piloso posee 3 segmentos: superior o infundíbulo, medio o istmo e inferior o bulbo piloso.

La glándula sebácea es el otro componente del complejo pilosebáceo, pero también se pueden encontrar en forma aislada en regiones como el pezón, la areola mamaria, labios menores y cara interna de prepucio, están ausentes en palmas y plantas.

Músculo erector del pelo (Es una banda de músculo liso que se dispone en el ángulo obtuso del folículo para producir contracción del mismo “piel de gallina”)

La hipodermis posee un papel importante en nuestro cuerpo al unir la dermis a los músculos y los huesos a través de un tejido especial llamado tabique,

que consiste en vasos sanguíneos, células nerviosas y colágeno. La capa de grasa subcutánea controla la temperatura corporal (termorregulación) a través de la homeostasis. ⁽³⁹⁾

2.2.5.2 Funciones de la piel

1. Protección:

Proporciona protección contra una amplia variedad de estímulos dañinos externos, incluida la luz ultravioleta. Químico. Insultos térmicos y mecánicos. La piel proporciona una barrera contra la humectación excesiva. También contra la invasión bacteriana y fúngica. Las bacterias y los hongos viven en la superficie de la piel. Pero no puede penetrar en los tejidos subyacentes a menos que se rompa la piel. ^(36, 39)

2. El color:

La piel es dada por melanocitos que contienen melanina

3. Termorregulación y excreción:

Las glándulas sudoríparas producen sudor que contiene urea, cloruro de sodio, ácidos grasos volátiles como el ácido acético, fórmico, caproico, caprilico entre otros, el agua y juegan un papel en la regulación de la temperatura. Para facilitar la pérdida de calor en temperaturas cálidas, los vasos sanguíneos de la piel se dilatan y las glándulas sudoríparas se activan. Mientras que a bajas temperaturas, los vasos sanguíneos se contraen para conservar el calor y el cuerpo quema la grasa almacenada en el tejido adiposo.

En temperaturas aún más frías, las glándulas sudoríparas se vuelven inactivas y los músculos del erector pili se vuelven funcionales para promover el atrapamiento del aire para el aislamiento de la piel. ⁽⁴⁰⁾

4. La lubricación

La piel es proporcionada por las glándulas sebáceas, que producen una sustancia aceitosa conocida como sebo. ⁽⁴⁰⁾

5. Inmunidad:

Las células de Langerhans en la piel son células dendríticas que absorben

antígenos microbianos en la piel para transformarse en células presentadoras de antígeno

6. La sensación:

Ocurre a través de estructuras especializadas conocidas como mecanorreceptores. ^(40, 31)

2.2.6 La inflamación

2.2.6.1 Definición

Proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas.

Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son en primer aspecto, la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor.

En segundo aspecto, la respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y por tanto, preponderantemente inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica.

En tercer aspecto, el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos. ⁽³⁵⁾

Mediadores de la inflamación:

a) Radicales de oxígeno y metabolitos citotóxicos para fibroblastos y células parenquimatosas.

b) Las citocinas tienen un gran espectro de pirógenos endógenos causando fiebre, factor de necrosis tumoral, factores que intervienen en la inflamación crónica.

c) El sistema de complemento que desarrolla actividades pro inflamatorias.

d) Las cininas como bradicinina y precalicreína que sensibilizan terminales nerviosas produciendo dolor.

e) Las aminas vasoactivas, histamina y serotonina, favorecen el incremento

de permeabilidad vascular, producidas en plaquetas, mastocitos y basófilos.
f) La vía de la lipooxigenasa involucra la conversión de ácido araquidónico en varios hidroperóxidos favorecedores de dolor. ^(36,37)

2.2.6.2 Fases de la inflamación:

Bone, describe tres fases:

En la fase I, como respuesta a la agresión, se liberan citocinas que inducen la respuesta inflamatoria, reparan los tejidos y reclutan células del sistema retículo endotelial.

En la fase II, se liberan pequeñas cantidades de citocinas a la circulación para aumentar la respuesta local seguidamente se reclutan los macrófagos y las plaquetas generándose los factores de crecimiento. Iniciándose la fase aguda, con disminución de los mediadores pro inflamatorios y liberación de los antagonistas endógenos. Estos mediadores modulan la respuesta inflamatoria inicial. Esta situación se mantiene hasta completar la cicatrización, resolver la infección y restablecer la homeostasis. Si la homeostasis no se restablece.

Finalmente, en la fase III o reacción sistémica masiva, las citocinas activan numerosas cascadas humorales de mediadores inflamatorios que perpetúan la activación del sistema retículo endotelial, con pérdida de la integridad micro circulatorio y lesión en órganos diversos y distantes. ^(41,42)

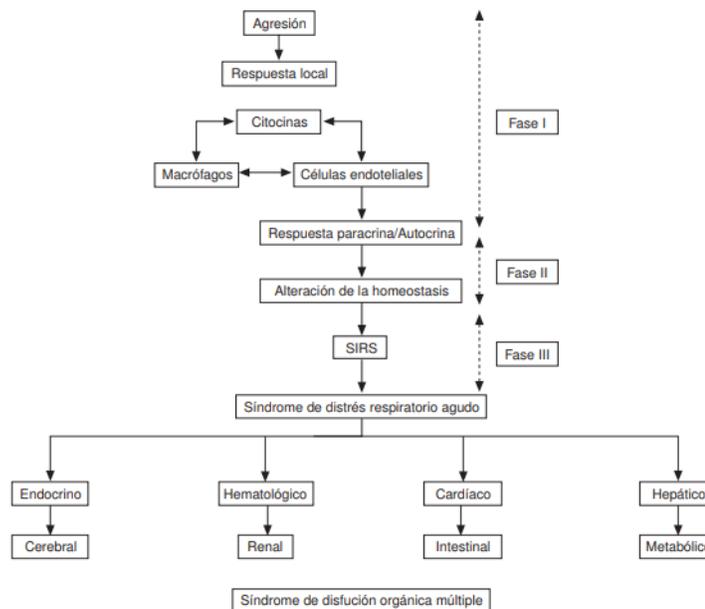


Figura N° 4: Fases evolutivas de los procesos inflamatorios

Fuente: A. GARCÍA DE LORENZO Et. Servicio de medicina intensiva medicina intensiva, 2000, España -Madrid.

Nota: En una primera fase se produce la activación de las células inflamatorias y la liberación de sus mediadores. Si el síndrome inflamatorio progresa, se inicia una segunda fase con activación de sistemas endocrino, autocrino y paracrino que conduce al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. La desfavorable evolución de este síndrome da lugar a una tercera fase de disfunción y fallo orgánico múltiple. La aparición de distrés respiratorio agudo suele marcar el inicio de esta cascada de fracasos orgánicos. (41)

2.2.7 Sistema inmunitario (SI) y respuesta inmune (RI)

El SI encargado de defender al organismo contra agresiones del microentorno, dividido en dos compartimientos:

-Repuesta inmune natural o innata (RII) o inespecífica ya que se activan ante cualquier agente nocivo pero su calificativo de inespecífico se denomina por reconocer a un número limitado de estructuras moléculas que comparten los microorganismo.

Las células involucradas en la inmunidad innata tenemos a los fagocitos "profesionales" estos incluyen a los neutrófilos polimorfonucleares, mastocitos y macrófagos mientras que los "no profesionales" están las células endoteliales y los hepatocitos. Las células infectadas con virus y parásitos son destruidas por grandes linfocitos granulares denominados células asesinas naturales (NK) y los eosinófilos. ⁽⁴²⁾

-Respuesta inmune adquirida o adaptativa (RIA) forman parte del segundo componente de la respuesta inmune. Aquí se encuentran los linfocitos T y B esta poseen un receptor que reconoce al antígeno (Ag) de forma muy específica. Poseen una enorme variabilidad sin embargo esta es también su punto débil ya que la frecuencia de linfocitos para un Ag desconocido ante un sistema inmunitario es muy baja lo que podría comprometer la eficiencia de la RIA.

A diferencia de las células de la RII, cuando los linfocitos reconocen a un Ag se expanden clonalmente, incrementando la eficacia de la respuesta inmune frente a un Ag (memoria inmunológica)

La activación de las RIA potencia mecanismo de la RII a través de diversos mecanismos

Las inmunoglobulinas producidas por los linfocitos B facilitan la captación de dianas por los fagocitos, las células citotóxicas o las del complemento

Las citocinas producidas por los linfocitos (TCD4) potencian la activación de las células de la respuesta inmune innata así como su producción en la médula ósea.

Las citocinas de la RIA poseen una mayor especificidad en función a su tipo de patógeno (bacteria intra o extra celular, hongo, virus, helminto) con el que se enfrentan reclutando elementos idóneos para cada situación. ^(42, 43,44)

2.2.8 Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES)

Tratándose de un grupo amplio y químicamente heterogéneo, se les ha clasificado en función a su estructura, son usados para tratar el dolor, la inflamación y la fiebre.

Su mecanismo de acción es bloquear la síntesis de prostaglandinas al inhibir las isoformas de ciclooxigenasa (COX), la denominación antiinflamatorio no esteroideos hace referencia a mecanismo independiente del efecto de los esteroides sobre la fosfolipasa A2, la otra vía de metabolización del ácido araquidónico es la vía (5-lipooxigenasa) que produce leucotrienos tampoco resulta afectada por los ANES.

Existen 3 modos de unión de los AINES al COX -1:

-Unión rápida y reversible

-Unión rápida de baja afinidad, reversible seguida de una unión más lenta, dependiente del tiempo y de gran afinidad y lentamente reversible

-Unión rápida reversible, seguida de una modificación irreversible covalente

Sobre la COX-2: los agentes específicos producen una inhibición reversible dependiente del tiempo ^(37, 46)

La gran similitud del peso molecular de las enzimas COX 1 y 2 explica que sus productos prostaglandinas sean los mismos, sin embargo el sitio activo de las COX-1 es más pequeño que de la COX-2 de forma que acepta número menor de estructura como sustratos lo cual significa que los AINES inhibidores de la COX-1 también inhiben la COX-2, pero que muchos inhibidores de la COX-2 poseen escaso poder bloqueante de la COX-1. Los aines bloquean el sitio de unión del ácido araquidónico en la enzima, lo cual evita la conversión en prostaglandinas. ^(43,44)

Tabla N° 3: Clasificación de los AINES según su índice COX-2/COX-1

Fármaco	IC ₅₀ COX-1	IC ₅₀ COX-2	Índice COX-1/COX-2	
Piroxican	0.005 0.00527	0.3 0.175	600 33	AINE preferentemente selectivos sobre COX-1
Indometacina	0.028	1.68	60	
Aspirina	1.67	278	166 25-60	
Sulindaco	1.1220		31	
Ibuprofeno	4.8		0.7-50	
Tenoxicán	0.0201	0.0322	16	
Ácido meclofenámico			7	
Flurbiprofeno	0.802		6	
Naproxeno			1	
Diclofenaco	1.57	1.1	0.70	AINE preferentemente selectivos sobre COX-2
Meloxicán	4.8	0.43	0.090	
Celecoxib	15	0.04	0.003	
nimesulida	9.2	0.52	0.057	
rofecoxib	19	0.5	0.026	

FUENTE: Farmacología, Velázquez

Ácido acetilsalicílico (Aspirina)

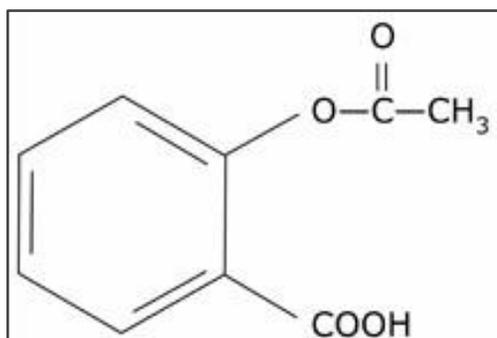


Figura N° 5 : Ácido acetilsalicílico

Nombre IUPAC: ácido 2-(acetiloxi)-benzoico

Características químicas

Peso molecular de 180.16 g/mol. Se presenta como polvo cristalino blanco o casi blanco, o en cristales alargados incoloros.

Tiene un sabor ligeramente amargo y de color blanquecino.

Es poco soluble en agua, fácilmente soluble en etanol 96°.

Punto fusión: 135 °C.

Absorción

Se absorbe rápidamente por el tracto digestivo, si bien las concentraciones intragástricas y el pH del jugo gástrico afectan su absorción.

Distribución

La unión del salicilato a las proteínas plasmáticas es muy elevada, superior al 99%, y de dinámica lineal. La saturación de los sitios de unión en las proteínas plasmáticas conduce a una mayor concentración de salicilatos libres, aumentando el riesgo de toxicidad. Presenta una amplia distribución tisular, atravesando las barreras hematoencefálica y placentaria. La vida media sérica es de aproximadamente 15 minutos. El volumen de distribución del ácido salicílico en el cuerpo es de 0,1–0,2 l/kg

Biotransformación

Se hidroliza parcialmente a ácido salicílico durante el primer paso a través del hígado. Este metabolismo hepático está sujeto a mecanismos de saturación, por lo que al superarse el umbral, las concentraciones de la aspirina aumentan de manera desproporcionada en el organismo. También es hidrolizada a ácido acético y salicilato por esterasas en los tejidos y la sangre.

Eliminación

Los salicilatos y sus metabolitos se eliminan principalmente por vía renal, siendo excretada por la orina la mayor parte de la dosis. Aproximadamente el 75% de la dosis se encuentra en forma de ácido salicílico, mientras que el 15% está en forma de conjugados, sobre todo mono- y diglucurónidos. El 10% restante está constituido por salicilato libre.

Mecanismo de acción

Inhiben la actividad de la enzima ciclooxigenasa para disminuir la formación de precursores de las prostaglandinas y tromboxanos a partir del ácido araquidónico. ^(45,46)

Naproxeno sódico (Apronax)

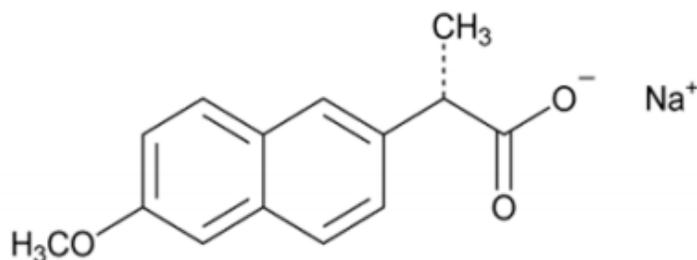


Figura N° 6: Naproxeno sódico

Nombre IUPAC: ácido (+)-2-(6-metoxi-2-naftil) propiónico (nota como sal)

Características químicas

Peso molecular de 230,26 g/mol, su presentación es una sustancia blanca, inodora y cristalina con una. Es liposoluble, prácticamente insoluble en agua, con un pH inferior a 4 y totalmente soluble en agua con un pH superior a 6. Su punto de fusión es 153 °C.

Absorción

Se solubiliza fácilmente en agua. Presenta una absorción prácticamente completa. La absorción se realiza en el tracto gastrointestinal, alcanzándose los niveles plasmáticos máximos al cabo de 1 y 2 horas.

Distribución

Tiene un volumen de distribución de 0,16 l/Kg y a niveles terapéuticos se une a la albúmina sérica en más de un 99%. En dosis superiores a 500 mg/día, se pierde la proporcionalidad como consecuencia de un aumento del aclaramiento causado por la saturación de la unión proteica a dosis altas.

Biotransformación: se metaboliza ampliamente en el hígado a 6-O-desmetilnaproxeno.

Eliminación

Aproximadamente un 95% de la dosis de Naproxeno sódico se excreta en la orina inalterado (<1%), como 6-O-demetilnaproxeno (<1%) o sus conjugados

(66-92%). La velocidad de excreción de los metabolitos y conjugados coincide casi por completo con la velocidad de desaparición del fármaco del plasma. Con las heces se excreta tan sólo un 3 por ciento o menos.⁴⁷

Farmacocinética en situaciones especiales

Insuficiencia renal

Dado que tanto el Naproxeno como sus metabolitos se eliminan por vía renal en su mayor parte, puede producirse acumulación en caso de insuficiencia renal. En los pacientes con insuficiencia renal grave está disminuida la eliminación del Naproxeno. En pacientes con insuficiencia renal grave (aclaramiento de creatinina <10 ml/min) hay un mayor aclaramiento de Naproxeno del estimado solamente a partir del grado de disfunción renal.

Mecanismo de acción

Bloqueo de ciclooxigenasa consecuentemente se disminuye la síntesis de prostaglandinas, mediadoras de la inflamación. ⁴⁷

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

El extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) presenta efecto antiinflamatorio en ratas albinas con edema plantar inducido con carragenina.

2.3.2 Hipótesis específicos

1. El extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) posee metabolitos secundarios los cuales son capaces de generar la actividad antiinflamatoria.
2. Existe una concentración que contiene la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana).
3. El efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallo del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) es similar en comparación con los fármacos antiinflamatorios como el Naproxeno sódico y el Ácido acetilsalicílico.

Las variables son las siguientes:

Variable independiente: extracto etanólico de las hojas y tallo del *Senecio calvus Cuatrecasas*.

Variable dependiente: efecto antiinflamatorio del extracto del *Senecio calvus Cuatrecasas*.

2.4 Definición de términos básicos

Filotaxia: es la disposición de las hojas sobre el tallo. Está íntimamente ligada a la estructura primaria del tallo: el número de haces vasculares que posee el tallo está determinado por la filotaxis, cuanto más densa es la misma, mayor será el número de haces caulinares. Pudiendo ser con disposición alterna en la cual se encuentra de 2 tipos; dística, donde las hojas se insertan sobre el tallo, a largo de dos líneas opuestas y helicoidal, las hojas están esparcidas sobre el tallo, ordenadas regularmente sobre una espiral dextrorsa o

sinistrorsa. O de disposición vertical; 2 o más hojas se insertan simultáneamente en cada nudo del tallo hay 2 tipos; la decusada: 2 hojas por nudo o la verticilada: 3 hojas o más en cada nudo o verticilo.

Granuloma: colección focal de células inflamatorias de células inflamatorias eosinófilas, linfocitos, macrófagos, células plasmáticas, células gigantes (células de Langhans células epiteloides con conectividad al tejido y vasos sanguíneos.

Otra definición el granuloma es una reacción del sistema fagocítico mononuclear (previamente llamado sistema retículo endotelial) a un antígeno poco soluble o parcialmente soluble. ^(49, 50)

Linfocito T: son aquellas células que maduran en el timo, donde adquieren su receptor antigénico (TCR, célula receptor T) se distinguen de las otras porque reconocen pequeños péptidos procesados por la célula presentadora y mostrando su membrana la cual está unida al HMC (complejo mayor de histocompatibilidad)

Aquí se distinguen dos tipos de linfocitos T están los TCD4 (reconocen repetidos procedentes de proteína sintetizadas (Ag endógenos) por la célula presentadora y presentados por las moléculas HMC tipo I) y los TCD8 (reconocen repetidos procedentes de la degradación de proteínas fagocitadas (Ag exógenos) que son los presentados por las moléculas HMC tipo II). ⁽⁵⁶⁾

Citoquinas: grupo de proteínas o glucoproteínas secretadas, de bajo peso molecular (aproximadamente kDa) Aunque existen muchos tipos de células productoras de citoquinas, dentro del sistema inmune innato, los macrófagos son las células más comprometidas en la síntesis de citoquinas, mientras que en el sistema inmune específico son las células T colaboradoras (TH) ya que sus citoquinas son esenciales para que se produzca la respuesta inmune, una vez activadas por el contacto con las correspondientes CPA (células presentadoras de antígeno).⁽⁵⁷⁾

Fagocitosis: proceso por el cual las células especializadas buscan, localizan, identifican e introducen a su citoplasma partículas en la medula ósea o células extrañas para destruirlos y extraer de ellos los Ag (antígeno) que se deben presentar a los Esta es ejercida por la células fagocíticas profesionales como monocitos, macrófagos, células de kuffer, etc.; así como las fijas que integran el SER (sistema retículo endotelial). ⁽⁵⁸⁾

Dosis letal media: dosis que produce una mortalidad del 50 % en una población animal. ⁽⁶⁹⁾

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo, diseño y nivel de la investigación

Tipo

Experimental: se manipuló una variable independiente (diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas y tallo de *Senecio calvus Cuatrecasas* y se procedió a evaluar la variable dependiente (efecto antiinflamatorio)

Longitudinal: porque se sometió el efecto antiinflamatorio durante un periodo de 480 minutos.

Cuantitativa: porque efectúan mediciones del diámetro de la pata inflamada de las ratas en el periodo de tiempo establecido.

Diseño

Experimental

Nivel

Básica, porque parte de un marco teórico y permanece en él; la finalidad radica en formular nuevas teorías o modificar las existentes.

3.2 Población y muestra

Población vegetal

La población vegetal de interés estuvo conformada por la especie *Senecio calvus Cuatrecasas*.

Muestra vegetal

Estuvo constituida por 4.67 kg de las hojas y los tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas*.

Población animal

La población de animales para el estudio, correspondió a 30 ratas albinas hembras y 9 ratones albinos adquiridos en la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Muestra animal

El tamaño muestral de las ratas de laboratorio a ser utilizadas en el estudio fue conformado por 5 ratas albinas hembras de la de la cepa holtzman teniendo en cuenta que el estudio se llevó a cabo en 6 grupos con un tamaño muestral de 30 ratas albinas de la especie *Rattus norvegicus*; con aproximadamente 2 meses de edad y un peso promedio $200\text{ g} \pm 50\text{g}$.

3.3 Equipos, materiales y reactivos

3.3.3. Materiales:

Equipos de laboratorio

- Estufa esterilizadora
- balanza analítica Pioneer PA224 "OHAUS"
- cocinilla eléctrica
- Equipo de disección
- Lámparas UV 254 nm y 366nm.
- Balanza sensible al 0,1 g Metler

Materiales de vidrio

- Beaker Pyrex® 100, 250, 500 y 1000 ml
- Frascos ámbar boca ancha
- Guantes quirúrgicos
- Tubos de ensayo Pyrex®
- Probetas Pyrex® 100 Y 250 ml.
- Pipeta 5,10 y 10 ml
- Cubeta cromatográfica.
- Fiolas 25ml, 50ml ,100ml
- Probetas 100ml
- Mortero porcelana
- Crisol
- Tubo capilar

Materiales (otros)

- Papel craf
- Gradilla
- Pinzas de madera
- Lanceta
- Sonda metálica para administración oral

Reactivos

Prueba de Solubilidad, marcha fitoquímica y cromatografía

- Alcohol 96°
- agua desionizada purificada (conductividad =1 y PH= 5.57)
- Metanol marca Merck
- Etanol
- Cloroformo marca Merck
- Para la prueba de Shinoda (HCl concentrado (MERCK) y limaduras de Mg.
- Para la prueba de taninos reactivos (gelatina – sal)
- Yodo, NaOH
- cloruro férrico
- reactivo de ninhidrina
- reactivo de molish.
- Sílica gel G₂₅₄
- Ácido Sulfúrico H₂SO₄[]
- Reactivo de Molish
- Reactivo de Lieberman
- Reactivo de dragendorff

Recursos ambientales

El siguiente estudio ha sido realizado en dos lugares distintos:

El condicionamiento y secado de la hojas y tallos; la preparación del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* como también para la prueba de solubilidad, el screening fitoquímico, y la preparación de la concentración a usar se realizó en los laboratorios de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, mientras que para la prueba del efecto antiinflamatorio así como el acondicionamiento de las ratas.

Lugar: El bioterio de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSN

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1 Técnica de recolección de datos

En el presente trabajo de investigación se llevó a cabo la recolección de datos con la técnica de la observación estructurada, donde el investigador realiza una evaluación y registra dichos datos en el instrumento de investigación.

3.4.2 Instrumento de recolección de datos

El instrumento de recolección de datos en el presente trabajo de investigación fue una ficha de observación Ad-Hoc, que ha sido validada por el juicio de expertos., elaborada con fines de investigación. El documento cuenta con ítems acorde a los indicadores de las variables operacionalizadas. La mencionada ficha será registrada únicamente por el investigador.

3.4.3 Validación

El instrumento que se empleó requirió de validación previa, la cual se estableció en base a la determinación de su viabilidad, confiabilidad y validez y sensibilidad.

En la viabilidad del instrumento se alcanzó en base a su sencillez, ya que, al constar de solo una cara, y de no requerir procedimientos complejos, la recolección de datos no supuso esfuerzos excesivos por parte del investigador.

En lo referente a la sensibilidad al cambio, el instrumento definía claramente la evaluación según el tipo de tratamiento, poseyendo capacidad discriminativa en los datos recolectados.

La validez del instrumento se obtuvo mediante la evaluación por juicio de expertos, quienes fueron:

- Q.F. Britt Alvarado Chávez
- Q.F. Carlos Casanova Vargas
- Q.F. Pablo Enrique Bonilla Rivera

Los jueces calificaron las características del instrumento por medio de una ficha de validación de expertos (Ver Anexo 4), para lo que se le entregó a cada uno la matriz de consistencia interna del estudio (Ver Anexo 4).

3.5. Procedimiento

3.5.1 Colección de la especie vegetal a estudiar

Para la obtención del extracto *Senecio calvus Cuatrecasas*, se recolectó la muestra en la región de Ancash en la Facultad de Ciencias forestales de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo mientras que la recolección fue realizada gracias a la ayuda con ayuda y guía de la ingeniera ambiental R. Garay y fue clasificado e identificado taxonómicamente por un biólogo-taxónomo Halminton Beltran.

3.5.2 Obtención del extracto etanólico de las hojas y tallo de *Senecio calvus Cuatrecasas*.

Método usado: Maceración

Procedimiento:

1. Las hojas y tallos *Senecio calvus Cuatrecasas* fueron seleccionados y sometidos a un proceso de limpieza para eliminar cualquier residuo o impurezas conservando solo las de buen estado.

2. Se puso a secar, una vez secas se pulverizo hasta que se obtuvo partículas finas del tallo; cual fueron almacenadas en dos frascos ámbar de boca ancha de un litro de capacidad; se les agrego alcohol de 96° por 8 días de maceración con agitación tres veces por día y en oscuridad.

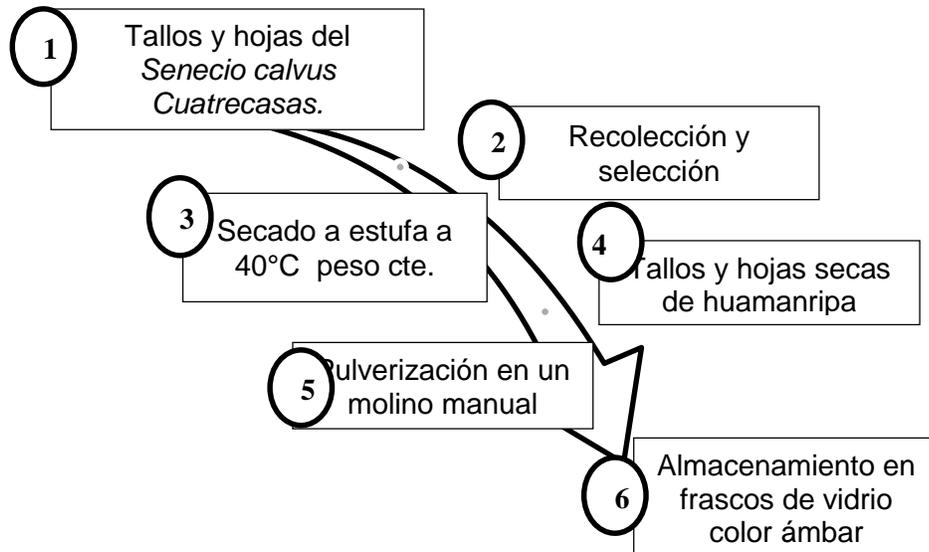


Figura N° 7: Esquema del tratamiento de la planta

3.5.3 Análisis fisicoquímico del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana)

Prueba de solubilidad

Muestra problema: extracto etanólico seco de tallo hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa)

Solventes: los solventes fueron ordenados según su polaridad como se detalla a continuación:

Tabla N° 4 : Tabla de solventes ordenados de acuerdo a su polaridad

SOLVENTES						
N-Hexano	Benceno	Diclorometano	Acetato de Etilo	Metanol	Etanol	Agua
No polar	No polar	Poco polar	Mediamente polar	Polar	Polar	Polar

Fuente: Investigación Fitoquímica, Olga Lock

Procedimiento:

1. A cada uno de los 7 tubos de ensayo se colocó una alícuota de 1.5mL (5mg) del extracto etanólico seco
2. Luego se adiciono a cada tubo un solvente diferente a analizar y se agito hasta observar.

3.5.4 Marcha fitoquímica

Muestra problema: extracto etanólico seco de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana).

Procedimiento: en un tubo de ensayo se colocó 5 a 6 gramos del extracto seco y se le adiciono 7 mL de etanol, estando en una agitación por 2 a 3 minutos. Luego se distribuyó en 11 tubos de ensayos

Reactivos:

Tabla N° 5: Reconocimiento fitoquímico de los metabolitos secundarios

REACTIVO	IDENTIFICACIÓN	PROCEDIMIENTO	INTERPRETACIÓN
Reactivo de Gelatina 1%	Taninos	II a V gotas del reactivo	Precipitado
Reactivo de Ninhidrina	Aminoácidos libres	II a III gotas del reactivo	Presencia de color violeta
Reactivo de Dragendorff	Alcaloides y compuestos aminados	II a V gotas del reactivo	Rojo a naranja
Reactivo de Mayer	Alcaloides	II a V gotas del reactivo	Blanco a crema
Reactivo de Wagner	Alcaloides	II a III gotas del reactivo	Marrón
Reactivo de Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	III gotas de un reactivo.	Colores intensos: azul, verde o negro.
Reactivo de Borntrager	Quinonas	1ml de reactivo	Rojo
Reactivo de Shinoda	Compuestos fenólicos tipo flavonoides	Limadura de Mg, al último se adiciona II gotas de HCL [] conc.	Tonos rojos
Reactivo de Molisch	Carbohidratos	VI gotas de ácido H ₂ SO ₄ y seguidamente II gotas del rtvo.	Presencia de un aro
Reactivo de Liberman	Triterpenos o núcleo eteroidal	III gotas de reactivo	Rosado-azul muy rápido. Verde intenso-visible aunque rápido. Verde oscuro-negro-final de la reacción

Fuente: Olga L. Investigación Fitoquímica (2016)

3.5.5 Cromatografía de capa fina

Muestra Problema: extracto etanólico seco de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana).

Fase Móvil: diclorometano: metanol (3:1)

Fase Estacionaria: placa cromatográfica de Sílica gel G₂₅₄

Solución reactivo revelador: FeCl₃ al 1% se revela la presencia de todos los compuestos fenólicos.

Procedimiento:

- Se puso una alícuota del extracto concentrado en un tubo de ensayo donde se le añadió metanol para volverlo líquido, seguidamente se procedió a sembrar en las cromatoplasmas con una distancia de 1.25cm unas 30 veces de muestra la problema.
- Los cromatoplasmas fueron dejados en una cámara cromatográfica, en donde la fase móvil recorrió hasta tres cuartas partes de la fase estacionaria y se retiró para pasar a revelar con el reactivo.
- Finalmente se llevó a las lámparas UV a 254 nm y 366nm para observar.

3.5.6 Evaluación del efecto antiinflamatorio de extracto etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas* “Huamanripa serrana” (Método del edema plantar)

Muestra problema: extracto etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas*.

Patrones: ácido acetilsalicílico (AAS) y naproxeno sódico.

Animales de experimentación: 30 ratas albinas hembras procedentes del bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina, 2 meses de edad y un peso promedio 200 g \pm 50g, de la cepa holtzman.

Materiales:

- Sonda metálica para administración oral
- Balanza sensible al 0,1 g Metler
- Vernier Digital Calipers/Electric Lcd Display Calipers

Tabla N° 6: Concentraciones de las sustancias administradas a cada grupo de trabajo para la evaluación

GRUPO	CONCENTRACIONES ADMINISTRADAS
G1	Control (suero fisiológico)
G2	Extracto del <i>Senecio calvus</i> C. al 0.625% (125 mg/kg)
G3	Extracto del <i>Senecio calvus</i> C. al 1.25% (250 mg/kg)
G4	Extracto del <i>Senecio calvus</i> C. al 2.5% (500 mg/kg)
G5	Patrón al 0.25%(AAS 50mg /kg)
G6	Patrón 0.5 % (Naproxeno sódico 50mg /kg)

Preparación de patrones:

Ácido acetilsalicílico: tabletas de 500mg de ácido acetilsalicílico (ASPIRINA)

- Primero, se pesó la tableta entera de ASPIRINA FORTE, luego se trituró con la ayuda de un mortero, tomándose el peso de 62.5mg de AAS.
- Segundo, se suspendió en 20mL de agua desionizada y se llevó a una fiola de 25mL aforado con agua.

Naproxeno sódico: tabletas de 550mg de Naproxeno sódico (APRONAX 550)

- Primero, se pesó la tableta entera de APRONAX 550, luego se trituró con la ayuda de un mortero, tomándose el peso de 125mg de Naproxeno sódico.
- Segundo, se suspendió en 20mL de agua desionizada y se llevó a una fiola de 25mL aforado con agua.

Preparación de la de las concentraciones de la muestra problema:

- Se pesó en un beacker el peso de 1.25g del extracto seco del *Senecio Calvus* C. seguidamente se agregó aproximadamente 40mL de agua

desionizada purificada agitándola constantemente y se aforó en una fiola de 50mL obteniendo la concentración 1.

- Seguidamente de esta se tomó 25mL a una fiola de 50mL y se aforo con agua obteniendo la concentración 2.
- Finalmente se tomó 25mL de la concentración 2 y se llevó a una fiola de 50ml y se aforó formando la concentración 3.

Procedimiento:

- Se procedió a efectuar medición del estado basal del volumen de la pata posterior izquierda de la rata a trabajar
- La administración de λ carragenina al 1% (0.1mL) fue suspendido en NaCl 0.9% , en la pata posterior izquierda de cada una de las ratas
- Se le administró a cada grupo según lo descrito.
- Pasado 2 horas se procedió a medir el volumen de las patas inflamadas, aun sin tratamiento, con un vernier digital calibrado, y se anotó el valor en el instrumento para la recolección de datos.
- Después se efectuó la primera aplicación, se procedió a medir el volumen de las patas inflamadas, ya con tratamiento, con un vernier digital calibrado, y se anotó el valor en el instrumento elaborado para la recolección de datos.

Tabla N° 7: Concentraciones de las sustancias administradas a cada grupo de trabajo para su evaluación del efecto antiinflamatorio

GRUPO	MUESTRA	CONCENTRACIONES ADMINISTRADAS
G1	5	Carragenina (Blanco) + suero fisiológico
G2	5	Carragenina + Extracto de <i>Senecio Calvus C.</i> al 0.625% (125 mg/kg)
G3	5	Carragenina + Extracto de <i>Senecio Calvus C.</i> al 1.25% (250 mg/kg)
G4	5	Carragenina + Extracto de <i>Senecio Calvus C.</i> al 2.5% (500 mg/kg)
G5	5	Carragenina + Patrón al 0.25%(AAS 50mg /kg)
G6	5	Carragenina + Patrón 0.5 % (Naproxeno sódico 50mg /kg)

Los tiempos fueron T= 30', 60', 120',360',480'

$$X = [\Delta M/M_0 - \Delta N/N_0] / \Delta M/M_0 \times 100$$

Donde:

$\Delta M/M_0$: incremento del volumen del control debido a la inflamación en base al volumen inicial.

$\Delta N/N_0$: incremento de volumen inflamado, pero tratado con un agente antiinflamatorio.

El análisis estadístico determinándose la significación entre los grupos tratados con el extracto, con los patrones y el grupo control con el análisis de varianza (utilizando el programa SPSS 22).

3.5.7 Estudio histológico

Después de 12 h de la evaluación se procedió a seleccionar 1 modelo experimental el cual tuvo mayor efecto para sacrificarlos mediante dislocación cervical, seguidamente se realizaron cortes del granuloma de aproximarte 0.5 x10 cm de espesor .los cuales fueron fijados en formol al 10% siendo luego seccionados en porciones de 2mm (espesor) para luego ser coloreados con He (hematoxilina –eosina) y revisados con un microscopio óptico para su lectura histológica.

3.5.8 Dosis letal media

Fundamento: este método se usó ensayos según el OECD425 como guía, el cual consistía en determinar un porcentaje de mortalidad del extracto etanólico a través de con concentración de 2000 mg/kg, 1000 mg/kg y 5000mg/kg la cual

fue administrada de manera intragástricas para así determinar la dosis que generaba la muerte de los animales tratados.

Muestra problema: Extracto etanólico de *Senecio calvus* Cuatrecasas “huamanripa”

Material biológico: 9 ratones albinos machos con 2 meses de edad con peso promedio de 25+5g.

Procedimiento:

- Se empezó con la aclimatación de los animales la cual fue: 23 + 2°C; humedad = < 70%; 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.
- Su alimentación consistió en alimento balanceado según las normas.
- El total de animales fueron distribuidos en 4 grupos de 3 animales por tratamiento, siendo un grupo el control hasta 12 h de realizada la presente prueba.
- La presente prueba se realizó de la siguiente manera de trato al grupo 1 fue el control al que se le administro suero fisiológico, el grupo 2 con la dosis de 1000 mg/kg de ratones y finalmente el grupo 3 con la dosis de 2000mg /kg.
- Se realizó un control final de los pesos de los animales al día 14.
- Finalizada la prueba se procedió a pesar el hígado y el riñón y a observar macroscópicamente su comportamiento, sistema respiratorio, sistema digestivo, cardiovascular, urogenital, piel, muscular y compromiso sistémico.
- En base a la siguiente tabla:

Tabla N° 8: Signos y síntomas evaluados

1. Comportamiento	<p>Agresividad</p> <ul style="list-style-type: none"> - Convulsiones - Movimiento en círculo - Letárgica
2. Respiratorio	<ul style="list-style-type: none"> - Dificultad respiratoria: Disnea
3. Digestivo	<ul style="list-style-type: none"> - Constipación - Diarrea
4. Cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> - Cianosis - Sangrado por orificios naturales
5. Urogenital	<ul style="list-style-type: none"> - Alteraciones en volumen urinario: Anuria/poliurea - Orina turbia
6. Piel	<ul style="list-style-type: none"> - Mucosas ictericas - Piloerección - Reflejo pupilar: Midriasis/Miosis
7. Muscular	<ul style="list-style-type: none"> - Cojera - Inmovilidad - Temblor
8. Compromiso Sistémico	<ul style="list-style-type: none"> - Coma - Deshidratación - Alteración ingesta de alimentos - Postración - Rigidez abdominal -Alteración de la temperatura corporal: hipertermia/hipotermia

Tabla N° 9: Tratamientos de experimentación en dosis letal media

Dosis (mg / Kg rata)	N° de animales Machos
Control	3
1000 mg/kg	3
2000 mg/kg	3

3.6 Procesamiento de datos

Posteriormente a la recolección de datos del presente trabajo de investigación se procedió a organizar las fichas de recolección de datos (Ad-hoc) y enumerarlas para ingresar a la base de datos en Microsoft Excel.

El procesado de los datos se llevó a cabo en una laptop de marca Toshiba, con sistema operativo Windows 10.

La información recolectada fue analizada con el paquete estadístico SPSS en su versión de acceso; se utilizó estadística inferencial para la docimasia de las hipótesis de la investigación, la cual se llevará a cabo mediante la realización de la prueba estadística paramétrica para muestras relacionadas, escogiéndose para el presente caso la prueba ANOVA de medidas repetidas de dos factores en base a lo planteado.

Los resultados muestrales fueron inferidos a la población mediante estimación por intervalo a un 95% de confianza.

CAPITULO IV:
PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados

4.1.1 Resultado del porcentaje de rendimiento del extracto:

Tabla N° 10: Rendimiento del extracto

	Extracto etanólico
Peso de la muestra inicial molida (g)	600
Peso final del extracto seco (g)	7.8
Porcentaje de extracción (%)	1.30%

4.1.2 Prueba de solubilidad

Tabla N° 11: Marcha de solubilidad del extracto seco de las hojas y tallos del *Senecio calvus* Cuatrecasas

NÚMERO DE TUBO	SOLVENTE	RESULTADO
Tubo n°1	N-Hexano	-
Tubo n°2	Benceno	+/-
Tubo n°3	Diclorometano	+
Tubo n°4	Acetato de etilo	++
Tubo n°5	Metanol	++
Tubo n°6	Etanol	++
Tubo n°7	Agua	++

Negativo (-), dudoso (+/-), positivo (+)

El estudio de las propiedades de solubilidad y su comportamiento a las reacciones de color puede determinar la clasificación o el tipo de compuesto orgánico deseado según la Dra. Olga Lock.

4.1.3 Tamizaje fitoquímico

Tabla N° 12: Tamizaje fitoquímico del extracto seco de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas*

GRUPO DE COMPUESTO	ENSAYO	RESULTADO
Carbohidratos	Molisch	+
Alcaloides y compuestos aminados	Dragendorff	+
Alcaloides	Mayer	++
	Wagner	++
Fenoles y Taninos	FeCl ₃	+++
	Gelatina	++
Flavonoides	Shinoda	+++
Quinonas	Borntrager	+
Triterpenos y núcleo Esteroidal	Liberman	+
Aminoácidos	Ninhidrina	-

Negativo (-), dudoso (+/-), positivo (+), muy positivo (+ +), no determinado (ND)

Observaciones:

- **Carbohidratos: (Molisch):** la presencia de carbohidratos se detecta con la aparición de un anillo violeta. La prueba resulto positiva al presenciarse un anillo en la parte inferior del tubo.
- **Alcaloides y compuestos aminados: Reactivo de Dragendorff:** es positivo al presentar una coloración de roja a naranja. Nuestra muestra se aprecia un color de débilmente anaranjado semi-rojizo. nos positivo en esta prueba.
- **Alcaloides (Reactivo de Mayer):** es positivo al presentar una coloración de blanco a crema en una forma de precipitado. Nuestra muestra se observó un color blanco que nos da como resultado positivo.

- **Alcaloides (Reactivo de Wagner):** es positivo al presentar un color marrón nos dio positivo antes esta prueba.
- **Compuestos fenólicos:(FeCL3):** dan coloraciones azules, verde o negra. Nos da muy positivo al presentar un color verde azulado oscuro de gran intensidad.
- **Taninos: (Reacción- gelatina-sal):** presencia de un precipitado. Nuestra muestra presenta un precipitado blanquecino dándonos como resultado positivo.
- **Flavonoides: (Reactivo de Shinoda):** las coloraciones rojas (flavonas), roja a crimson (flavonoles), crimson a magenta (flavonas), roja a veces azul o verdes son consideradas positivas. Nos dio positivo presentar un color rojizo (intenso).
- **Terpenos y Esteroides (Reactivo de Lieberman):** la reacción es positivo al presentar una coloración que varía de roja o azul. Nuestra muestra presenta una coloración semi-azulada dando débilmente positivo.
- **Naftoquinonas y antraquinonas (Reactivo de Borntrager):** el reactivo presenta dos fases una fase acuosa y otra fase lechosa, positivo cuando se tiñe de rojo la fase acuosa. Nuestra muestra da débilmente positivo porque se tiñe de rojo claro en la fase acuosa.
- **Aminoácidos (Ninhidrina):** la presencia de aminoácidos se detecta con la aparición de color violeta. En nuestra muestra nos da negativo.

Fuente: Olga Lock de Ugaz. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales

4.1.4 Cromatografía capa fina

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por el problema (desde el origen)}}{\text{Distancia recorrida por el frente de disolvente (desde el origen)}}$$

Tabla N° 13: Frente de retención (Rf) del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas*

Muestras	Extracto de <i>Senecio calvus</i> <i>Cuatrecasas</i>
Rf	0.53

Revelador: FeCl₃ al 1% se revela la presencia de todos los compuestos fenólicos

Tabla N° 14: Revelado con la luz ultravioleta de las cromatoplasmas de los extractos

CROMATOPLACAS	RANGO	LUZ ULTRAVIOLETA CORTA	MANCHAS
N°1	254nm (230-280)	(UVC)corta	Purpuras
	280nm-320nm	(UVM)	
N°2	320nm-400m	(UVL) larga	Celeste fluorescente

Fuente: Olga Lock De Ugaz en su libro Investigación Fitoquímica. (2016)

4.1.5 Prueba de hipótesis del efecto antiinflamatorio en el extracto etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas*

I. Formulación de la hipótesis estadística

H_g: El extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) presenta efecto antiinflamatorio en ratas albinas con edema plantar inducido con carragenina.

H₀: El extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) no presenta efecto antiinflamatorio en ratas albinas con edema plantar inducido con carragenina.

I. Establecer nivel de significancia:

Para la presente investigación se decidió trabajar con un nivel de confianza del 95%, correspondiente a un nivel de significancia (α) de 5% =0.05.

II. Determinación del estadígrafo a emplear:

Al tratarse de una variable independiente cualitativa y una variable dependiente cuantitativa que se desarrollan en un diseño longitudinal lo cual se planteó emplear el ANOVA (dos factores).

III. Estimación del P-valor:

Se llevó a cabo la ejecución de Análisis de Varianza (ANOVA) a fin de poner a prueba la hipótesis planteada y test de Tukey para la evaluación de subconjuntos homogéneos.

Tabla N° 15 Evaluación del modelo de análisis de varianza (ANOVA) de la magnitud en mm (milímetro) de la inflamación.

ANOVA

Grupos		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Control	Entre grupos	104,929	5	20,986	56,680	0,000
	Dentro de grupos	8,886	24	,370		
	Total	113,815	29			
125mg/kg	Entre grupos	57,858	5	11,572	25,488	0,000
	Dentro de grupos	10,896	24	,454		
	Total	68,754	29			
250mg/kg	Entre grupos	29,823	5	5,965	13,634	0,000
	Dentro de grupos	10,499	24	,437		
	Total	40,322	29			
500mg/kg	Entre grupos	20,090	5	4,018	7,378	0,000
	Dentro de grupos	13,070	24	,545		
	Total	33,160	29			
AAS	Entre grupos	42,246	5	8,449	26,809	0,000
	Dentro de grupos	7,564	24	,315		
	Total	49,810	29			
NAPROXENO SODICO	Entre grupos	23,631	5	4,726	5,754	0,001
	Dentro de grupos	19,712	24	,821		
	Total	43,342	29			

+Análisis significativo de cada factor

+Diferencia estadísticamente significativa al 95% de confianza ($p < 0.05$)

IV. Toma de Decisión

Al encontrarse un P-Valor menor a 0.05, se rechazó la hipótesis nula, por lo que declararemos que se ha establecido la dependencia de las variables; dicho de otro modo cada tratamiento evaluado varía significativamente conforme pasa el tiempo.

Tabla N° 16: Comparación post-hoc de las medias de la magnitud en mm (milímetros) de la inflamación entre tratamiento a evaluar y momento de evaluación (Test de Tukey)

Tabla N° 17: Momento a comparar: 0 min

Tratamientos a comparar

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
125mg/kg	250mg/kg	0,1440	0,17359	0,959**	-0,4216	0,7096
	500mg/kg	0,0220	0,17359	1,000**	-0,5436	0,5876
	AAS	-0,1860*	0,17359	0,888**	-0,7516	0,3796
	Control	0,2300	0,17359	0,769**	-0,3356	0,7956
	Naproxeno	0,4200	0,17359	0,189**	-0,1456	0,9856
250mg/kg	125mg/kg	-0,1440*	0,17359	0,959**	-0,7096	0,4216
	500mg/kg	-0,1220*	0,17359	0,980**	-0,6876	0,4436
	AAS	-0,3300*	0,17359	0,426**	-0,8956	0,2356
	Control	0,0860	0,17359	0,996**	-0,4796	0,6516
	Naproxeno	0,2760	0,17359	0,613**	-0,2896	0,8416
500mg/kg	125mg/kg	-0,0220*	0,17359	1,000**	-0,5876	0,5436
	250mg/kg	0,1220	0,17359	0,980**	-0,4436	0,6876
	AAS	-0,2080*	0,17359	0,833**	-0,7736	0,3576
	Control	0,2080	0,17359	0,833**	-0,3576	0,7736
	Naproxeno	0,3980	0,17359	0,235**	-0,1676	0,9636
AAS	125mg/kg	0,1860	0,17359	0,888**	-0,3796	0,7516
	250mg/kg	0,3300	0,17359	0,426**	-0,2356	0,8956
	500mg/kg	0,2080	0,17359	0,833**	-0,3576	0,7736
	Control	0,4160	0,17359	0,197**	-0,1496	0,9816
	Naproxeno	0,6060	0,17359	0,021*	0,0404	1,1716
Naproxeno	125mg/kg	-0,4200*	0,17359	0,189**	-0,9856	0,1456
	250mg/kg	-0,2760*	0,17359	0,613**	-0,8416	0,2896
	500mg/kg	-0,3980*	0,17359	0,235**	-0,9636	0,1676
	AAS	-0,6060*	0,17359	0,021*	-1,1716	-0,0404
	Control	-0,1900*	0,17359	0,879**	-0,7556	0,3756

Diferencia estadísticamente significativa al 95% de confianza ($p < 0.05$)*, $p > 0.05$ **

Observación:

Se observa en la tabla N°17 que hay diferencias no significativas de los tratamientos empleados comparados con el tratamiento del grupo de control ($p < 0.05$), observándose mayor diferencia significativa en el extracto de 250mg/kg y en el naproxeno sódico.

Tabla N° 18: Momento a comparar: 30 min

Tratamientos a comparar

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
125mg/kg	250mg/kg	0,3080	0,50873	0,990**	-1,3496	1,9656
	500mg/kg	0,0520	0,50873	1,000**	-1,6056	1,7096
	AAS	-1,6280*	0,50873	0,040*	-3,2856	,0296
	Control	0,2360	0,50873	0,997**	-1,4216	1,8936
	Naproxeno	0,2640	0,50873	0,995**	-1,3936	1,9216
250mg/kg	125mg/kg	-0,3080*	0,50873	0,990**	-1,9656	1,3496
	500mg/kg	-0,2560*	0,50873	0,996**	-1,9136	1,4016
	AAS	-1,9360*	0,50873	0,010*	-3,5936	-0,2784
	Control	-0,0720*	0,50873	1,000**	-1,7296	1,5856
	Naproxeno	-0,0440	0,50873	1,000**	-1,7016	1,6136
500mg/kg	125mg/kg	-0,0520	0,50873	1,000**	-1,7096	1,6056
	250mg/kg	0,2560	0,50873	0,996**	-1,4016	1,9136
	AAS	-1,6800*	0,50873	0,032*	-3,3376	-0,0224
	Control	0,1840	0,50873	0,999**	-1,4736	1,8416
	Naproxeno	0,2120	0,50873	0,998	-1,4456	1,8696
AAS	125mg/kg	1,6280	0,50873	0,040*	-,0296	3,2856
	250mg/kg	1,9360	0,50873	0,010*	0,2784	3,5936
	500mg/kg	1,6800	0,50873	0,032*	0,0224	3,3376
	Control	1,8640	0,50873	0,014*	0,2064	3,5216
	Naproxeno	1,8920	0,50873	0,012*	0,2344	3,5496
Naproxeno	125mg/kg	-0,2640*	0,50873	0,995	-1,9216	1,3936
	250mg/kg	0,0440	0,50873	1,000	-1,6136	1,7016
	500mg/kg	-0,2120*	0,50873	0,998	-1,8696	1,4456
	AAS	-1,8920*	0,50873	0,012	-3,5496	-0,2344
	Control	-0,0280*	0,50873	1,000	-1,6856	1,6296

Diferencia estadísticamente significativa al 95% de confianza ($p < 0.05$)*, $p > 0.05$ **.

Diferencia significativa de medias es menor a 0.05*

Observación:

Se observa en la tabla N°18 que hay diferencias no significativas de los tratamientos empleados comparados con el tratamiento del grupo de control ($p < 0,05$) pero en algunos casos como, observarse mayor diferencia significativa en el extracto del *Senecio calvus Cuatrecasas* en 250mg/kg y en el naproxeno sódico. Mientras que para la diferencia de medias se encuentra en menor el extracto del *Senecio calvus Cuatrecasas* en 250mg/kg (-0,0720) y naproxeno sódico (-0,0280).

Tabla N° 19: Momento a comparar: 60 min

Tratamientos a comparar

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
125mg/kg	250mg/kg	0,8920	0,50721	0,509**	-,07607	2,5447
	500mg/kg	1,3040	0,50721	0,144**	-0,3487	2,9567
	AAS	0,5780	0,50721	0,860**	-1,0747	2,2307
	Control	-0,0080*	0,50721	1,000**	-1,6607	1,6447
	Naproxeno	1,1920	0,50721	0,214**	-0,4607	2,8447
250mg/kg	125mg/kg	-0,8920*	0,50721	0,509**	-2,5447	0,7607
	500mg/kg	0,4120	0,50721	0,962**	-1,2407	2,0647
	AAS	-0,3140*	0,50721	0,989**	-1,9667	1,3387
	Control	-0,9000*	0,50721	0,500**	-2,5527	0,7527
	Naproxeno	0,3000	0,50721	0,991**	-1,3527	1,9527
500mg/kg	125mg/kg	-1,3040*	0,50721	0,144**	-2,9567	0,3487
	250mg/kg	-0,4120*	0,50721	0,962**	-2,0647	1,2407
	AAS	-0,7260*	0,50721	0,708**	-2,3787	0,9267
	Control	-1,3120*	0,50721	0,139**	-2,9647	0,3407
	Naproxeno	-0,1120	0,50721	1,000**	-1,7647	1,5407
AAS	125mg/kg	-0,5780	0,50721	0,860**	-2,2307	1,0747
	250mg/kg	0,3140	0,50721	0,989**	-1,3387	1,9667
	500mg/kg	0,7260	0,50721	0,708**	-,9267	2,3787
	Control	-0,5860*	0,50721	0,853**	-2,2387	1,0667
	Naproxeno	0,6140	0,50721	0,827**	-1,0387	2,2667
Naproxeno	125mg/kg	-1,1920*	0,50721	0,214**	-2,8447	0,4607
	250mg/kg	-0,3000*	0,50721	0,991**	-1,9527	1,3527
	500mg/kg	0,1120	0,50721	1,000**	-1,5407	1,7647
	AAS	-0,6140*	0,50721	0,827**	-2,2667	1,0387
	Control	-1,2000*	0,50721	0,208**	-2,8527	0,4527

Diferencia estadísticamente significativa al 95% de confianza ($p < 0.05$)*, $p > 0.05$ **.

Diferencia significativa de medias es menor a 0.05

Observación:

Se observa en la tabla N°19 que hay diferencias no significativas de los tratamientos empleados comparados con el tratamiento del grupo de control ($p < 0.05$). Mientras que para la diferencia de medias se encuentra en menor el extracto del *Senecio calvus* Cuatrecasas en 500mg/kg (-1,3120) y naproxeno sódico (-1,2000).

Tabla N° 20: Momento a comparar: 120 min

Tratamiento a comparar

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
125mg/kg	250mg/kg	1,2640	0,48898	0,140**	-0,3293	2,8573
	500mg/kg	1,8080	0,48898	0,013*	0,2147	3,4013
	AAS	0,3440	0,48898	0,980**	-1,2493	1,9373
	Control	-0,2460*	0,48898	0,996**	-1,8393	1,3473
	Naproxeno	2,3880*	0,48898	0,001*	0,7947	3,9813
250mg/kg	125mg/kg	-1,2640*	0,48898	0,140	-2,8573	0,3293
	500mg/kg	0,5440	0,48898	0,871**	-1,0493	2,1373
	AAS	-0,9200	0,48898	0,437**	-2,5133	0,6733
	Control	-1,5100*	0,48898	0,050	-3,1033	0,0833
	Naproxeno	1,1240	0,48898	0,233**	-,4693	2,7173
500mg/kg	125mg/kg	-1,8080*	0,48898	0,013*	-3,4013	-0,2147
	250mg/kg	-0,5440*	0,48898	0,871**	-2,1373	1,0493
	AAS	-1,4640	0,48898	0,062**	-3,0573	0,1293
	Control	-2,0540*	0,48898	0,004*	-3,6473	-0,4607
	Naproxeno	0,5800	0,48898	0,839**	-1,0133	2,1733
AAS	125mg/kg	-0,3440*	0,48898	0,980**	-1,9373	1,2493
	250mg/kg	0,9200	0,48898	0,437**	-,6733	2,5133
	500mg/kg	1,4640	0,48898	0,062**	-,1293	3,0573
	Control	-0,5900	0,48898	0,829**	-2,1833	1,0033
	Naproxeno	2,0440	0,48898	0,004*	,4507	3,6373
Naproxeno	125mg/kg	-2,3880*	0,48898	0,001*	-3,9813	-0,7947
	250mg/kg	-1,1240*	0,48898	0,233**	-2,7173	0,4693
	500mg/kg	-0,5800*	0,48898	0,839**	-2,1733	1,0133
	AAS	-2,0440*	0,48898	0,004*	-3,6373	-0,4507
	Control	-2,6340*	0,48898	0,000	-4,2273	-1,0407

Diferencia estadísticamente significativa al 95% de confianza ($p < 0.05$)*, $p > 0.05$ **.

Diferencia significativa de medias es menor a 0.05*

Observación:

Se observa en la tabla N°20 que hay diferencias no significativas en algunos de los tratamientos empleados comparados con el tratamiento del grupo de control pero en el caso del naproxeno sódico y el extracto del Senecio calvus Cuatrecasas 500mg/kg si presenta ($p < 0,05$). Mientras que para la diferencia de medias se encuentra en menor el extracto del Senecio calvus Cuatrecasas en 500mg/kg (-2,0540) y el naproxeno sódico (-2,6340).

Tabla N° 21: Momento a comparar: 360 min

Tratamientos a comparar

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
125mg/kg	250mg/kg	1,2620	0,46831	0,113**	-,2639	2,7879
	500mg/kg	1,9300*	0,46831	0,005*	,4041	3,4559
	AAS	0,3260	0,46831	0,981**	-1,1999	1,8519
	Control	-0,8840	0,46831	0,433**	-2,4099	0,6419
	Naproxeno	2,6980*	0,46831	0,000*	1,1721	4,2239
250mg/kg	125mg/kg	-1,2620	0,46831	0,113**	-2,7879	0,2639
	500mg/kg	0,6680	0,46831	0,711**	-,8579	2,1939
	AAS	-0,9360	0,46831	0,372**	-2,4619	0,5899
	Control	-2,1460*	0,46831	0,001*	-3,6719	-0,6201
	Naproxeno	1,4360	0,46831	0,053**	-0,0899	2,9619
500mg/kg	125mg/kg	-1,9300*	0,46831	0,005*	-3,4559	-0,4041
	250mg/kg	-0,6680	0,46831	0,711**	-2,1939	0,8579
	AAS	-1,6040*	0,46831	0,024*	-3,1299	-0,0781
	Control	-2,8140*	0,46831	0,000*	-4,3399	-1,2881
	Naproxeno	0,7680	0,46831	0,582**	-0,7579	2,2939
AAS	125mg/kg	-0,3260	0,46831	0,981**	-1,8519	1,1999
	250mg/kg	0,9360	0,46831	0,372**	-0,5899	2,4619
	500mg/kg	1,6040*	0,46831	0,024*	0,0781	3,1299
	Control	-1,2100	0,46831	0,140**	-2,7359	0,3159
	Naproxeno	2,3720*	0,46831	0,000*	0,8461	3,8979
Naproxeno	125mg/kg	-2,6980*	0,46831	0,000*	-4,2239	-1,1721
	250mg/kg	-1,4360	0,46831	0,053**	-2,9619	0,0899
	500mg/kg	-0,7680	0,46831	0,582**	-2,2939	0,7579
	AAS	-2,3720*	0,46831	0,000*	-3,8979	-0,8461
	Control	-3,5820*	0,46831	0,000*	-5,1079	-2,0561

Diferencia estadísticamente significativa al 95% de confianza ($p < 0.05$)*, $p > 0.05$ **.
 Diferencia significativa de medias es menor a 0.05*

Observación:

Se observa en la tabla N°21 que hay diferencias no significativas en algunos de los tratamientos empleados comparados con el tratamiento del grupo de control pero en el caso del naproxeno sódico, el extracto del *Senecio calvus Cuatrecasas* en 500mg/kg y 250mg/kg si presenta ($p < 0,05$). Mientras que para la diferencia de medias se encuentra en menor el extracto del *Senecio calvus Cuatrecasas* en 500mg/kg (-2,8140), 250mg/kg (-2,1460) y el naproxeno sódico (-3,5820).

Tabla N° 22: Momento a comparar: 480 min

Tratamientos a comparar

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
125mg/kg	250mg/kg	1,2340	0,43611	0,047*	-,1870	2,6550
	500mg/kg	2,0440*	0,43611	0,001*	0,6230	3,4650
	AAS	-0,1100	0,43611	0,050*	-1,5310	1,3110
	Control	-2,0060*	0,43611	0,001*	-3,4270	-0,5850
	Naproxeno	2,2860*	0,43611	0,000*	,8650	3,7070
250mg/kg	125mg/kg	-1,2340	0,43611	0,087**	-2,6550	0,1870
	500mg/kg	0,8100	0,43611	0,451**	-,6110	2,2310
	AAS	-1,3440	0,43611	0,041*	-2,7650	,0770
	Control	-3,2400*	0,43611	0,000*	-4,6610	-1,8190
	Naproxeno	1,0520	0,43611	0,192**	-,3690	2,4730
500mg/kg	125mg/kg	-2,0440*	0,43611	0,001*	-3,4650	-0,6230
	250mg/kg	-0,8100	0,43611	0,041*	-2,2310	0,6110
	AAS	-2,1540*	0,43611	0,001*	-3,5750	-0,7330
	Control	-4,0500*	0,43611	0,000*	-5,4710	-2,6290
	Naproxeno	0,2420	0,43611	0,003*	-1,1790	1,6630
AAS	125mg/kg	0,1100	0,43611	1,000**	-1,3110	1,5310
	250mg/kg	1,3440	0,43611	0,051**	-0,0770	2,7650
	500mg/kg	2,1540*	0,43611	0,001*	0,7330	3,5750
	Control	-1,8960*	0,43611	0,003*	-3,3170	-0,4750
	Naproxeno	2,3960*	0,43611	0,000*	0,9750	3,8170
Naproxeno	125mg/kg	-2,2860*	0,43611	0,000*	-3,7070	-0,8650
	250mg/kg	-1,0520	0,43611	0,192**	-2,4730	0,3690
	500mg/kg	-0,2420	0,43611	0,993**	-1,6630	1,1790
	AAS	-2,3960*	0,43611	0,000*	-3,8170	-0,9750
	Control	-4,2920*	0,43611	0,000*	-5,7130	-2,8710

†Comparación Post-Hoc de HSD Tukey.

*Diferencia Estadísticamente Significativa al 95% de Confianza. (P<0.05)

**Diferencia Estadísticamente No Significativa al 95% de Confianza. (P>0.05)

Toma de decisión de las comparaciones de los tratamientos

Al encontrarse un P-Valor menor a 0.05, se rechazó la hipótesis nula del tiempo de 480min, Se observa en la tabla N°22 que hay diferencias significativas de los tratamientos empleados comparados con el tratamiento control ($p < 0,05$). Observándose una menor diferencia de medias (-4,0500 y -4,2920) para el extracto al 500mg/kg y el naproxeno sódico, afirmando que el extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* es el más eficaz en la actividad antiinflamatoria que el ácido acetil salicílico pero menor que el naproxeno sódico.

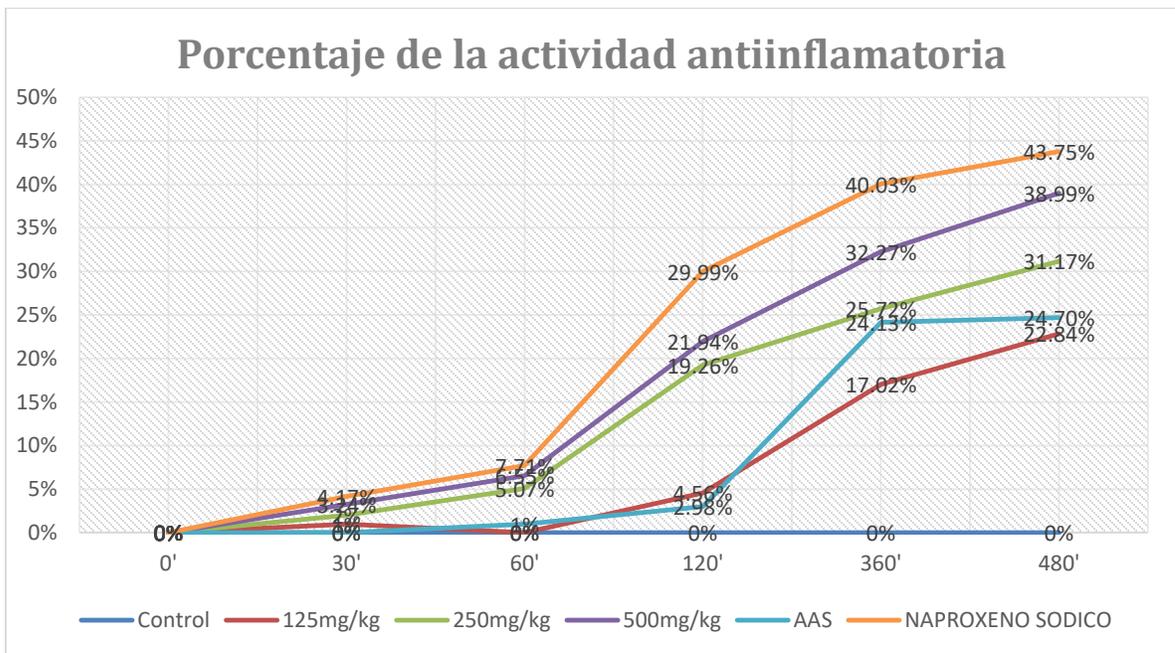


Figura N° 8 : Evaluación del efecto antiinflamatorio en relación con el tiempo y el tratamiento de los extractos %

Tabla N° 23: % Porcentaje actividad antiinflamatoria para cada momento experimental

	0'	30'	60'	120'	360'	480'
Control	0%	0%	0%	0%	0%	0%
125mg/kg	0%	0%	0%	4.56%	17.02%	22.84%
250mg/kg	0%	1%	5.07%	19.26%	25.72%	31.17%
500mg/kg	0%	2%	6.55%	21.94%	32.27%	38.99%
AAS	0%	3.24%	1%	2.98%	24.13%	24.70%
Naproxeno sódico	0%	4.17%	7.71%	2.99%	40.03%	43.75%

Contrastación de la validez de la hipótesis

De la misma manera que con las hipótesis específicas, la hipótesis general:

“El extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) presenta efecto antiinflamatorio en ratones con edema plantar inducido con carragenina”, solo se considera verdadera por inducción, al establecerse la veracidad de las hipótesis específicas que la conforman, como en la siguiente tabla:

Tabla N° 24: Análisis de la aceptación de la hipótesis general como respuesta inductiva a los resultados estadísticos de sus hipótesis específicas

HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	RESULTADO ESTADÍSTICO
H ₁ : El extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) posee metabolitos secundarios los cuales son capaces de generar la actividad antiinflamatoria.	SE ACEPTA*
H ₂ : Existe la concentración que contiene la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana).	SE ACEPTA**
H ₃ : El efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) es similar en comparación con los fármacos antiinflamatorios como el naproxeno sódico y el ácido acetilsalicílico.	SE ACEPTA***
HIPÓTESIS GENERAL	RESULTADO INDUCTIVO
“El extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) presenta efecto antiinflamatorio en ratones con edema plantar inducido con carragenina”.	SE ACEPTA

H₁: En el extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* se identificaron metabolitos secundarios como flavonoides, taninos y compuestos fenólicos. Estos con antecedentes de que muchos de ellos poseen efecto antiinflamatorio.

H₂: El extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* a 125mg/kg ,250mg/kg y 500mg/kg si poseen actividad antiinflamatoria, siendo el de mayor efecto antiinflamatorio el 500mg/kg y el naproxeno los de mejor resultado estadístico ($p < 0.05$).

H₃: El extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* al 500mg/kg posee mayor efecto antiinflamatorio que el ácido acetilsalicílico pero menor que el naproxeno sódico.

4.1.6 Prueba histológica

Se mandaron a analizar a la universidad nacional mayor de San Marcos en el departamento académico de Ciencias Morfológicas; dándonos el siguiente resultado.

A) Piel de rata 40x normal

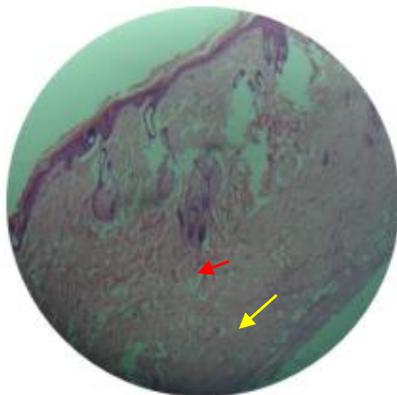


Figura N° 9 : Piel de rata 40x estado normal

↑ Dermis papilar

↑ Dermis reticular

B)

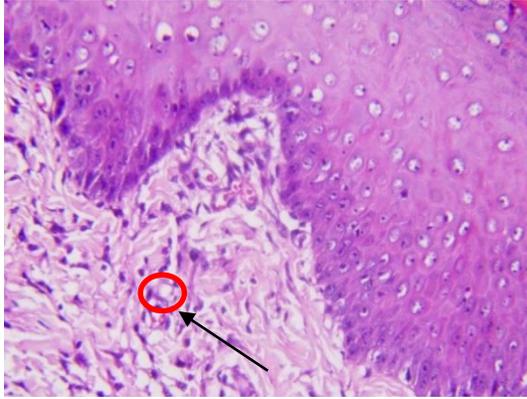


Figura N° 10: Piel rata 40x + carragenina+ suero fisiológico

Observación: la inflamación es más notoria en dermis reticular, profunda, e hipodermis, con formación de acúmulos neutrofílicos (granuloma daño) (++++), la flecha indica presencia de granuloma.

C)

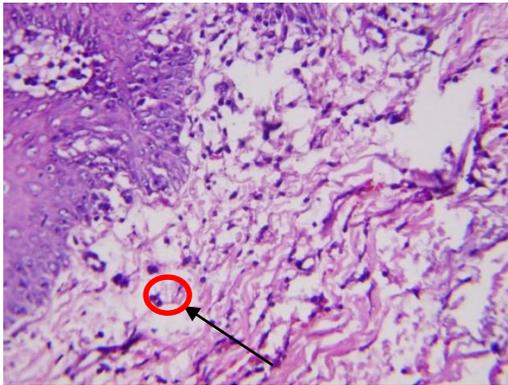


Figura N° 11 : Piel rata + carragenina + *Senecio calvus* Cuatrecasas extracto 125mg/kg 40X

Observación: infiltrado inflamatorio dermis reticular, con formación de agregados neutrofílicos (granuloma daño) (+++), la flecha indica presencia de granuloma.

D

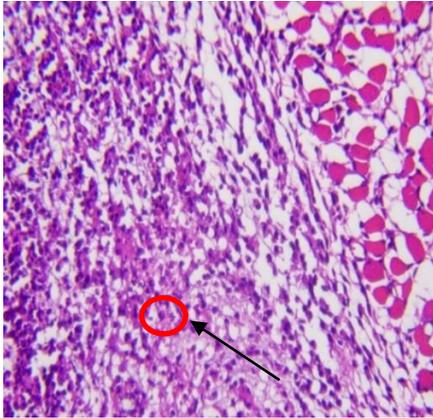


Figura N° 12 : Piel rata + carragenina + *Senecio calvus Cuatrecasas* extracto al 250mg/kg 40X

Observación: Se observan áreas de piel dentro de límites normales, con un foco de ampolla intraepidérmica, desprendimiento de la capa basal, con infiltrado de hematíes y neutrófilos, formando micro abscesos; además, extenso infiltrado inflamatorio en dermis, a predominio de neutrófilos.

Menor en infiltrado inflamatorio dermis (granuloma daño) (++) la flecha indica presencia de granuloma.

E

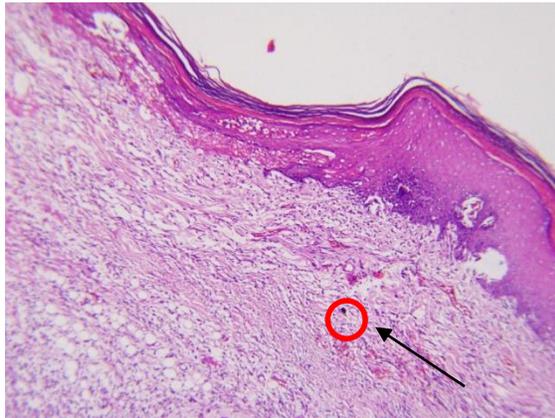


Figura N° 13 : Piel rata + carragenina + *Senecio calvus Cuatrecasas* extracto al 500mg/kg 40X

Observación: Se observa una epidermis mejor conservada que en los otros 3 grupos, aunque se ha formado de manera focal, aislada, un pequeño absceso intraepidérmico, con infiltrado a hematíes y una escasa cantidad de neutrófilos. Granuloma daño (+), la flecha indica presencia de granuloma.

F

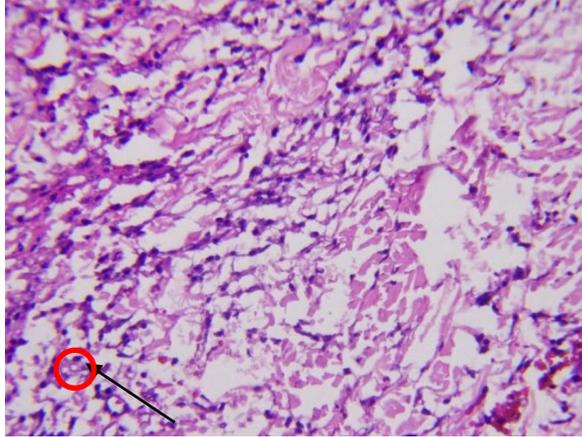


Figura N° 14: Piel rata + carragenina + AAS 0.25% 40X

Observación: Se observa la piel con un área que forma la ampolla intraepidérmica, infiltrada con hematíes y algunos neutrófilos, También se observa infiltrado inflamatorio dermis, que forma agregados neutrofílicos

En dermis reticular se observa una ligera disminución de granulomas daño (++)

G

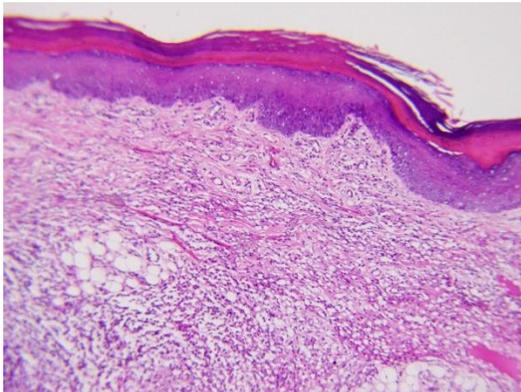


Figura N° 15: Piel rata + carragenina + Naproxeno sódico 0.5% 40X

Observación: una epidermis mejor conservada que en los grupos anteriores, aunque se ha formado de manera focal, aislada, un pequeño absceso intraepidérmico, con infiltrado a hematíes y una escasa cantidad de neutrófilos

En dermis se observa ausencia de granuloma.

4.1.7 Dosis letal media

Mortalidad:

El producto *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) no produjo mortalidad en las dosis administradas durante los 14 días de evaluación de este estudio.

Tabla N° 25: Resultado de la toxicidad aguda oral

Dosis (mg/kg ratón)	Mortalidad machos muertos/total
Control	0/3
1000	0/3
2000	0/3

Tabla N° 26: Resumen de observaciones

OBSERVA C. DOSIS (mg/Kg)	PARÁMETR OS	Hora - Día																
		1h	2h	4h	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2000mg/kg	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	R	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	CD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	U	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000mg/kg	CS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CONTROL	U	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MU	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Rango1-5

0:	No presenta patología	+:	Presenta patología
M:	Muerte	U:	Urogenital
C:	Comportamiento	P:	Piel
R:	Respiratorio	M:	Muscular
D:	Digestivo	CS:	Compromiso Sistémico
CD:	Cardiovascular y Hematopoyético		

Tabla N° 27: Medida del peso del hígado al evaluar toxicidad

Órgano	Tratamiento	Media +- error estándar
Hígado	Suero fisiológico	1.7±0.05
	<i>Senecio calvus</i>	1.65±0.05
	<i>Cuatrecasas</i>	
	1000mg/kg	
	<i>Senecio calvus</i>	1.57±0.05
	<i>Cuatrecasas</i>	
	2000mg/kg	

No se observa variación en la medida del peso del hígado.

Tabla N° 28: Medida del peso del riñón al evaluar toxicidad

Órgano	Tratamiento	Media +- error estándar
Riñón	Suero fisiológico	0.43±0.05
	<i>Senecio calvus</i>	0.36±0.05
	<i>Cuatrecasas</i>	
	1000mg/kg	
	<i>Senecio calvus</i>	0.34±0.05
	<i>Cuatrecasas</i>	
	2000mg/kg(repetición)	

No se observa variación en la medida del peso del riñón.

Tabla N° 29: Evolución temporal de la media del peso corporal del ratón

DIAS	control de peso	1000mg/kg	2000mg/kg
1	28.60	28.40	27.60
2	29.00	28.00	27.50
3	30.10	29.70	27.43
4	29.72	29.80	28.30
5	30.14	29.76	27.89
6	29.76	29.46	27.24
7	30.23	29.84	26.78
8	28.70	30.80	29.80
9	29.70	30.24	29.27
10	29.89	29.72	27.57
11	30.16	29.66	28.57
12	30.57	29.42	28.68
13	30.60	26.30	27.43
14	31.60	27.30	28.43

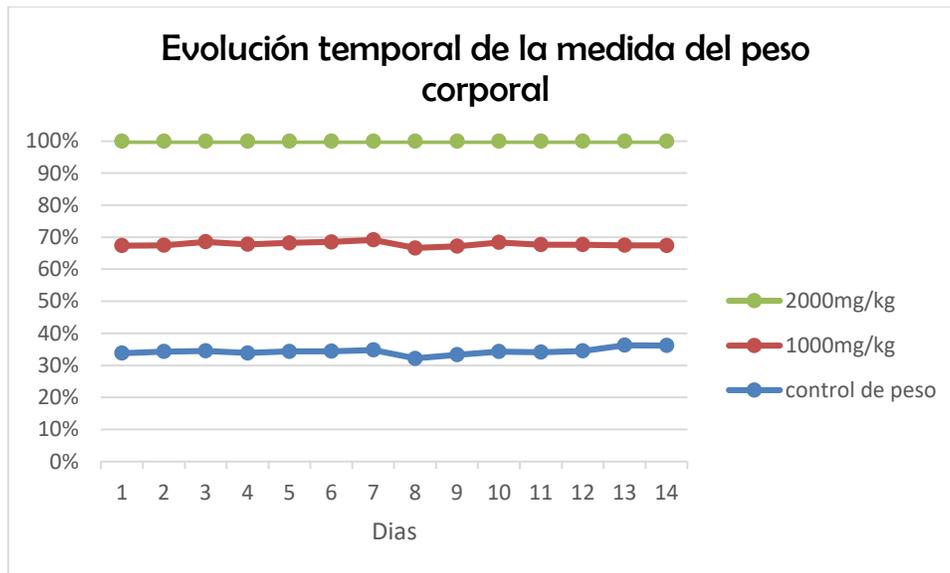


Figura N° 17: Evaluación temporal del efecto tóxico

4.2. Discusión de resultados.

Identificación de los metabolitos

El tamizaje fitoquímico (tabla N°12) reveló la presencia de mayor cantidad de compuestos fenólicos “flavonoides “(+++), alcaloides (++) y taninos (++) lo que concuerda con lo reportado con **Jesús Florián Et. (2014)** el cual evidencio flavonoides en las partes aéreas mientras que en menor concentración se encontraron las quinonas y esteroides. El género Senecio tiene sesquiterpenoides, monoterpenoides, diterpenoides, triterpenoides, compuestos fenólicos y flavonoides, aceites esenciales y alcaloides de pirrolizidina.

Doroteo E., et al (2012) aseguraron en sus estudios realizados que se ha demostrado la capacidad antiinflamatoria en compuestos fenólicos, de igual modo los polifenoles brindan efecto antiinflamatorio; mientras que **Enciso & Arroyo (2011)**, mencionan que los flavonoides son antiinflamatorios en razón de que inhiben la prostaglandina endoperóxido sintetasa, así como también los flavonoides regulan funciones inmunes e inflamatorias de las células in vitro e in vivo.

Con respecto a la tabla N°11 demostró una mayor solubilidad en los solventes polares como el metanol, cloroformo y diclorometano.

Con respecto al análisis por cromatografía se empleó cromatografía en capa fina (TLC), y el sistema de solventes usado fue elegido en base al libro de Olga Lock Ugaz (2006) el cual fue Diclorometano; Metanol (3:1).

El TLC en las tabla N° 13 y tabla N° 14 separo e identificó la presencia de compuestos fenólicos; flavonoides responsables de la actividad antiinflamatoria. Con un $R_f = 0.53$. Lo que concuerda con lo reportado con **Zeisnstegeal, et al, (2007)** que demostró que el género Senecio posee compuestos fenólicos y flavonoides tienen un $R_f = 0.53$.

Mientras que en la lámpara UV-VIS; (UVC (230nm-280nm) “onda corta”, el color evidenció fue púrpura demostrando que posee flavonoides tipo flavonas o flavonol mientras que la UVL (320nm-400nm) “onda larga” el color que se evidenció fue celeste fluorescente el cual demuestra la presencia de flavonas y flavononas los cuales cumplen de acuerdo al libro de Olga Lock Ugaz (2006).

En base a lo antes mencionado los flavonoides, al tener un doble comportamiento al inhibir la formación de leucotrieno B4 (LTB4) y la formación de prostaglandina E2 (PGE2), alteran el metabolismo del ácido araquidónico reduciendo la síntesis de interleuquina 1 (IL-1) y de esta manera inhibiendo el proceso inflamatorio.⁽⁶⁶⁾

Evaluación de la inflamación

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* se usó el método del edema plantar el cual se basa en la inducción de la inflamación por inyección subcutánea de este mucopolisacárido que es la carragenina al 1% de acuerdo a **K. Arauco Et.**, en su investigación “Efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica* (mullaca) sobre el granuloma inducido por carragenina en ratas”, menciona que la carragenina demostró tener mayor significatividad para generar la inflamación.

El mecanismo celular y molecular de la inflamación inducida por carragenina está bien caracterizado, la fase inicial del edema producido por la carragenina se relaciona con la liberación de los mediadores de la inflamación los cuales son histamina, leucotrienos, PPAF (factor activador de plaquetas) y de la COX (ciclooxigenasa) ⁽⁶³⁾

Seguidamente empieza la fase tardía a la cual induce una respuesta inflamatoria que se ha relacionado a la infiltración y la liberación de otros mediadores derivados del neutrófilo.

El extracto etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas* (tabla N°24), de acuerdo a los ensayos efectuados y la hipótesis propuesta, han demostrado tener el efecto antiinflamatorio.

En los datos obtenidos por ANOVA, se ha demostrado existe diferencia significativa en los extractos del *Senecio calvus Cuatrecasas* al 2.5%, 1.25% y 0.625%, en comparación con el naproxeno sódico y el acetil salicílico. ($p < 0.005$). Asimismo, se afirma que la actividad antiinflamatoria alcanza su pico máximo con el extracto en concentraciones de 2.5% y en el naproxeno.

Por otra lado en la figura N°9 muestran los resultados obtenidos de la actividad antiinflamatoria en porcentajes los cuales son: existe una presencia significativa con menor porcentaje de error en el extracto etanólico de 500mg/Kg en (38.99%) y el naproxeno sódico (43.75%) presentando mayor porcentaje de inhibición inflamatoria mientras que un menor porcentaje de inhibición inflamatoria fue para las concentraciones al 125mg/kg (22.84%) y 250mg/kg (31.17%) del extracto etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas* y el ácido acetilsalicílico (24.70%).

El resultado de la investigación del efecto antiinflamatorio (tabla N°23) haciendo uso de la técnica inflamación del edema plantar (método Arroyo) se evidenció mayor porcentaje de inhibición en la concentración del extracto etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas* al 500mg/kg (38.99%).

El resultado de la prueba histológica comprueba que presencia de granuloma de las dosis de 500mg/kg y del Naproxeno sódico son menores a diferencia de las restantes.

Con respecto a la prueba dosis letal media las tablas N°25, N°26, N°27, N°28, N°29 y la figura N°17 del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* en ratones se considera una sustancia no tóxica ya que no revelaron ningún tipo de alteración al término de los 14 días en ratones por el cual se puede considerar como una sustancia no tóxica ya que se encuentra por encima de los 2000 mg/Kg establecido por la comunidad europea. (OCDE 425). ^(68,69)

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1. El extracto etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas* demostró la presencia de flavonoides y taninos en mayor proporción
2. El extracto etanólico de *Senecio calvus Cuatrecasas* presentó mayor efecto antiinflamatorio a concentración de 500mg/kg en (38.99%).
3. El extracto etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas* presentaron mayor porcentaje del efecto antiinflamatorio a concentración 500mg/kg en comparación que el fármaco ácido acetil salicílico en 24.70% pero en menor grado que el naproxeno sódico (43.75%).

5.2 Recomendaciones

1. Continuar con trabajos de investigación clínicos que complementen los estudios realizados.
2. Realizar una formulación farmacéutica para establecer su utilidad como una terapia alternativa para el tratamiento de la inflamación.
3. Realizar un estudio de las otras estructuras botánicas de la planta como raíz, flores, fruto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales [Internet]. Ginebra: OMS; 22-junio-2004. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
2. Villar López M, Villavicencio Vargas. Uso de plantas medicinales en el tratamiento del asma bronquial ,1992. Lima. Sociedad Peruana de Med [Internet]. [citado mayo 2011]:5(4):4-9. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/spmi/v05n4/trabajos%20originales4.htm>
3. Donoso Garrido Et. Rehabilitación Reumatológica y Geriátrica, 2009, Ecuador, [Internet], editorial EDIMEC STADYLIB .Segunda Edición. [Citado 2012], disponible en :<http://studylib.es/doc/7006758/art%C3%ADculo-cient%C3%ADfico-tema--tratamiento-fisioterap%C3%A9utico-de>
4. Ortiz C. Tratamiento Fisioterapéutico de Brotzman en pacientes mayores de 35 años con Gonartrosis en el Hospital San Luis de la ciudad de Otavalo, 2011, Repositorio de la universidad técnica del Norte [internet]. [citado mayo 2013] Disponible en <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/2225>
5. Jesús Florián C. Evaluación de los Principios activos de *Senecio calvus* en la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis título profesional] Lima-Perú, (UNMSM) Facultad de Farmacia Y Bioquímica; 2014.
6. Margarita C. Evaluación del efecto antiinflamatorio en ratas albinas según el modelo edema plantar y efecto analgésico en ratones albinos según el modelo tail flick del extracto etanólico de *Dalea isidori Barneby* (Yerbechil) [Tesis título profesional] Lima-Perú (UNMSM) Facultad de Farmacia Y Bioquímica ;2017

7. Jhonny C. 2015, Efecto del ácido naftalenacético (Ana) y el ácido giberélico (ag3) en el enraizamiento in vitro y aclimatación en condiciones de invernadero de *Senecio calvus* C. (Huamanripa) [Tesis título profesional] – UNASAM -Lima. Perú

8. Cuachtemoc P. Actividad antiinflamatoria y composición del *Senecio salignus Kunth*, 2013, BioMed Research International, (2013), Artículo ID 814693, 4 páginas, [Internet]. [citado 13 Septiembre 2012;]. Disponible en <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/814693/>

9. Olumayokun A. Estudios de las propiedades anti-inflamatorias, antipiréticas y analgésicas de la corteza de tallo de la *Alstonia boonei*, 1999, México UASLP .Publimed Ethnopharmacol. [internet]. [citado J2000 Jul]: 71(1-2):179-86. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10904161>

10. Brenda Alvarado, Abigail Reyes, Jesús Castillo, Martha Maldonado; Evaluación del efecto antiinflamatorio de *Senecio confusus*, 2014, México, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Ciencias Naturales y Exactas: pág., 170

11. Claudia V. Caracterización estructural de los metabolitos del género *Senecio Polypodioides*”, [Tesis maestría] México. Instituto politécnico nacional- diciembre ;2010

12. Chengli Y. Los efectos antiinflamatorios y analgésicos de *Senecio scandens* Buch-Ham. extractos de etanólico (SSBHE)”, Biomedical Research ,volumen 27, Issue 4, China [citado 23 marzo 2016] China Capital Medical University, 2006 pág. : 1033-1036 ; disponible en : <http://www.alliedacademies.org/articles/the-antiinflammatory-and-analgesic-effects-of-senecio-scandens-buchham-ethanol-extracts-ssbhe.html>

13. Kai-Jun Xiao Actividad antiinflamatoria y composición química de los aceites esenciales del *Senecio flammeus*, China, Universidad tecnológica del sur de China. National Library Of Medicine National Institutes of Health [citado 2014 Jul 18] 2014; 13: 782–791; disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4464519/>

14. Jesús G. Evaluación de los Principios Activos de *Senecio calvus* en la Formación de Biopelículas de *Pseudomonas Aeruginosa*” [tesis para optar el título] Perú-Lima (UNMSM) Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.
15. Vision T. Dillon M. Sinopsis de *Senecio L.* (Senecioneae, Asteráceae) Perú: Áncash. [internet] 2015, 22 (2): 9 - 24, disponible en: https://www.researchgate.net/publication/286897112_El_genero_Senecio_L_Asteraceae-Senecioneae_en_el_departamento_de_Lima_Peru
16. Deuschle R, Et. Actividad antimicrobiana de *Senecio desiderabilis Vellozo* (Asteraceae). Acta Farm Bonaerense. 2006, 25(3): 356-360
17. Beltran & Roque. El género *Senecio L.* (Asteraceae-Senecioneae), 2015 Perú-Lima. 22 (2): 395 - 412
18. Centro científico de medicina naturista de Áncash [Internet] [citado 9 Noviembre, 2015], disponible en : <https://ancash.info/plantas-medicinales/>
19. Wilfred Vermerris, Ralph Nicholson .Bioquímica de compuestos fenólicos, USA, Dordrecht, 2009 2 (2) pág. :7-29
20. García A. Metabolismo secundario de plantas Reduca (Biología). 2009. España- Madrid. Universidad Complutense Serie Fisiología Vegetal .Facultad de Biología. volumen 2 (3): 119-145, ISSN: 1989-3620 11,.disponible en : http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
21. Olga L. , Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio de productos naturales, ,(1994) Perú- Lima ,2ºedicion,PUCP, pág. 115-140, 23-30
22. Mc. Murry, J. Química Orgánica - 7º Ed. Brasil-São Paulo, 2008, pág. 2011. 1344
23. Doroteo Et. Compuestos fenólicos y actividades antioxidante, antielastasa, anticolagenasa y fotoprotectora in vitro de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Caesalpinia spinosa* (tara).Perú-Lima Rev. Sociedad Química del Perú [Internet]. 2012, vol.78, n.4, pp.254-263.
24. López TA, Cid MS, Bianchini ML. Bioquímica de hemlock (*Conium maculatum L.*) Alcaloides y la toxicidad aguda y crónica en el ganado. 1999, (6):841-65.

25. Zellagui Amar. "Phytochemical Screening and Evaluation of Antibacteria, 2012, 4(5):2080-2084. disponible en :
<https://www.derpharmachemica.com/pharma-chemica/phytochemical-screening-and-evaluation-of-antibacterial-activity-of-alkaloids-extract-of-senecio-delphinifolius-vahl.pdf>
26. Activity of Alkaloids Extract of *Senecio delphinifolius Vahl*". Scholars Research Library Der Pharma Chemical, 2012, 4(5):2080-2084 disponible en www.derpharmachemica.com
27. Bonkanka C. Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen *vegetal*. [Tesis doctoral]. Santa Cruz de Tenerife. Universidad de La Laguna;2006., pág. 46-48
28. Daniel J. Pasto, Carl R. Johnson ,Determinación de estructuras orgánicas, 2003 , España ,editorial , REVERTE , pág. 30-40
29. Swandi, S.; Singh, S.: Longo, G.; ET, al. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants, International centre for science and high technology. International centre for science and high technology. [Artículo on-line]. 2008 [citado el 21 de noviembre del 2017]. Available from:
http://agritech.tnau.ac.in/horticulture/extraction_techniques%20_medicinal_plants.pdf
30. E. Stall (Editor) "Thin Layer Chromatography. A Laboratory Handbook". 2nd. De. Springer Verlag, New York, 1969
31. Fried B, Sherma J., Thin layer chromatography – techniques & applications. Dekker, (1999) New York
32. Kraus Lj, Koch A, Hoffstetter-Kuhn S .Thin layer chromatography (1995).
33. Sedgwick, A., Sin, Y., Edwards, J. & Willoughby, D. (1983). Increased inflammatory reactivity in newly formed lining tissue. J Pathol. Dec; 4 (4):483-95
34. Sedgwick, A. & Lees, P. (1986). Comparison of air pouch sponge and pleurisy models of acute carrageenan inflammation in the rat. Agents Actions; 18: 3-4
35. James W et al. Andrews' Diseases of the Skin, 10th ed. Elzevir, 2005

- 36.** Gonzales Simon W, Palacios Bernuy M. Estudio farmacognóstico y actividad anti-inflamatoria del fruto de *Averhoa carambola* L. [Tesis pre grado].Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2003, pág. :76-77
- 37.** Will A. Et al; Advances in wound healing materials: science and skin engineering. 2010. USA: 1ra edición.
- 38.** Krause, W. Krause's essential human histology for medical students. 3ra edición. USA: Universal publisher; 2005. 148-152p.
- 39.** Gisela N., Histología de la piel, (2003),UNAM ,Revista de la Facultad de Medicina, [Curso de Posgrado de Dermatopatología], vol. 46 , Numero 4, disponible en :<http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2003/un034d.pdf>
- 40.** Velásquez Et. Farmacología Básica y Clínica, , Edición: 18ª , pág., 517-524, 2009
- 41.** Flores J., Farmacología Humana , ,España, , edición 6 ,editorial ELSERVIER pág. 348-350, 2014
- 42.** Ulrich Welsch, Johannes Sobotta , Histología , Alemania, Editorial Medica Panamericana Sa , 3 edición , pág. 557-565 , disponible en :
https://books.google.com.pe/books?id=7zFxo6bmxl0C&pg=PA550&dq=epidermis+histologia&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjzP_-24HcAhWlo1kKHW-YAUsQ6AEIMzAC#v=onepage&q=epidermis%20histologia&f=false
- 43.** Galley H. and Webstern, N., The immune inflammatory cascade. British journal of anesthesia. 1996. Ed. 77 : 11-16 p
- 44.** Vega G. Inmunidad natural o innata. Departamento de medicina experimental. Facultad de medicina .UNAM2008 vol.53 N°4 publicado 4 julio-agosto pág. 171-172
- 45.** Flores J. Farmacología Humana, España, editorial ELSERVEIR, Edición 6. pág. 375-378, 2014
- 46.** Barbara Young, Wheatear's Functional Histology: A Text and Color Atlas, ELSERVEIR. .4° edición , 2006 Disponible en :
<https://books.google.com.pe/books?id=88tla60sHAUC&pg=PA167&dq=skin+histology&hl=es->

419&sa=X&ved=0ahUKEwj_kpi8o_rbAhVtp1kKHRmKAGAQ6AEIJzAA#v=onepage&q&f=false

47. Mackie, M. Dermatología clinic. 3ra edición. Philadelphia: p.a. mosby;2006
Nawarskas JJ, Spinler SA. Update on the interaction between aspirin and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Pharmacotherapy* 2000 Jun 20:6698-710
48. BAYER .ASPIRINA [internet] (fecha de acceso 08 agosto 2018) disponible en : <https://sites.google.com/site/aspirinaorbimonse/farmacocinetica-de-la-aspirina>
49. Ministerio De Sanidad Política Social E Igualdad , AGENCIA Española DE MEDICAMENTOS ,Ficha técnica del Naproxeno sódico TAD 550, TAD Pharma GmbH, Heinz-Lohmann Straße 5, Alemania
50. Venkataram M. Fundamental of Pathology of Skin,2008 , publish in , edition 3 ,pág 82-83
51. Suárez C. ,Tratado de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello editorial Panamericana ,2007,edición 3 ,tomo1,pág. 191-193
52. Pharmacological experiment N-isolated preparation Staff Of Department Of Pharmacology , The Williams & Wilkins Company .Gran Bretaña-University Of Edinburgh, 1968
53. Hernández J. Introducción a La Toxicología. Departamento de Farmacología y sus clases 2010;2–10
54. FAO .<http://www.fao.org>
55. Carragenina. [Internet]. [Review in 28 may 2016]. Disponible en: <http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/928/1/27T033.pdf>
56. Alvarado J. Apuntes De Farmacología ,2008, tomo 1 edición 3 ,pág 138
57. Flores J., Farmacología Humana , 2014 ,España, , edición 6 ,editorial ELSERVIER pág. 376
58. Aguirre A, R. Quintana Citoquinas , 2002 , Argentina- Universidad Nacional del Nordeste Facultad de Medicina Cátedra de Bioquímica , pág. : 3-4
59. Álvarez A. INMUNIDAD INNATA, Bacterióloga, MSc, PhD(c) disponible en : <https://es.scribd.com/document/223330744/4-Fagocitosis-pdf>
60. Dewick, P.M. “Medicinal Natural Products –A Biosynthetic Approach-“, 2a ed. Ed. John Wiley & Sons Ltd. England, 2002.

- 61.** Villar López, Amella. Mendocilla Risco, Moisés. Farmacología de plantas medicinales. Universidad Nacional de Trujillo. [fecha de acceso 5 de julio de 2016]; disponible en:
<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap5.pdf>
- 62.** Fitzpatrick .Atlas de dermatología clínica , Mc Graw Hill, edición 7 , pág. 115-118
- 63.** .Paul G. (2003) Winyard .Inflammation Protocols, published in Biomedical Sciences Immunology. Pág: 225. Disponible en :
<https://link.springer.com/book/10.1385/1592593747>
- 64.** Watson D. Carragenano [Internet]. 2007. pág 3; disponible en:
<https://es.wikipedia.org/wiki/Carragenano?oldid=95707140>
- 65.** Rosales I. Farmacognosia. farmacognosia [Internet]. :9. disponible en
http://www.academia.edu/7819105/FARMACOGNOSIA_Farmacognosia_significa_literalmente_conocimiento_gnosis_de_los_medicamentos_o_drogas
- 66.** Ferrfindiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. Agents Actions [Internet]. 1991; 32(4):283–9. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1650522>
- 67.** Calderón J, Cardenas R, García F. Maldonado E. Productos Naturales. 2004;38(1):4–8 , Disponible en : www.iquimica.unam.mx
- 68.** Isabel M. Evaluación toxicológica (diapositiva) .2010, España-Madrid , Universidad de Sevilla [internet](citado 22 mayo 2010) ,disponible en:
<http://ritsq.org/wpcontent/uploads/cd-toxamb/Documentos/06%20Moreno%20FINAL.pdf>
- 69.** M. Repetto Y P. Sanz Glosario DE TERMINOS TOXICOLOGICOS IUPAC ,1995 disponible en: <http://busca-tox.com/05pub/Glosario%20terminos%20toxicologicos%20toxicologia%20Repetto.pdf>

:

Anexos

Anexo N° 1: Certificación botánica de la especie *Senecio Calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana)

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "HUAMANRIPA" proporcionada por las Srta. MONICA AJAHUANA VILLAFAN, estudiante de la UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA, Facultad Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Senecio calvus* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Genero: ***Senecio***
Especie: *Senecio calvus* Cuatrecasas.

Se expide la presente certificación a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Lima, 31 enero 2018


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
CRP 2719

Anexo N° 2 : Matriz de consistencia

EFEECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS Y TALLOS DE *Senecio calvus* Cuatrecasas (HUAMANRIPA SERRANA) EN RATAS CON EDEMA PLANTAR INDUCIDAS CON CARRAGENINA

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA	INSTRUMENTOS
<p><i>El extracto etanólico de las hojas y tallos del Senecio calvus Cuatrecasas (Huamanripa serrana) tendrá efecto antiinflamatorio en ratas albinas con edema plantar inducidas con carragenina al 1%?</i></p>	<p>Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) en ratas albinas con edema plantar inducidas con carragenina.</p>	<p>El extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) presenta efecto antiinflamatorio en ratas albinas con edema plantar inducido con carragenina.</p>	VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	TIPO	<p>Población: 30 ratas albinas macho (edad : 2 meses y medio de edad y un peso promedio 200 g \pm 50g , de la cepa holtzman</p> <p>Muestra: 6 grupos de 5 ratas albinas cada uno.</p> <p>Procesamiento Y Análisis De Datos. Análisis descriptivo e inferencial con los programas SPSS, -ANOVA, comparación múltiple post-hoc prueba de Tukey.</p>
			<p>extracto etanólico de las hojas y tallo del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i></p>	<p>Análisis fitoquímico</p>	<p>Experimental Longitudinal Cuantitativo</p>	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPOTESIS ESPECÍFICAS	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	DISEÑO	
<p>1. ¿El extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) tendrá algunos tipos de metabolitos secundarios que generan la actividad antiinflamatoria?</p>	<p>1. Identificar qué tipo de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) poseen el efecto antiinflamatorio</p>	<p>1. El extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) posee metabolitos secundarios los cuales son capaces de generar la actividad antiinflamatoria.</p>	<p>efecto antiinflamatorio del extracto etanólico hojas y tallo del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i></p>	<p>Evaluación de la disminución del edema</p>	<p>experimental</p>	
				<p>Evaluación histológica</p>	<p>NIVEL básico</p>	
				<p>Evaluación de la dosis letal media</p>		

<p>2. ¿Cuál será la concentración que contiene la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana)?</p>	<p>2. Determinar la concentración que contiene la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana).</p>	<p>2. Existe una concentración que contiene la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana).</p>				
<p>3. ¿Tendrá actividad antiinflamatoria el extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) en comparación con los fármacos antiinflamatorios como el Naproxeno sódico y el Ácido acetilsalicílico?</p>	<p>3. Comparar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) en comparación con los fármacos antiinflamatorios como el Naproxeno sódico y el Ácido acetilsalicílico.</p>	<p>3. El efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallo del <i>Senecio calvus Cuatrecasas</i> (Huamanripa serrana) es similar en comparación con los fármacos antiinflamatorios como el Naproxeno sódico y el Ácido acetilsalicílico.</p>				

Anexo N° 3 : Matriz de operacionalización de variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ITEMS	Fuente	INSTRUMENTO
VI: extracto etanólico de las hojas y tallos del <i>Senecio Calvus Cuatrecasas</i> .	Fitoquímica	Identificación de metabolitos secundarios	Control (suero fisiológico) Extracto al 0.625% (125 mg/kg) Extracto al 1.25% (250 mg/kg) Extracto al 2.5% (500 mg/kg) Patrón al 0.25%(AAS 50mg /kg) Patrón al 0.5 % (Naproxeno 50mg /kg)	Tratamiento administrado	Ficha de Observación Ad Hoc
VD Efecto antiinflamatorio.	Farmacológico	variación en la medida de la pata inflamada de la rata a evaluar medida con un Vernier digital expresado en mm	De 0.5 mm a 11 mm.	Pata Izquierda de cada ratas a evaluar	Ficha de Observación Ad Hoc
V. INT. Peso de la rata	Magnitud	Gramos de peso(rata)	De 200 g ± 50 g	Las ratas a evaluar	Ficha de Observación Ad Hoc

Anexo N° 4: Ficha de recolección de datos “Para la evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (Huamanripa serrana) en ratas con edema plantar inducidas con carragenina en ratas” (Juicio de expertos)

N°



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
Facultad De Ciencias Farmacéuticas Y Bioquímica

Ficha de recolección de datos

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus* .C (HUAMANRIPA SERRANA) en ratas con edema plantar inducidas con carragenina.

(Juicio de Expertos)

Datos generales

Grupos al que pertenece:

Metodología de la investigación:

Método de estudio empleado:

Fármacos patrones:

Datos del animal de experimentación:

a) Animal seleccionado:
 b) EDAD:
 c) SEXO:
 d) PESO:
 e) COLOR
 f) RAZA :

Tratamiento para la evaluación antiinflamatorio:

Tratamiento	MOMENTOS DE EVALUACIÓN						
	Basal	0 min	30min	50min	120min	360min	480min
Control (suero fisiológico)							
Extracto de Senecio Calvus C. al 0,625% (125 mg/kg)							
Extracto de Senecio Calvus C. al 1,25% (250 mg/kg)							
Extracto de Senecio Calvus C. al 2,5% (500 mg/kg)							
Patrón al 0,25% (AAS 50mg /kg)							
Patrón 0,5 % (Naproxeno sódico 50mg /kg)							

Hora de inicio del tratamiento:

Hora de inicio del tratamiento:

Fecha de la evaluación:

.....
Firma Del Químico Farmacéutico



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

Facultad De Ciencias Farmacéuticas Y Bioquímica

Ficha de recolección de datos

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio colvus* .C (HUAMANRIPA SERRANA) en ratas con edema plantar inducidas con carragenina.

(Juicio de Expertos)

ENSAYO:

ENSAYO SOLUBILIDAD							
Solventes	N-Hexano	Benceno	Diclorometano	Acetato de etilo	Metanol	Etanol	Agua
Extracto etanólico del <i>Senecio colvus</i> C.							

Metodología: A cada uno de los 7 tubos de ensayo se colocó una alícuota del extracto etanólico seco. Luego se adicionó a cada tubo un solvente diferente a analizar y se agitó hasta observar un resultado.

N-Hexano (No polar)	Benceno (No polar)	Diclorometano (No polar)	Acetato de Etilo (Poco polar)	Metanol (Mediamente polar)	Etanol (polar)	Agua (polar)
------------------------	-----------------------	-----------------------------	----------------------------------	-------------------------------	-------------------	-----------------

Fuente: Olga Lock.

LEYENDA:

Negativo (-), dudoso (+/-), positivo (+)

Firma Del Químico Farmacéutico



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

Facultad De Ciencias Farmacéuticas Y Bioquímica

Ficha de recolección de datos

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio colvus* .C (HUAMANRIPA SERRANA) en ratas con edema plantar inducidas con carragenina.

(Juicio de Expertos)

Ensayo: Marcha Fitoquímica

GRUPO DE COMPUESTO	ENSAYO	RESULTADO
Carbohidratos	Molisch	
Alcaloides y compuestos aminados	Dragendorff	
Alcaloides	Mayer	
	Wagner	
Fenoles y Taninos	FeCl ₃	
	Gelatina	
Flavonoides	Shinoda	
Quinonas	Bomtrager	
Triterpenos y núcleo Esteroidal	Überman	
Aminoácidos	Ninhidrina	

Metodología: El extracto seco se añadió en un tubo de ensayo limpio y seco utilizando una bagueta; luego se añadió 10 mL de etanol con agitación constante.

Se utilizó 11 tubos limpios y secos, a cada uno se agregó 1 mL. A 10 tubos se le adicionó los reactivos de reconocimiento quedando un tubo como muestra control.

LEYENDA:

Negativo (-), dudoso (+/-), positivo (+), muy positivo (++) , no determinado (ND)

Fundamento:

Reactivo	Identificación	Procedimiento	Interpretación
Reactivo de Gelatina 1%	Taninos	II a V gotas del reactivo	Precipitado
Reactivo de Ninhidrina	Aminoácidos libres	II a III gotas del reactivo	Presencia de color violeta
Reactivo de Dragendorff	Alcaloides y compuestos aminados	II a V gotas del reactivo	Rojo a naranja
Reactivo de Mayer	Alcaloides	II a V gotas del reactivo	Blanco a crema
Reactivo de Wagner	Alcaloides	II a III gotas del reactivo	Marrón
Reactivo de Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	III gotas de una reactivo.	Colores intensos: azul, verde o negro.
Reactivo de Borntrager	Quinonas	1ml de reactivo	Rojo
Reactivo de Shinoda	Compuestos fenólicos tipo flavonoides	Limadura de Mg, al último se adiciona II gotas de HCl conc.	Tonos rojos
Reactivo de Mollich	Carbohidratos	VI gotas de ácido H ₂ SO ₄ y seguidamente II gotas del rto.	Presencia de un aro
Reactivo de Liberman	Triterpenos o núcleo esteroidal	III gotas de reactivo	Rosado-azul muy rápido. Verde intenso-visible aunque rápido. Verde oscuro-negro-final de la reacción

Firma Del Químico Farmacéutico



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

Nº:

Facultad De Ciencias Farmacéuticas Y Bioquímica

Ficha de recolección de datos

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus* .C (HUAMANRIPA SERRANA) en ratas con edema plantar inducidas con carragenina.

(Juicio de Expertos)

Nombre completo del experto:

Cargo e institución donde labora:

Autor del instrumento:

Nombre del instrumento: Ficha de recolección de datos

Instrucciones: Luego de revisado el instrumento, le solicitamos su valioso criterio acerca de lo siguiente para su correspondiente validación:

Menos de

50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100

- | | |
|---|--------------------------|
| 1. En qué porcentaje cree usted que el instrumento presenta un lenguaje adecuado..... | <input type="checkbox"/> |
| 2. En qué porcentaje estima que con el instrumento usado logrará los objetivos propuestos. | <input type="checkbox"/> |
| 3. En qué porcentaje estima que los ítem están referidos a los conceptos del tema | <input type="checkbox"/> |
| 4. Qué porcentaje de los estrategias planteadas cree que son suficientes para lograr los objetivos..... | <input type="checkbox"/> |
| 5. En qué porcentaje cree que los ítem planteados son de ejecución viables..... | <input type="checkbox"/> |
| 6. Qué porcentaje de los ítems considera usted que sigue una secuencia lógica..... | <input type="checkbox"/> |

Sugerencias:

¿Qué ítem debería agregarse al presente proyecto?

.....

¿Qué ítem estima que debe ser eliminado?

.....

¿Qué ítem estima que debería reformularse?

.....

Fecha:

Validado por:

.....
Firma Del Químico Farmacéutico:

Anexo N° 5: Fotos del trabajo de investigación (tesis)



Recolección de las hojas y tallos del *Senecio calvus* Cuatrecasas



Selección de las hojas y tallos del *Senecio calvus* Cuatrecasas.



Distribución de las hojas y tallos del *Senecio calvus* Cuatrecasas para su correspondiente secado.



Secado de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* a 40°C en la estufa.



Pulverización en un molino manual de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* ya secas.



Almacenamiento de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* pulverizados en un frasco ámbar con alcohol 96° con agitación periódica durante 8 días. (Método de extracción: Maceración)



Secado del extracto etanólico del *Senecio calvus* Cuatrecasas.



Reactivos a usar para
Marcha de solubilidad.



Resultado de la marcha de
solubilidad del extracto
etanólico del *Senecio calvus*



Reactivos a usar para
screening fitoquímico



Resultado del screening
fitoquímico del extracto
etanólico del *Senecio calvus*



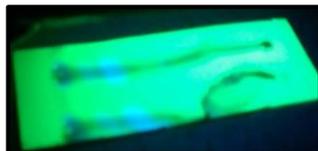
Cromatografía del extracto etanólico del *Senecio calvus* Cuatrecasas (TLC).



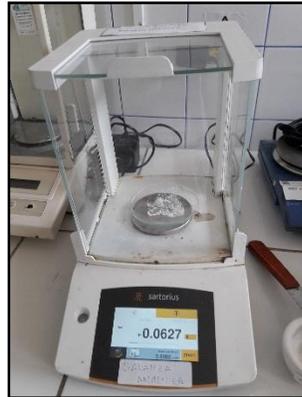
Revelado de los cromatofolios del extracto etanólico del *Senecio calvus* Cuatrecasas (con la lámpara UV).



Revelado UVC: onda corta.



Revelado UVL: onda larga.



Preparación de los patrones AAS Y Naproxeno sódico para el correspondiente análisis del efecto antiinflamatorio.



Selección de ratas en grupos de experimentación (6 grupos de 5 miembros cada uno) y procedió a marcarlas para su identificación.



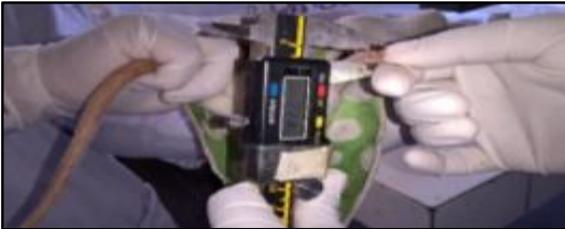
Se pesó a la ratas para su determinara su dosis a aplicar.



Aplicación de las dosis 2.5%, 1.25%,0.625% del extracto etanólico del *Senecio calvus Cuatrecasas* vía oral



Medición de la medición del diámetro de la inflamación con le vernier digital



Preparación para la prueba histológica: haciendo un corte transversal a la pata con inflamación.



Se procedió a depositar en cloroforma para su correspondiente análisis

Anexo N° 6: Matriz de validación por juicio de expertos



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Matriz de validación de contenido por juicio de expertos de la ficha de observación Ad-hoc para la recolección de datos

Efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos del *Senecio calvus Cuatrecasas* (humanripa serrana) en ratas con edema plantar inducidas con carragenina.

JUEZ VALIDADOR	EFFECTIVIDAD	PERTINENCIA	SUFICIENCIA	VIABILIDAD	SECUENCIALIDAD	REPETITIVIDAD	
Dra. Britt Alvarado Chávez	80	70	80	90	90	90	84%
Dr. Carlos Casanova Vargas	100	100	100	100	100	100	100%
Dr. Pablo Bonilla Rivera	90	90	90	90	90	90	90%
							91.3%