

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Oenothera rosea* A.  
(CHUPASANGRE) EN RATAS ALBINAS (Holtzman)

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO Y BIOQUÍMICO

TESISTAS:

TACO RODRIGUEZ ROBERTO CARLOS  
SALAVERRY ACEDO SILVIA ELSA

ASESOR:

Mg Q.F MONTELLANOS CABRERA HENRY

Lima – Perú

2019

## DEDICATORIA

A Dios por guiar constantemente mis pasos; a mis padres por animarme a seguir adelante, por ser mi mayor apoyo y sobre todo por quererme; a mi hijo por ser mi principal motivación de superación, a toda mi familia por sus sabios consejos, a mi compañera, Silvia Salaverry porque sin el equipo que formamos, no habiéramos logrado este tema y todas aquellas personas que me apoyaron a lo largo de mi carrera.

*Roberto Taco*

A Dios por cuidar y guiar mi vida  
A mis padres, por su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida personal y profesional  
A mi esposo y a mis Hijos quienes hoy son mis más grandes inspiraciones.

*Silvia Salaverry*

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecer a Dios por estar con nosotros y guiarnos, permitiendo la culminación de este Trabajo de Investigación.

A Tutores que sin su ayuda y conocimiento no hubiese sido posible realizar esta Investigación.

A nuestros padres por habernos proporcionado la mejor educación y lección de vida.

A nuestros familiares y amigos por su apoyo y por estar a nuestro lado.

*Taco Roberto*  
*Salaverry Silvia*

# ÍNDICE GENERAL

## DEDICATORIA

## ABSTRACT

## INTRODUCCIÓN ..... 1

## CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN ..... 2

1.1. Descripción de la realidad problemática ..... 2

1.2. Formulación del Problema ..... 3

1.2.1. Problema General ..... 3

1.2.2. Problema Específicos..... 3

1.3. Objetivos ..... 3

1.3.1. Objetivo general ..... 3

1.3.2. Objetivos específicos. .... 4

1.4. Justificación e importancia del estudio..... 4

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO ..... 5

2.1. Antecedentes del Estudio ..... 5

2.1.1. Nacionales..... 5

2.1.2. Internacionales ..... 9

2.2. Bases Teóricas ..... 9

2.3. Hipótesis ..... 15

2.3.1. Hipótesis general..... 15

2.3.2. Hipótesis específicas..... 15

2.4. Operacionalización de Variables..... 15

2.4.1. Variable Independiente ..... 17

2.4.2. Variable Dependiente ..... 17

2.5. Marco conceptual..... 17

## CAPÍTULO III: MÉTODO ..... 201

3.1. Tipo de estudio ..... 20

3.2. Diseño por utilizar ..... 20

3.3. Población ..... 20

3.4. Muestra .....	20
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	21
3.6. Procesamiento de Datos.....	21
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>23</b>
4.1. Presentación de resultados .....	23
4.2. Contrastación de hipótesis.....	29
4.3. Discusión de resultados.....	29
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>30</b>
5.1. Conclusiones. ....	30
5.2. Recomendaciones. ....	31
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>33</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>37</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1</i>	Operacionalización de Variables .....	15
<i>Tabla 2</i>	Reactivos.....	17
<i>Tabla 3</i>	Estadísticos Descriptivos: Volumen de inflamación (ml) .....	23
<i>Tabla 4</i>	Prueba de homogeneidad de varianzas .....	25
<i>Tabla 5</i>	Prueba de Kruskal Wallis: .....	26
<i>Tabla 6</i>	Comparaciones múltiples Games-Howell.....	27
<i>Tabla 7</i>	Efecto de inhibición de la inflamación.....	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Chupa sangre .....	12
Figura 2.	Evolución del volumen de inflamación por hora según tratamiento. ....	25
Figura 3.	Evolución del Efecto Inhibidor de la inflamación por hora según tratamiento. ....	29

## RESUMEN

El objetivo fue determinar en la medida que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (chupasangre) tiene efecto antiinflamatorio en ratas con inducción a inflamación. Se determinó por el método del edema plantar el efecto antiinflamatorio, se usó la solución de NaCl 10% en solución fisiológica como agente inductor del proceso inflamatorio en la pata trasera de la rata con peso entre  $200\pm 10$  g, se realizaron mediciones del volumen de inflamación a las 1,2, 3, 4,5, y 6 horas mediante el pletismómetro, así mismo, en ratones con peso entre  $200\pm 10$  g se determinó la dosis ideal fue 25% del extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (chupasangre); se administró dosis única por vía Intramuscular diferentes concentraciones del extracto que fueron 10; 250; 500 mg/Kg. Resultados; los tipos de metabolitos secundarios hallados en el extracto fueron; saponinas, taninos, esteroides, triterpenoides, alcaloides y los de mayor presencia fueron flavonoides y compuestos fenólicos; la dosis ideal fue el de 25%, al grupo de 10% que se administro fue intermedio y las dosis de 50% no hubo ninguna reacción del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (chupasangre). Tiene efecto antiinflamatorio y ha evidenciado ser seguro por tratarse de una sustancia no tóxica según las condiciones experimentales de la presente investigación.

**Palabras clave:** Chupa sangre, antiinflamatorio, NaCl, DL, % eficacia antiinflamatoria.

## ABSTRACT

The objective was to determine to the extent that the hydroalcoholic extract from the leaves of the *Oenothera rosea* A. (bloodsucker) has an anti-inflammatory effect in rats with induction of inflammation. The anti-inflammatory effect was determined by the method of plantar edema, the solution of NaCl 10% in physiological solution was used as an agent that induces the inflammatory process in the hind paw of the rat weighing  $200 \pm 10$  g, measurements of the volume of inflammation at 1,2, 3, 4,5, and 6 hours by means of the plethysmometer, likewise, in mice weighing  $200 \pm 10$  g, the ideal dose was 25% of the Hydroalcoholic extract of the leaves *Oenothera rosea* A. (bloodsucker) ; single dose was administered intramuscularly different concentrations of the extract that were 10; 250; 500 mg / Kg. Results; The secondary metabolites found in the extract were; saponins, tannins, steroids, triterpenoids, alkaloids and those with greater presence were flavonoids and phenolic compounds; the ideal dose was 25%, the group of 10% that was administered was intermediate and the 50% doses there was no reaction of the leaves *Oenothera rosea* A. (bloodsucker) It has anti-inflammatory effect and has been shown to be safe because it is treated of a non-toxic substance according to the experimental conditions of the present investigation.

Key words: Suck blood, anti-inflammatory, NaCl, DL% anti-inflammatory efficacy.



## INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente en diversos pueblos de nuestra costa, sierra y selva se recurren a las plantas medicinales para aliviar diversas enfermedades y/o malestares, surgiendo así la medicina tradicional; esto tiene su origen en la observación y discriminación de nuestros ancestros, que, desde la antigüedad, utilizaron diversas plantas medicinales para curar enfermedades, aliviar dolores. Su uso se mantiene en vigencia hasta la actualidad. La industria farmacéutica aprovecha estos insumos, existiendo la necesidad de investigar para darle valor científico y promover el aprovechamiento de nuestros recursos naturales.

El Perú es uno de los países más destacados en biodiversidad; últimamente se han realizado diversos estudios en diferentes plantas medicinales, como *Oenothera rosea* A. conocida vulgarmente como (chupasangre) en la medicina tradicional peruana; esta planta tiene una amplia utilización empírica por sus propiedades curativas: antiinflamatorio, para el tratamiento de infecciones respiratorias, urinarias, heridas y en hemorragia, se usa para absorber la sangre de los hematomas provocados por golpes y contusiones.<sup>(8)</sup>

Teniendo en cuenta que nuestra población necesita medicamentos de costo reducido y alto beneficio para el tratamiento de lesiones que lo haría accesible a las clases más populares, se ha realizado una investigación dirigida a evaluar el efecto antiinflamatorio de la crema a base del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (chupasangre). La presente Investigación tiene como objetivo evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto Hidroalcoholico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (chupasangre) en Ratas (Holtzman) con Inducción a la Inflamación.<sup>(10)</sup>

# CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

## 1.1. Descripción de la realidad problemática

Las plantas medicinales han constituido desde tiempos remotos un recurso de gran importancia para cubrir las necesidades terapéuticas. Su uso como agentes de la salud es ampliamente conocido en múltiples culturas del mundo y ha sido transmitido a través de generaciones.<sup>(16)</sup>

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la tercera parte de la población en el mundo no puede tener acceso a los medicamentos que son los llamados esenciales y una alternativa que esta población tiene para mejorar su estado de salud es a través de la medicina tradicional.

Esta medicina tradicional se fundamenta en parte en la aplicación de tratamientos a base de plantas medicinales (Fitoterapia). Y el interés por el estudio de estas plantas se sustenta fundamentalmente en que es necesario encontrar nuevas moléculas que sirvan para la síntesis de nuevos fármacos con aplicación clínica.

Esta investigación se centra en la actividad antiinflamatoria de las plantas debido a la presencia de metabolitos secundarios que permiten pensar que pueden ser responsables del efecto buscado. Entre ellos pueden citarse flavonoides, polifenoles y alfa-tocoferol. *La Oenothera rosea A.* es una planta perteneciente a familia Onagraceae, familia botánica que comprende alrededor de 124 especies herbáceas de Sudamérica y América del Norte, popularmente conocida como “chupasangre”, “amapola de campo”, “árnica”, “cáncer lisa”, entre muchas más denominaciones populares según la región donde se esté y utilice.

De esta planta se ha estudiado sus propiedades procoagulantes, además como analgésico contra los dolores de estómago, anginas, dolores de garganta, dolores musculares, dolor de corazón y cólico estomacal.<sup>(19)</sup>

Además, es empleado popularmente como desinflamante, aplicándose 3 veces al día el macerado de hojas o infusión de la planta en casos de inflamaciones cutáneas. Se ha demostrado además que dicha planta posee actividad antioxidante y una actividad protectora contra la radiación UV-B.

Considerando las múltiples características de esta planta, en esta investigación se evaluará la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (chupasangre) en ratas inducidas a inflamación.

## **1.2. Formulación del Problema**

### **1.2.1. Problema General**

¿Presentará efecto antiinflamatorio el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre), en ratas albinas inducidas a inflamación?

### **1.2.2. Problema Específicos**

1. ¿Cuál será la composición de los tipos de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)?
2. ¿Cuál será la concentración óptima del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) que presente buen efecto antiinflamatorio?

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en ratas albinas inducidas a inflamación.

### **1.3.2. Objetivos específicos.**

1. Identificar la composición de los tipos de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre).
2. Determinar la concentración óptima del extracto de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) que presenta buen efecto antiinflamatoria en estados inflamatorios inducidos en ratas albinas (Holtzman).

### **1.4. Justificación e importancia del estudio**

La ejecución de la presente investigación es de interés ya que lo que se busca es encontrar nuevas alternativas terapéuticas. En el Perú existe una gran diversidad de plantas que podrían ser utilizadas como alternativas para diversas patologías. Lo que se busca es validar el uso popular atribuido a *Oenothera rosea* A. (chupasangre) en los procesos inflamatorios.

La investigación es factible y viable, debido a que se cuenta con las muestras y materiales de estudio. Así también la universidad cuenta con los equipos para desarrollar este proyecto, lo cual permite terminar con éxito la parte experimental.

Los beneficiarios de esta investigación será la población en general debido a que se propondrá una nueva alternativa terapéutica.

El desarrollo de este proyecto constituye un punto de partida para realizar futura investigación en el campo de productos naturales.

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Antecedentes del Estudio**

#### **2.1.1. Nacionales**

**Huari E et al, (2017)** El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto Antiinflamatorio y cicatrizante de la crema farmacéutica a base del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea A.* (chupasangre) procedente del Departamento de Ancash (Huaraz). Se determinaron los metabolitos secundarios mediante marcha fitoquímica (flavonoides, alcaloides, taninos, saponinas, fenoles, glucósidos y otros). Se evaluó el efecto contra la inflamación y su actividad en las cicatrices en 3 grupos poblacionales (contusiones leves, contusiones moderadas y heridas leves cerradas) de 20 a 50 años de edad, de ambos sexos, los cuales se subdividieron en grupos experimentales y controles, en el Centro de Salud Ganimedes DISA IV LIMA ESTE – MINSA del distrito de San Juan de Lurigancho.

Se evaluó el estado general para un diagnóstico médico; para luego iniciar el uso tópico por medio de controles de observación y medición de la zona afectada hasta su completa recuperación. Los datos fueron procesados mediante el análisis (ANOVA), Tukey y análisis de varianza, dándonos como resultado que las cremas al 3 y 5 % mostraron buen efecto antiinflamatorio (contusiones leves y contusiones Moderadas) y regular efecto cicatrizante (heridas leves cerradas), mientras, que la Crema al 1 % no tiene efecto. Además, la crema al 5 % fue sometida a estabilidad Acelerada a una temperatura de 40 °C durante 90 días teniendo como parámetros.

Los análisis organolépticos (aspecto, color y olor), fisicoquímicos (pH, viscosidad) Carga microbiológica total; obteniendo como resultado una crema estable y que Cumple con los criterios de aceptación (1).

**Villena C, (2012)** En su investigación “Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (yawarsocco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica”

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antiinflamatorio de *Oenothera rosea* (Yawarsocco) en ratas con inducción de inflamación aguda y crónica. La planta fue secada a 38°C en estufa de aire circulante, se molió, y maceró con etanol/agua (70:30)<sup>1</sup>. Para evaluar el efecto agudo, se utilizó el modelo experimental de Winter, edema subplantar inducido con carragenina y el edema auricular inducido con xilol.

Para la actividad antiinflamatoria crónica se usó el modelo del granuloma inducido por carragenina utilizando una modificación de la técnica descrita por Sedwick y Lees. Se utilizaron 132 ratas albinas con peso promedio 300 g, distribuidas al azar en grupos de 8 cada uno, considerando un grupo control con suero fisiológico de 5 mL/kg, uno con el agente inductor de inflamación (AI), grupos con AI más extracto en tres dosis y grupos con AI, dexametasona e ibuprofeno; siendo 56 ratas para evaluación frente a la carragenina donde se consideró mililitros de volumen de la subplantar porcentaje de eficacia antiinflamatoria, nivel de PCR en sangre y observación histológica del proceso inflamatorio; primero en 56 ratas frente al xilol expresándose en miligramos de una porción del lóbulo (oreja derecha). Se utilizaron 50 ratones para evaluar toxicidad aguda, 20 ratas normales para la observación de efectos por administración a dosis repetidas durante 28 días. Los resultados mostraron un 60% de reducción de la inflamación aguda ( $p < 0,01$ ), así como 60% la inflamación crónica ( $p < 0,05$ ) y la PCR se redujo en 45% ( $p < 0,03$ ); no hubo evidencia de efectos adversos, un 60% del efecto antiinflamatorio en ratas y 60% del efecto en edema auricular crónico; determinándose una DEM de 61 mg/kg y sin efectos adversos.

Se concluye que en las condiciones experimentales se demostró que el extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (chupasangre) en ratas presenta efecto antiinflamatorio y sin cambios hematológicos e histopatológicos en ratas (2)

**Rojas R, et al (2012)** En su Investigación desarrollo 2 cremas cosméticas a base de extractos hidroalcohólicos de hojas de *Bixa orellana* (BO) y *Oenothera rosea* (OR), ambas muestras fueron sometidas a diversos tests químicos, enzimáticos, celulares e *in vivo*. Los extractos de BO y OR mostraron buena actividad antioxidante en los tests de DPPH (EC50= 10.65 y 10.78 µg/ml, respectivamente) y TEAC (0.52 y 0.2, respectivamente). BO y OR inhiben moderadamente la enzima elastasa (IC50= 72.68 y 112.04 µg/ml, respectivamente) y altamente la enzima colagenasa (IC50= 166.23 y 194.89 µg/ml, respectivamente).

La toxicidad de BO y OR contra melanocitos B16 es baja (GI50= 240.24 y 270.80 µg/ml, respectivamente). Solamente el extracto de BO promueve la síntesis de colágeno *in vitro* (11.2% a c= 25 µg/ml); mientras que solo el extracto de OR fue capaz de proteger a los fibroblastos contra los daños de la irradiación UV-B (24.5% a c= 25 µg/ml). El contenido de compuestos fenólicos en los extractos de BO y OR fue 14.9 y 15.4 mg de ácido gálico/g extracto, respectivamente. El contenido de ácido ascórbico del extracto de OR (210.64 mg/100 g extracto) fue mayor que el de BO (136.63 mg/100 g extracto). En cuanto a los marcadores químicos, BO contiene 8.66 mg de ácido elágico/g extracto; mientras que el de OR contiene 2.39 mg de quercetina/g extracto. Se prepararon 2 cremas con cada uno de los extractos y se realizó el "Patch test" en 20 voluntarios sanos. Ninguno de los sujetos mostró algún tipo de efecto adverso cuando las cremas fueron aplicadas en forma tópica. Ambas cremas tuvieron resultados positivos en la evaluación subjetiva de eficacia reportada por los voluntarios y disminuyeron, en mayor proporción que el placebo, la profundidad de arrugas medida por el equipo Skin Diagnosis System

**Ramos C, et al (2014)** El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal determinar la actividad cicatrizante de las sumidades floridas de *Oenothera rosea* (yawar chonca) en extracto y gel, aplicados en heridas producidas experimentalmente en animales de laboratorio pertenecientes a la especie *Rattus norvegicus*. Se obtuvieron tres extractos mediante el método de extracción con equipo Soxhlet, utilizando como disolventes éter de petróleo, cloroformo y alcohol etílico, ello con la finalidad de determinar cuál de estos extractos tiene mayor eficacia bajo una evaluación preliminar. Todos estos extractos se incorporaron en una base de gel de carbopol en una proporción del 20%. El análisis estadístico de

esta evaluación señaló al gel con extracto con alcohol etílico como grupo con mayor eficacia cicatrizante, ya que presentó diferencias significativas respecto a su control.

El extracto etanólico fue sometido a un análisis cromatográfico en capa fina, detectando la presencia de terpenos, flavonoides y taninos. Para la prueba final se trabajó con tres grupos, cada uno de ellos conformados por cinco animales de experimentación, a los que se les practicó dos cortes, uno de ellos fue utilizado para aplicar los tratamientos y el otro como control, esto es, cada tratamiento tuvo su control. Los tratamientos consistieron en un grupo tratado con extracto de *Oenothera rosea* (yawar chonca) solamente, otro tratado con gel con extracto de *Oenothera rosea* (yawar chonca) y finalmente uno tratado con un preparado comercial con actividad cicatrizante. Estos tratamientos fueron aplicados dos veces al día durante 10 días, al término de las cuales se procedió a determinar la resistencia de la cicatriz por el método tensiométrico, que mide la resistencia que opone la cicatriz a la rotura experimental.

Para el análisis estadístico en primer lugar se consideró que, bajo el diseño experimental realizado, cada una de las heridas que recibió el tratamiento respectivo, disponía de una herida adyacente que sirvió de control, y los gramos de resistencia de cada uno de estos controles constituyó el 100%; por lo que para el análisis final se relacionó cada una de las mediciones experimentales en gramos de arena con relación a los gramos de su control. En este sentido el análisis estadístico (prueba "t" y análisis de varianza) de estos resultados revelaron que tanto el extracto con 130.77% y gel de las sumidades floridas de *Oenothera rosea* (yawar chonca) con 111.54%, tienen eficacia cicatrizante significativa respecto al grupo control. Y luego de la comparación entre grupos (test de Tukey), se concluyó que el extracto de *Oenothera rosea* (yawar chonca) aplicado sobre heridas incisas es el que presenta mayor eficacia cicatrizante, ya que muestra diferencias significativas respecto del gel con extracto y de la forma farmacéutica comercial con actividad cicatrizante



### 2.1.2. Internacionales

**Juárez M, et al (2004)**, En su Investigación Titulada Evaluación de la actividad antiinflamatoria y analgésica de los extractos de *Oenothera rosea* A. (chupasangre) en diferentes modelos in vivo. En el presente estudio se propuso ampliar el espectro de las observaciones experimentales en diferentes modelos in vivo de analgesia e inflamación, evaluando los efectos que presentan por vía oral, intraperitoneal y tópica, los extractos de *Oenothera rosea* obtenidos por maceración sucesiva, así como un extracto obtenido directamente con metanol.

Los resultados obtenidos en el modelo de la plancha caliente muestran que, a las dos horas de administrados los extractos, la latencia que presentan los animales al estímulo térmico tuvo valores entre  $35.48 \pm 2.72$  y  $57.98 \pm 2.33$ , siendo el extracto metanólico obtenido por extracción sucesiva el que presentó la mayor actividad analgésica. A las cuatro horas los extractos hexánicos y diclorometano, incrementaron la actividad (%MPE= $40.68 \pm 3.37$  y  $59.15 \pm 2.77$ ) mientras que la actividad del extracto metanólico sucesivo disminuyó significativamente. El extracto metanólico "directo" incrementó fuertemente su actividad a las 4 horas con un valor % MPE= $74.96 \pm 2.62$ . A diferencia de los resultados en el modelo de la plancha caliente, los extractos no presentaron actividad importante en el modelo del retiro de la cola.

En el modelo de las contorsiones inducidas con ácido acético, todos los extractos inhibieron el estímulo inducido con el agente algogénico. La administración i.p. de ambos extractos metanólicos mostraron mayor efecto (66.21% y 79.94% de inhibición de las contorsiones respecto al grupo control) y por vía oral, los extractos hexánico y diclorometano aumentaron notablemente la actividad (75.48% y 70.59% respectivamente) <sup>(5)</sup>

**Díaz H, et al(2012)**, En su Investigación Titulada En el análisis fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton, se identificaron: taninos, flavonoides, quinonas, alcaloides y saponinas, teniendo como objetivo principal determinar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton sobre la hemostasia; para eso se evaluó el efecto fibrinolítico *in vitro* del extracto

etanólico a las siguientes concentraciones: 5,8; 0,29 y 0,014 mg/ml en sangre venosa humana; para el efecto antiagregante plaquetario se administró 25, 50 y 100 mg/kg del extracto a 40 ratas albinas hembras, las que se dividieron en 5 grupos de 8 animales cada uno. Al grupo control se administró suero fisiológico 5 ml/kg y se utilizó aspirina 100 mg/kg, como fármaco estándar; se determinó el tiempo de protrombina y tiempo de coagulación, obteniéndose mayor efecto a 50 mg/kg al variar en 8% ( $p < 0,000$ ) y 45% ( $p < 0,001$ ), respectivamente<sup>(6)</sup>

**Regalado A, et al (2012)**, En su Investigación Titulada La actividad antiinflamatoria suscita gran interés científico en el área farmacológica, debido a que muchas enfermedades en su evolución cursan por procesos inflamatorios (artritis reumatoide, aterosclerosis, cáncer, diabetes, gota, asma, dermatitis, trastornos neurodegenerativos y diversas dolencias menores). Las enfermedades inflamatorias constituyen un problema de salud importante, debido a la falta de medicamentos eficaces y seguros para su uso por periodos prolongados. Hoy en día se trabaja en la búsqueda de alternativas de antiinflamatorios más seguros, en el que las plantas medicinales, una de las formas más antiguas de tratamiento,

Constituyen una elección a considerar. En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica, sobre especies de plantas que crecen en Cuba que le reportan propiedades farmacológicas como antiinflamatorios. En la revisión de la literatura se utilizó la base de datos *Medline (vía PubMed)*, así como revistas nacionales desde el periodo de 2000 hasta el presente, con las palabras claves "inflamación" y "plantas cubanas antiinflamatorias" o "actividad antiinflamatoria" y "plantas medicinales"<sup>(7)</sup>

## **2.2. Bases Teóricas**

***Oenothera rosea A. (Chupasangre)*** Las especies del género *Oenothera rosea A.* son nativas de América del Norte y América del Sur. Es una Planta anual o perenne con tallos erectos, simples o Ramificados que alcanzan los 50 cm de altura y cubiertos por una pilosidad Adpresa.

Las hojas superiores son alternas de 2-5x1-2 cm, oblanceoladas o estrechamente ovadas, y las hojas inferiores son sinuado-dentadas a pinnatífidas carecen de estipulas en la base. Las flores se reúnen en una inflorescencia bracteada, y se mantienen erectas durante el botón, son actinomorfas y tetrámeras 4. El tubo del hipanto de 0,4 a 0,8 cm, está bien desarrollado; es cilíndrico y caduco. El cáliz está formado por 4 sépalos de 0,5 a 0,8 mm, de color verdoso, no persistentes, que están erectos en el botón, son actinomorfas y tetrámeras. La corola tiene 4 pétalos purpúreos de 0,5 -1,0 cm.

El androceo consta de 8 estambres con los filamentos de hasta 6 mm y el gineceo de un ovario de 1,0-1,5 cm, tetralocular, del que surge un estilo de hasta 1,2 cm que finaliza en un floración<sup>5</sup>. El fruto es una cápsula de 1,5-2,5 cm, claviforme que tiene 4 a las y 4 nervios engrosados, alternos en su inferior hay varias semillas sin anillo de pelos, de contorno elíptico o redondeado. Las semillas son pequeñas, exalbuminosas, desnudas con una o varias envolturas (tubérculos, pelos, etc.) o apéndices (comapenacho de pelos, alas, etc.); el embrión puede ser recto o casi recto 6, 7. El número básico de cromosomas es siete.

Las hierbas del género *Oenothera* en el Perú se ven en las lomas de la costa y en los Andes, donde llegan hasta los 4500 m.s.n.m., son anuales o perennes, algunas veces plantas sufrutescentes, caulescentes o acaulescentes; con flores blancas, amarillas o rosa, a menudo cambian con el paso del tiempo de verdes, naranjas, rojizas o rojo violeta: vespertinas o diurnas, se abren cuando aparece el sol y se ven desvaneciendo para la mañana siguiente y tienen dulce fragancia <sup>(8)</sup>.

### **Taxonomía**

Ha sido estudiada y clasificada como *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**División** : Magnoliophyta  
**Clase** : Magnoliopsida  
**Sub clase** : Rosidae  
**Orden** : Myrtales  
**Familia** : Negraceae  
**Género** : *Oenothera*  
**Especie** : *Oenothera rosea*  
**Nombre común** Chupa sangre

### **Compuestos químicos:**

Las hojas contienen ácido caféico, elálgico y p-cumárico, vitamina C, calcio, fosforo y fibra (celulosa y lignina), además de flavonoides, alcaloides, quinonas, saponinas, fenoles, y taninos Según el mecanismo de evolución las hojas en esta planta tienen mayores metabolitos en la etapa de floración por una relación filogenética, a mayor Concentración de metabolitos fenólicos en las hojas es mayor el consumo por Herbívoros. Otros estudios mencionan que en el estadio de floración (entre enero a marzo) encontraron por medio de *screening* fitoquímico abundante cantidad de fenoles, flavonoides y taninos.

Las raíces contienen taninos, constituidos por ácido gálico principalmente; en las Semillas contienen ácido linoleico (ácido cis-linoleico) (65-80 %) y ácido gamma linolénico (GLA, cis-g-linolénico) (8-14 %). También ácido oleico (6-11 %), ácido Palmítico (7-10 %) y ácido esteárico (1,5-3,5 %), ácido aspártico y glutámico. Otros Constituyentes incluyen esteroides, como campesterol y beta sitosterol, y alcoholes triterpénicos<sup>(9)</sup>



Figura 1. Imagen de Chupasangre

## **Hábitat**

La especie de chupa sangre se desarrolla en las temporadas de primavera a invierno en una altura de 2500 a 4500 m.s.n.m, en zonas lluviosas o agrícolas.

## **Recolección**

Las plantas de Chupasangre fueron recogidas del distrito Huayucachi Provincia de Huancayo y Departamento Junín a unos 3500 msnm. En horas de la tarde (5:00 p.m.). Se seleccionó las plantas que no estaban dañadas ni maltratadas, La selección debe ser de plantas sanas y de color característico (verdes oscuros sin manchas), Luego fueron traídos a la ciudad de Lima para su ensayo correspondiente.

## **Propiedades farmacológicas**

### **Principios activos**

#### **Diclofenaco**

#### **Mecanismo de acción del Diclofenaco**

El mecanismo de acción del diclofenac, como el de otros AINE, no se conoce por completo, pero parece implicar la inhibición de las vías de las ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2) vías.El mecanismo de acción del diclofenac también puede estar relacionado con la inhibición de la prostaglandina sintetasa.

**Farmacocinética:** después de una dosis oral, el diclofenaco se absorbe en 100% después de la administración oral en comparación con la administración intravenosa, medida por la recuperación de la orina. Sin embargo, debido al metabolismo de primer paso, sólo alrededor del 50% de la dosis absorbida es disponible sistémicamente. Después de la administración oral repetida, no se produce acumulación del fármaco en plasma. La presencia de alimentos retrasa la absorción y disminuye las concentraciones plásmicas máximas, pero no afecta la absorción global. El Diclofenac presenta una farmacocinética lineal, siendo las concentraciones plasmáticas proporcionales a las dosis.

El volumen aparente de distribución del Diclofenac de 1,3 L/kg. El Diclofenac se une extensamente (> del 99%) a las proteínas séricas humanas, principalmente a la albúmina. La unión a proteínas séricas es constante en el intervalo de concentraciones (0,15 a 105 mg / mL) logrado con las dosis recomendadas.

El Diclofenac se difunde dentro y fuera del fluido sinovial: la difusión dentro de la articulación se produce cuando los niveles plasmáticos son más altos que los del líquido sinovial, después de lo cual el proceso se revierte. Se desconoce si la difusión en la articulación desempeña un papel en la eficacia de Diclofenac.

Diclofenac se elimina a través del metabolismo y la posterior excreción urinaria y la biliar del glucurónido y los conjugados de sulfato de los metabolitos. La vida media terminal de diclofenac sin cambios es de aproximadamente 2 horas. Aproximadamente el 65% de la dosis se excreta en la orina y aproximadamente el 35% en la bilis como conjugados de diclofenaco sin cambios además de los cinco metabolitos identificados. Dado que la eliminación renal no es una vía importante de eliminación de diclofenaco sin cambios, no es necesario ajustar la dosis en pacientes con insuficiencia renal leve a moderada disfunción renal.

**Toxicidad:** Los estudios de carcinogenicidad a largo plazo en ratas tratadas con diclofenaco sódico en dosis de hasta 2 mg/kg/día (0,2 veces la dosis máxima recomendada en humanos) han puesto de manifiesto un aumento significativo en la incidencia de tumores. Un estudio de carcinogenicidad de 2 años realizado en ratones empleando diclofenaco sódico a dosis de hasta 0,3 mg/kg/día (0,014 veces la dosis máxima humana recomendada) en los machos y 1 mg / kg / día (0,04 veces la dosis máxima humanan recomendad en las hembras no revelaron ningún potencial oncogénico.<sup>(10)</sup>

## **2.3. Hipótesis**

### **2.3.1. Hipótesis general**

El extracto hidroalcohólico de las Hojas de *Oenothera rosea A.* (Chupasangre) presenta efecto antiinflamatorio en Ratas albinas (Holtzman) por inducción experimental.

### **2.3.2. Hipótesis específicas**

1. Existen tipos de Metabolitos Secundarios en el extracto hidroalcohólico de las Hojas de *Oenothera rosea A.* (Chupasangre) con efecto antiinflamatorio en Ratas (Holtzman) por Inducción.
2. La concentración al 25% del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea A.* (Chupasangre) tiene buen efecto antiinflamatorio en Ratas (Holtzman) por Inducción.

## 2.4. Operacionalización de Variables

Tabla 1

Operacionalización de Variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores
Independiente: Extracto Hidroalcohólico de <i>Oenothera rosea A.</i> (chupasangre)	Producto de la maceración en alcohol 70% por 7 días, concentrado en estufa hasta eliminación del solvente, conservado y almacenado en envase de vidrio color ámbar cerrado. Administrado según la concentración y el peso.	Maceración en alcohol 70% por 7 días, concentrado en estufa a 40°C en material de vidrio.	Dosis del extracto administrado
Dependiente: Efecto Antinflamatorio	Acción de inducir a la Inflamación con Concentraciones diferentes de NaCl luego se administra el Extracto Hidroalcohólico de <i>Oenothera rosea A.</i> (chupasangre) 10,25 y 50 %	Evaluación del Extracto Hidroalcohólico de <i>Oenothera rosea A.</i> (chupasangre)	Volumen de Liquido luego de introducir la pata de Rata:

Fuente: Los Investigadores



### 2.4.1. Variable Independiente

Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (chupasangre)

### 2.4.2. Variable Dependiente

Efecto Antiinflamatorio

## 2.5. Marco conceptual

### Prueba de solubilidad

Para el desarrollo de la prueba de solubilidad se utilizó la técnica descrita por Olga Lock Ugaz (1996), se empleó el extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (chupasangre) la cual fue sometido a solventes de diferentes polaridades reportándose que la muestra tiene una alta afinidad en solventes polares en la ficha anexa. **(Anexo N° 3) reportadas en la tabla.**

### Marcha Fitoquímica

Para la marcha fitoquímica, se utilizó el método de Domínguez (1987) el cual reconoció los metabolitos secundarios en el extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (chupasangre) con los siguientes reactivos.

*Tabla 2*

Reactivos

N°	Reactivos
1	Reactivo de Mayer
2	Reactivo de Wagner
3	Reactivo de Dragendorff
4	Reactivo de ácido Fosfotungsticico "Scheibler
5	Reactivo de Sonneschein
6	Reactivo de Reineckato
7	Reactivo de Shinoda (tiras de magnesio + ácido clorhídrico
8	Reactivo de Cloruro férrico
9	Reactivo de Gelatina al 1%
10	Hidróxido de sodio al 5% (reacción de Bortranger)
11	Reactivo de Ninhidrina
12	Reactivo de Lugol
13	Reactivo de Fehling A

- 
- 14 Reactivo de Fehling B
  - 15 Reactivo de tricloruro férrico de aluminio al 2%
  - 16 Acetato de sodio 1M
  - 17 Ácido sulfúrico 2N
  - 18 Hidróxido de sodio al 10%
- 

- **Reacción con Dragendorff** se procede con 10 gotas de la muestra de solución de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) más 5 gotas de HCl 10% mas 3 gotas de Dragendorff por lo tanto si la reacción es positiva presenta las siguientes características.

Precipitado de color naranja.

- **Reacción con Antrona** se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) mas 3 gotas de reactivo de Antrona por lo tanto si la reacción es positiva presenta las siguientes características.

Coloración verde.

- **Reacción con Fehling** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) más 3 gotas de Fehling A más 3 gotas de Fehling B y luego calentar a baño María por lo tanto si la reacción es Positiva presentara la siguiente característica.

Coloración rojo amarillo.

- **Reacción de Tricloruro Férrico** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) más 3 gotas Tricloruro Férrico si la reacción es Positiva presentara la siguiente característica.

Coloración verde azul.

- **Reacción de Gelatina** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) más 3 gotas de gelatina si la reacción es Positiva presentara la siguiente característica.

Precipitado denso blanco.

- **Reacción con Shinoda** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) más 1-2 virutas de Magnesio Metálico más 3 gotas HCl concentrado. si la reacción es Positiva presentara las siguientes características en flavonas y flavonoides.  
Amarillo a rojo.
- **Reacción con Rosenheim** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) 3 más de Rosenheim si la reacción es Positiva presentara las siguientes características.  
Coloración rojo oscuro.
- **Reacción de Ninhidrina** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) más 3 gotas de Ninhidrina. luego calentar de 8 a 10 minutos si la reacción es Positiva presentara las siguientes características.  
Coloración violácea.
- **Reacción con Molish** Se procede con 10 gotas de muestra de solución de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) más 3 gotas Molish y 3 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> si la reacción es Positiva presentara las siguientes características.  
Anillo violeta. Anexo N° 4 Reportada en la tabla N°4.

**Preparación del extracto hidroalcohólico** La muestra seca y triturada (200 gr de muestra seca). Se maceró en un frasco de color ámbar por un período de una semana en alcohol a 70° éste cubrió la muestra unos 2 cm. Durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. El frasco oscuro con algunos días de apertura porque puede producir fermentación. Luego se procedió a filtrar con carbón activado para limpiar las impurezas, luego se lleva a concentrar en una estufa a 40°C hasta obtener el extracto seco

## Diseño experimental

Se formará 6 grupos de 5 ratas albinas de las cepas (Holtzman) cada uno distribuido aleatoriamente, los que fueron sometidos a los siguientes tratamientos:

- **Grupo 1:** No se le administrara ningún tipo de extracto, medicamento.
- **Grupo 2:** Tratado con solución de cloruro de sodio al 10%, 2,5ml/Kg,
- **Grupo 3:** Tratado con solución de cloruro de sodio al 10%, 2,5ml/Kg, y será administrado extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea A.* (**Chupasangre**) al 10%.
- **Grupo 4:** Tratado con solución de cloruro de sodio al 10% y luego el extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea A.* (**Chupasangre**) al 25% mg/kg de peso.
- **Grupo 5:** Administrando con solución de cloruro de sodio al 10% y luego el extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea A.* (**Chupasangre**) a 50% dosis de 250 mg/kg de peso.
- **Grupo 6:** Administrando con solución de cloruro de sodio al 0.9 y luego con Diclofenaco 75 mg/kg.

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. Tipo de estudio**

Experimental transversal debido a que se manipula la variable independiente en forma aleatoria.

### **3.2. Diseño por utilizar**

El Carácter experimental porque el efecto antiinflamatorio es medido 6 veces luego de la inducción comparamos antes y después del tratamiento, son muestras relacionadas.

### **3.3. Población**

Las plantas de *Oenothera rosea* A. (**Chupasangre**) fueron recogidas del distrito de Huayucachi Provincia de Huancayo y Departamento Junín a unos 3500 msnm. En horas de la tarde (5:00 p.m.). Se seleccionó las plantas que no estaban dañadas ni maltratadas, La selección debe ser de plantas sanas y de color característico (verdes oscuros sin manchas), se distribuyó en una habitación ventilada sobre papel Kraff para su secado, aproximadamente por una a dos semanas, en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la UIGV.

### **3.4. Muestra**

Se utilizó para el extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) 200gr seleccionado por sus características organolépticas y morfológicas en buenas condiciones.

### **Material Biológico**

Población ratas albinas (Holtzman).

Se trabajó en la investigación 30 ratas Albinas (Holtzman) de peso de 200 a 250 gramos con rango de edad 3 meses Adquiridos en Instituto Nacional de Salud (INS) con sede en el Distrito de Chorrillos.

### **3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Ficha ad doc. De recolección de datos para la actividad farmacológica, prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y Cromatografía de capa fina elaborada por los investigadores y validados por Docentes Investigadores de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

### **3.6. Procesamiento de Datos**

Los datos se expresan en tablas como media aritmética más menos error estándar, figuras, para el análisis estadístico se emplea de varianza de una via (one-way ANOVA) para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa para la variable evaluada por grupos se realizó análisis post hoc mediante el test de tukey. El nivel de significado fijado.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1. Presentación de resultados

Tabla 3

Estadísticos Descriptivos: Volumen de inflamación (mL)

		N	Media	Desviación estándar (s)	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Volumen luego de 1 hora.	NaCl 10%	5	5.78	0.08	5.68	5.88	5.7	5.9
	Diclofenaco 75mg	5	2.40	0.07	2.31	2.49	2.3	2.5
	Extracto 10%	5	2.80	0.07	2.71	2.89	2.7	2.9
	Extracto 25%	5	3.30	0.53	2.64	3.96	2.5	3.9
	Extracto 50%	5	5.54	0.21	5.28	5.80	5.4	5.9
Volumen luego de 2 horas.	NaCl 10%	5	5.80	0.07	5.71	5.89	5.7	5.9
	Diclofenaco 75mg	5	2.54	0.05	2.47	2.61	2.5	2.6
	Extracto 10%	5	2.76	0.05	2.69	2.83	2.7	2.8
	Extracto 25%	5	3.32	0.54	2.65	3.99	2.4	3.8
	Extracto 50%	5	5.50	0.07	5.41	5.59	5.4	5.6
Volumen luego de 3 horas.	NaCl 10%	5	5.70	0.07	5.61	5.79	5.6	5.8
	Diclofenaco 75mg	5	2.48	0.08	2.38	2.58	2.4	2.6
	Extracto 10%	5	2.80	0.07	2.71	2.89	2.7	2.9
	Extracto 25%	5	3.34	0.56	2.65	4.03	2.4	3.9
	Extracto 50%	5	5.34	0.09	5.23	5.45	5.2	5.4
Volumen luego de 4 horas.	NaCl 10%	5	6.02	0.50	5.40	6.64	5.7	6.9
	Diclofenaco 75mg	5	2.52	0.04	2.46	2.58	2.5	2.6
	Extracto 10%	5	2.76	0.15	2.57	2.95	2.5	2.9
	Extracto 25%	5	2.92	0.64	2.13	3.71	2.4	3.8
	Extracto 50%	5	5.44	0.05	5.37	5.51	5.4	5.5
Volumen luego de 5 horas.	NaCl 10%	5	5.82	0.04	5.76	5.88	5.8	5.9
	Diclofenaco 75mg	5	2.44	0.09	2.33	2.55	2.3	2.5
	Extracto 10%	5	2.66	0.11	2.52	2.80	2.5	2.8
	Extracto 25%	5	2.92	0.59	2.19	3.65	2.4	3.7
	Extracto 50%	5	5.52	0.08	5.42	5.62	5.4	5.6
Volumen luego de 6 horas.	NaCl 10%	5	5.78	0.04	5.72	5.84	5.7	5.8
	Diclofenaco 75mg	5	2.34	0.05	2.27	2.41	2.3	2.4
	Extracto 10%	5	2.74	0.11	2.60	2.88	2.6	2.9
	Extracto 25%	5	2.84	0.65	2.04	3.64	2.1	3.7
	Extracto 50%	5	5.48	0.15	5.30	5.66	5.3	5.7

La tabla 3 Muestra los volúmenes de inflamación promedio (mL) para cada uno de los tratamientos por cada hora de seguimiento.

En primer lugar observamos que los promedios al cabo de una hora de los extractos a 10%, 25% y 50% presentan valores bajos comparados al grupo control negativo (NaCl), en particular entre los tres extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) el menor promedio se da en la concentración

al 10% el cual al cabo de una hora es de solo 2.8 mL, luego aumenta ligeramente a 2.76 mL al cabo una hora más. Al cabo de tres horas de iniciado el tratamiento tenemos un valor promedio de 2.80 mL, este promedio se mantiene más o menos constante a las seis horas del seguimiento con un valor promedio de 2.74 mL.

En segundo lugar, tenemos la desviación estándar (s) del volumen de inflamación de cada tratamiento por hora, en la primera hora el grupo de ratas albinas tratadas con extracto hidroalcohólico al 25% presentan respuestas heterogéneas con respecto a su promedio (s= 0.53) mientras que los dos grupos más homogéneo corresponde a las ratas tratadas con Diclofenaco y extracto hidroalcohólico (s= 0.05). Al cabo de las siguientes horas el grupo tratado con extracto hidroalcohólico al 25% mantiene dicho comportamiento heterogéneo.

También se muestran las estimaciones interválica para los promedios esperados de cada grupo con un nivel de significancia del 95%, así por ejemplo tenemos que al cabo de una hora se espera que el volumen de inflamación promedio del grupo tratado con extracto hidroalcohólico al 10% este entre 2.31 y 2.49 mL, mientras que en el grupo control este promedio esta entre 5.68 y 5.88 mL, en general observamos valores similares entre el diclofenaco y los extractos al 10 y 25%, mientras que en el caso del extracto a 50% los límites son más similares al grupo control.

En su última columna la tabla 01 presenta los valores extremos observados, al cabo de una hora el valor mínimo fue de 2.3 mL y corresponde al grupo tratado con Diclofenaco mientras que el valor máximo fue de 5.9 mL y corresponde al grupo control a al grupo tratado con extracto al 50%.

A continuación, la figura 2 ilustra estos resultados:



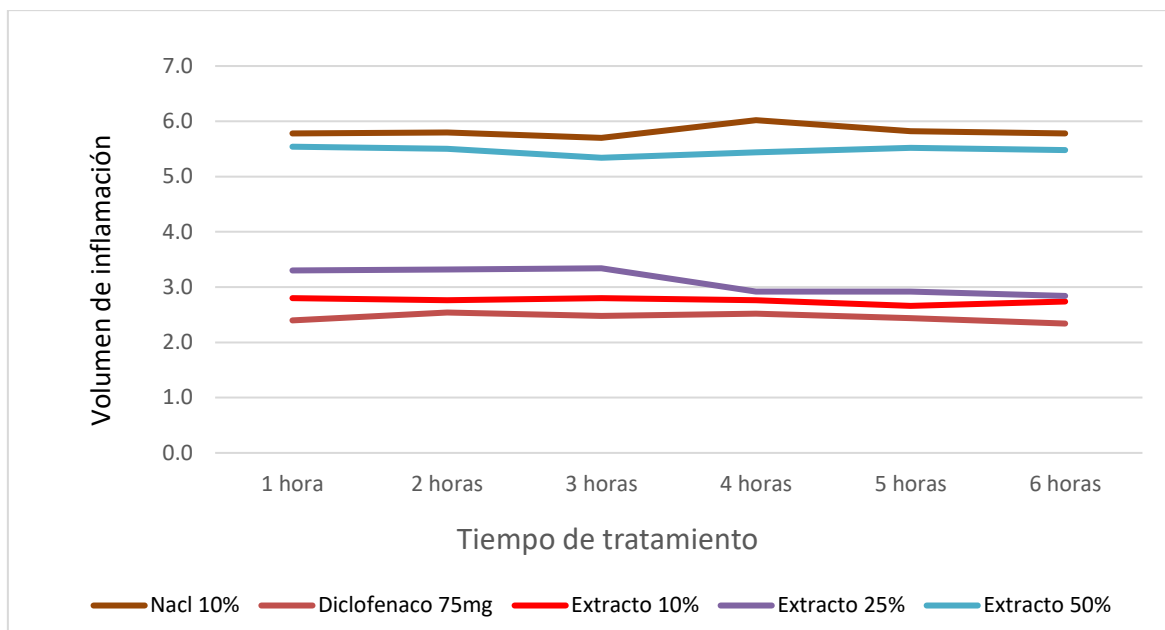


Figura 2. Evolución del volumen de inflamación por hora según tratamiento.

Fuente: los Investigadores

Tabla 4

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	(p valor).
1 hora	5.559	4	20	.004
2 horas	4.237	4	20	.012
3 horas	3.594	4	20	.023
4 horas	8.991	4	20	.000
5 horas	26.501	4	20	.000
6 horas	13.135	4	20	.000

La tabla 4 presenta la prueba de Homogeneidad de varianza de los 5 grupos por cada hora, debido a que el p valor es menor a 0.05 en todos los periodos podemos afirmar que las varianzas de los grupos son estadísticamente diferentes, es decir no existe homogeneidad de varianzas. Debido a esta situación no podemos aplicar una prueba ANOVA y usaremos una prueba no paramétrica equivalente: la prueba de Kruskal Wallis.

Tabla 5

Prueba de Kruskal Wallis:

	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas	6 horas
Chi-cuadrado	21.618	21.015	21.275	19.859	20.673	20.889
gl	4	4	4	4	4	4
p valor	.000	.000	.000	.001	.000	.000

Fuente: Variable de agrupación: Tratamiento los Investigadores

La prueba de Kruskal-Wallis es el método más adecuado para comparar cuando las desviaciones típicas de los diferentes grupos no son iguales entre sí,

H0: No existe efecto antiinflamatorio

H1: Al menos un grupo presenta efecto antiinflamatorio.

Regla de decisión:

Si el p valor es menor que 0.05 se rechaza la Hipótesis Nula Ho

Si el p valor es mayor a 0.05 no se rechaza la Hipótesis nula Ho.

Como el p valor resulta ser menor en todos los periodos de tiempo rechazamos Ho y aceptamos H1 por lo que concluimos que al menos un grupo presenta efecto antiinflamatorio.

Para determinar que tratamientos presentan efecto antiinflamatorio usaremos el Test de comparaciones múltiples de Games - Howell el cual no supone varianzas iguales.

Tabla 6

Comparaciones múltiples Games-Howell

Variable dependiente: Volumen de inflamación			Diferencia de medias (I-J)	p valor
Comparación al cabo de 1 hora.	Nacl 10%	Extracto 10%	2.980*	.000
		Extracto 25%	2.480*	.002
		Extracto 50%	.2400	.247
	Diclofenaco 75mg	Extracto 10%	-.4000*	.000
		Extracto 25%	-.9000	.081
		Extracto 50%		
Comparación al cabo de 2 horas.	Nacl 10%	Extracto 10%	3.0400*	.000
		Extracto 25%	2.4800*	.002
		Extracto 50%	.3000*	.001
	Diclofenaco 75mg	Extracto 10%	-.2200*	.001
		Extracto 25%	-.7800	.129
		Extracto 50%	-2.9600*	.000
Comparación al cabo de 3 horas.	Nacl 10%	Extracto 10%	2.9000*	.000
		Extracto 25%	2.3600*	.003
		Extracto 50%	.3600*	.001
	Diclofenaco 75mg	Extracto 10%	-.3200*	.001
		Extracto 25%	-.8600	.109
		Extracto 50%	-2.8600*	.000
Comparación al cabo de 4 horas.	Nacl 10%	Extracto 10%	3.2600*	.000
		Extracto 25%	3.1000*	.000
		Extracto 50%	.5800	.230
	Diclofenaco 75mg	Extracto 10%	-0.24	.097
		Extracto 25%	-.4000	.659
		Extracto 50%		
Comparación al cabo de 5 horas.	Nacl 10%	Extracto 10%	3.1600*	.000
		Extracto 25%	2.9000*	.002
		Extracto 50%	.3000*	.002
	Diclofenaco 75mg	Extracto 10%	-0.22	.058
		Extracto 25%	-.4800	.473
		Extracto 50%	-3.0800*	.000
Comparación al cabo de 6 horas.	Nacl 10%	Extracto 10%	3.0400*	.000
		Extracto 25%	2.9400*	.002
		Extracto 50%	.3000*	.041
	Diclofenaco 75mg	Extracto 10%	-.4000*	.003
		Extracto 25%	-.5000	.508
		Extracto 50%	-3.1400*	.000

La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05

Fuente: Los Investigadores.

La tabla 06 presenta en principio las comparaciones del volumen de inflamación promedio entre el grupo control versus los extractos a 10, 25 y 50% y luego compara el diclofenaco versus los extractos que hayan superado la prueba del grupo control.

Al cabo de una hora notamos que solo los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en concentraciones de 10 y 25% presentan un efecto anti inflamatorio significativamente diferente al grupo control (p valor

menor que 0.05) mientras que el extracto al 50% no evidencia efecto anti inflamatorio (p valor 0.247), seguidamente comparamos el Diclofenaco contra los dos extractos de 10 y 25% y observamos que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en concentraciones de 10% presenta una diferencia negativa y estadísticamente diferente (p valor = 0.000) es decir su efecto anti inflamatorio es diferente al diclofenaco de 75 mg, mientras que el extracto al 25% presenta un efecto comparable al diclofenaco (p valor mayor que 0.05).

En la segunda hora de aplicado los tratamientos los tres extractos presentan un efecto antiinflamatorio significativo (p valor menor a 0.05) pero solo el extracto al 25% presenta un efecto comparable al diclofenaco (p valor = 0.129), estos comportamientos se repiten en la tercera hora.

A la cuarta y quinta hora nuevamente solo los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en concentraciones de 10 y 25% presentan efectos antiinflamatorios comparables al diclofenaco (p valor mayor al 0.05)

A la sexta hora los tres extractos aún presentan un efecto antiinflamatorio significativamente diferente al grupo control (p valor menor que 0.05) pero únicamente el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en concentraciones de 25% presentan un efecto antiinflamatorio comparable al diclofenaco 75mg.

*Tabla 7*

Efecto de Inhibición de la inflamación:

Tratamiento	Porcentaje de Inhibición					
	1h	2h	3h	4h	5h	6h
Diclofenaco 75mg	58%	56%	56%	58%	58%	60%
Extracto 10%	52%	52%	51%	54%	54%	53%
Extracto 25%	43%	43%	41%	51%	50%	51%
Extracto 50%	4%	5%	6%	10%	5%	5%

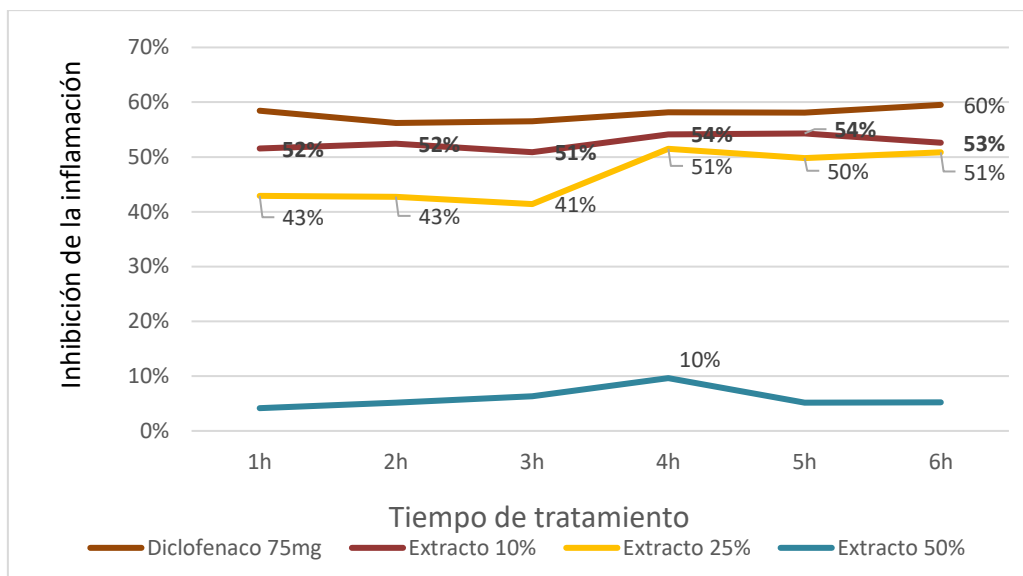


Figura 3. Evolución del Efecto Inhibidor de la inflamación por hora según tratamiento.

La figura 3 muestra que el efecto inhibidor de la inflamación del grupo tratado con el extracto al 50% está muy por debajo del resto llegando solo hasta un pico de 10% al cabo de 4 horas.

#### 4.2. Contrastación de hipótesis

H0: No existe efecto antiinflamatorio

H1: Al menos un grupo presenta efecto antiinflamatorio.

En cuanto a los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en concentraciones de 10 y 25% ambos muestran valores muy cercanos al Diclofenaco, En el caso del extracto a 10% este inicia en la primera hora con 52% llegando a un pico de 54% a la cuarta y quinta hora el cual disminuye solo un punto al cabo de seis horas, por su parte el extracto al 25% evoluciona desde un 43% hasta un 51% al final de las 6 horas.

#### 4.3. Discusión de resultados

La prueba de solubilidad (Tabla 1); indica que el extracto etanólico de las hojas de *O. rosea* es soluble en etanol y metanol, pero poco soluble en agua destilada; mientras que en otra investigación se encontró que es soluble en agua, De acuerdo

al screening fitoquímico (anexo 4) el extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) contiene flavonoides, fenoles, taninos en mayor concentración y saponinas, quinonas, alcaloides en menor concentración, otros autores han encontrado además la presencia de cumarinas, en el extracto de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) para nuestra investigación se prefirió utilizar el etanol y agua para la extracción; dado a que es miscible en agua en casi todas las proporciones, y al no ser tóxico se acepta para su uso en un producto tópico; además se evapora fácilmente reduciendo costos y tiempo de secado.

Las propiedades se promueven en un medio adecuado, en la zona afectada, para que los procesos de reparación tisular se lleven a cabo sin ningún problema; y además estas cremas forman una capa continua con la piel favoreciendo la liberación de los metabolitos secundarios. Presentes en el extracto de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre), dándonos como resultado mayor en la disminución de inflamación.

Según el screening fitoquímico (Anexo 4) en el extracto de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) están presentes otros metabolitos a los cuales se les podría atribuir las propiedades antiinflamatorias, como los triterpenos y saponinas por inhibición de la prostaglandina sintetasa; las flavonas, perteneciente al grupo de los flavonoides, modulan la expresión de la sintetasa inducible del óxido nítrico, citoquinas e inhiben la ciclooxigenasa (COX), y por último las flavononas por inhibición de la fosfolipasa.

El análisis de medias de los tiempos de curación, para inflamaciones (Anexo 4, 5,6); nos indican de extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) tiene mayor efecto antiinflamatorio, 25 %, y al 1 % no presenta actividad antiinflamatoria; de aquí podemos resaltar que a mayor concentración el efecto es mayor. Además, debemos tener en cuenta que los metabolitos presentes en la planta varían según los diferentes factores ambientales, climáticos entre otros, los cuales podrían proporcionarle una mayor riqueza de componentes químicos.

## **CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1. Conclusiones.**

Se determinó el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en ratas albinas (Holtzman), esto se debería a la presencia de bioactivos presentes en la composición química tales como flavonoides, fenoles, taninos entre otros que son los responsables de esta propiedad farmacológica que posee la especie vegetal en estudio.

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en concentración de 25% presenta un efecto antiinflamatorio desde la primera hora y se mantiene a las seis horas de iniciado el tratamiento, en todo momento su efecto es comparable al diclofenaco 75mg. El porcentaje de Inhibición oscila entre 41 y 51% a lo largo de las 6 horas de tratamiento.

## **5.2. Recomendaciones.**

Se recomienda incentivar a la comunidad estudiantil realizar investigaciones sucesivas para alcanzar mayor información sobre la especie la cual conlleve a consolidar resultados más precisos.

Se recomienda realizar los ensayos con la cantidad exacta de reactivos para disminuir los márgenes de error o alteración en los resultados, con la finalidad de obtener la concentración correcta para la posterior elaboración de alguna fórmula farmacéutica a base de la especie vegetal estudiada.



## REFERENCIAS

1. Muñoz A. Filosofía del Riñon y vías urinarias. [Online].; 2015 [cited 2018 mayo 15. Available from: <http://www.cepvi.com/index.php/medicina/fisiologia/fisiologia-del-rinon-y-vias-urinarias?limitstart=0>.
2. Villena C, et al. En su Investigación Efecto Antiinflamatorio del Extracto Hidroalcoholico de Oenothera Rosea (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda..
3. Puelles G, et al. Las Plantas Medicinales en el Perú: Etnobotánica y viabilidad comercial. 1st ed. Madrid, La Catarata; 2010.
4. Huari E. En su tesis Titulada Efecto Antiinflamatorio y cicatrizante de la crema farmacéutica a base del extracto etanólico de las hojas de Oenothera rosea A. (chupasangre).
5. De la Cruz H, et al. Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. Journal of Ethnopharmacology. 2007.
6. Tanigushi S, et al Tannin Production in Oenothera rosea tetrápteras Shoot Tissue Culture, Plant Biotechnology. ; 2002.
7. Ormeño J, Calahuala. Epilobium y Enotera Rosada Malezas de frutales que no son; 2006.
8. Soria R. Estudio Farmacobotánico de Oenothera multicaulis R&P. Tesis para optar el grado académico de Magister en Recursos Vegetales y Terapéuticos. Lima: UNMSM; 1998.
9. Mantilla J. Manejo racional de plantas medicinales y aromáticas en terrenos marginales de la comunidad campesina de Viacha. Proyecto de IEPLAM. valle sagrado de los incas:, anexo Tuksan Grande; 2002.
10. Agapito F. Fitomedicina 1100 plantas medicinales. Tomo I ed. Lima: Editorial Isabel; 2003.
11. Huether S. Understanding Pathophysiology. 5th ed. San Louis: Ed Mosby; 2013.
12. Underwood J. General and Systematic Pathology. 5th ed. London: Churchill Livingstone; 2011.
13. Churchill J. Inflammation Fundamental Immunology New York: Raven Press; 2002.

14. Kukliski C. Farmacognosia: Estudios de drogas y sustancias medicamentosas de origen natural Barcelona: Omega; 2009.
15. Kukliski C. Farmacognosia: Estudios de drogas y sustancias medicamentosas de origen natural Barcelona; 2009.
16. Brunenton J. Farmacognosia, plantas medicinales. 2nd ed. Zaragoza: Ascribia SA; 2001.
17. Robak J, Gryglewski R. Bioactivity of flavonoids. Pol J Pharmacol 18 , editor.; 1996.
18. Kim H, Chang H, Kang S. Anti-inflammatory plant flavonoids and celular action mechanisms. J Pharmacol Sci; 2009.
19. Dominguez X. Métodos de Investigación Fitoquímica Mexico DF: Limusa; 2009.
20. Foyer C, et al. The presence of glutathione and glutathione reductase: a proposed role in ascorbic acid metabolism Plants London; 1999.
21. Mc Ever R. Selectin-carbohydrate interactions during inflammation and metástasis. Glycoconjugate Journal. 1997.
22. Guzmán G, et al Platelet function beyond haemostasis: Role in respiratory diseases Mex: Rev. Inst. Nal. Enf. Resp; 2005.
23. Wagner D, et al . las plaquetas en la inflamación y trombosis. Arteriosclerosis, Trombosis y Biología Vascular ; 2008.
24. Diegelmann R, et al an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Frontiers in Bioscience ; 2004.
25. Summers B, et al . Facial cutaneous reconstructive surgery: general aesthetic principles, J Am Acad Dermatol ; 1999.
26. Ferreyra R. Flora del Perú Dicotiledóneas Lima: EDIMMSA; 1996.
27. Soria R. Estudio farmacobotánico de *Oenothera rosea* L Her. Ex Ait. Tesis de aptitud profesional para optar el título de químico farmacéutico. Lima: UNMSM; 1999.
28. Flora Ibérica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares Madrid Real jardín botánico; 2017.
29. Warren L. Systematics of *Oenothera* sections *contortae*, *eremia* and *rovenia* (*Onagracea*): American Societ of Plant taxonomists; 2008.
30. M J, A I, J AJ&S. Macroevolution of plant defenses against herbivores in the evening primroses Phytol N, editor.; 2014.

31. IM R, Brostoff , DK M. Inmunología. 2nd ed. Barcelona: Salvat; 1992.
32. V K, A A, N F, Robbins MR&. Patología Humana. 8th ed. Madrid: Elsevier; 2015.
33. RC B. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation: Crit Care Med; 1996.
34. DL G, A M, C LM&S. Respuesta inflamatoria sistémica: fisiopatología y mediadores: Med. Intensiva; 2000.
35. P D, P B, A GM&FH. The role of the arachidonic acid products in pain and inflammation: Ann. Rev. Inmunol; 1984.
36. K L. The role of selectins in inflammation and disease: Trends in Molecular Medicine; 2003.
37. T T, A SD&C. The selectins: vascular adhesion molecules: The Faseb Journal; 1995.
38. K L. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment in the inflammatory Process: Cardiovascular Research; 1996.
39. C P, I TC&DV. Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics. Journal of the American Academy of Dermatology. 2014.
40. J T, G G, B H, R CC&B. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling: Nat Rev Mol Cell Biol; 2002.
41. Epibolin SK. A protein of human plasma that supports epithelial cell movement: Proc Natl Acad Sci USA; 1991.
42. Epibolin SK&. A protein of human plasma that supports epithelial cell movement USA: Proc Natl Acad Sci USA; 1991.
43. WH KR&E. The wound healing process: Dermatologic Clinics; 2003.
44. M D. Traumatología de Urgencias: traumatismos musculares Madrid: Medical & Marketing Communications; 2007.
45. F T. Tratado de Farmacia Galénica. 1st ed. Madrid: Editorial Limusa S.A.; 1993.
46. L B, R K, B W, al. WA&e. Topical drug classification. International Journal of Pharmaceutics. 2005.
47. USP 37. NF 32. The United States Pharmacopeial: Rockville, United States Pharmacopeia Convention; 2007.

48. M A. Farmacia: la ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. 2nd ed. Madrid: Elsevier; 2004.
49. C P. Aspectos prácticos de la farmacotecnia en un servicio de farmacia: situación actual Madrid: Master Line & Prodigio S.L.; 2011.
50. M MM&G. Formulación Magistral. 1st ed. Madrid: Paraninfo; 2014.
51. Lock O. Investigación Fitoquímica. Método en el Estudio de Productos Naturales. 1st ed. Perú: Edit. Fondo UPCP; 2016.
52. RC R, C SP&R. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 7th ed. London: Pharmaceutical press; 2012.
53. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la realización de ensayos clínicos en el Perú. Lima: Ministerio de Salud, Centro de Información y Documentación y Documentación Científicas del INS; 2012.
54. Instituto Nacional de Salud. Reglamento de ensayos clínicos. Lima: Ministerio de Salud, Centro de Información y Documentación y Documentación Científicas del INS; 2010.

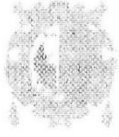


## ANEXOS

### Anexo 01 Matriz de Operacionalización de variables



Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores
Independiente: Extracto Hidroalcoholico de Oenothera rosea A. (Chupasangre)	Producto de la maceración en alcohol 70% por 7 días, concentrado en estufa hasta eliminación del solvente, conservado y almacenado en envase de vidrio color ámbar cerrado.  Administrado según la concentración y el peso.	Maceración en alcohol 70% por 7 días, concentrado en estufa a 40°C en material de vidrio.	Dosis del extracto administrado
Dependiente:  Efecto Antinflamatorio	Acción de inducir a la Inflamación con Concentraciones diferentes de NaCl luego se administra el Extracto Hidroalcohólico de Oenothera rosea A. (Chupasangre) 10,25 y 50 %	Evaluación del Extracto Hidroalcohólico de Oenothera rosea A. (Chupasangre)	Volumen de Liquido luego de introducir la pata de Rata:

## Anexo 02 Constancia

Anexo 03 Constancia

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b></p> <p>"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"</p>	
<p><b>CONSTANCIA N° 105-USM- 2018</b></p>		
<p>JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>		
<p>una muestra vegetal (tallo con hojas) recibida de <b>Roberto Carlos TACO RODRIGUEZ</b> de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como: <i>Oenothera rosea</i> L'Heritier ex Aiton y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1983).</p>		
<p><b>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</b></p>		
<p><b>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</b></p>		
<p><b>SUB CLASE: ROSIDAE</b></p>		
<p><b>ORDEN: MYRTALES</b></p>		
<p><b>FAMILIA: ONAGRACEAE</b></p>		
<p><b>GENERO: <i>Oenothera</i></b></p>		
<p><b>ESPECIE: <i>Oenothera rosea</i> L'Heritier ex Aiton</b></p>		
<p>nombre vulgar: "Chapasangre" determinado por Sr. Mario Benavente Palacios,</p>		
<p>se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudio.</p>		
<p>Lima, 19 de marzo del 2018</p>		
<p> <b>Dra. Haydee Montoya Terreros</b> JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)</p>		

Anexo 03 Certificado Sanitario

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO
<b>CERTIFICADO SANITARIO Nº</b> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">202-2018</span>	
Producto : Rata Albina	Lote Nº : R-07-2018
Especie : <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad : 30
Cepa : Holtzman	Edad : 2.5 meses
Peso : 200-250 g.	Sexo : macho
G.R. : 036139	Destino : Universidad Inca Garcilaso de la Vega.
Lima : 20-07-2018	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, <b>Arturo Rosales Fernández</b>, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p>	
Chorrillos, 20 de julio del 2018 (Fecha de atención y emisión del certificado)	
<p><b>NOTA :</b> El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos ingresan del mismo.</p>	 M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586



Anexo 04 Fotos



Plantaciones de Chupa sangre en la localidad de Huayucachi Provincia de Huancayo

Fuente: Los investigadores



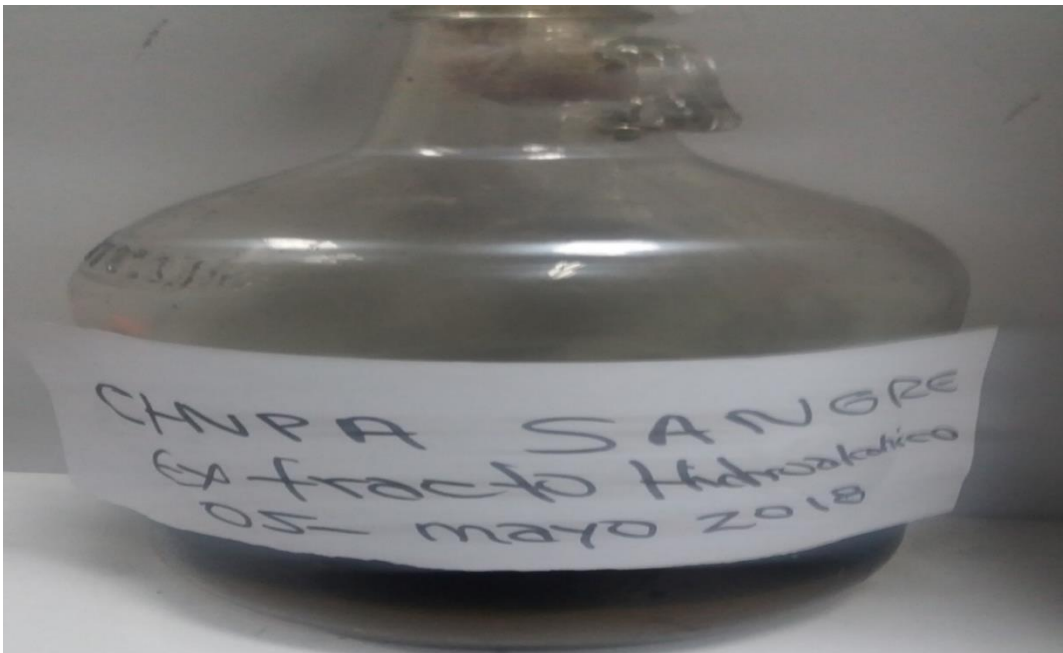
Sacado de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores



Museo botánico de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (análisis botánico de la especie *Oenothera rosea* A. /Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores



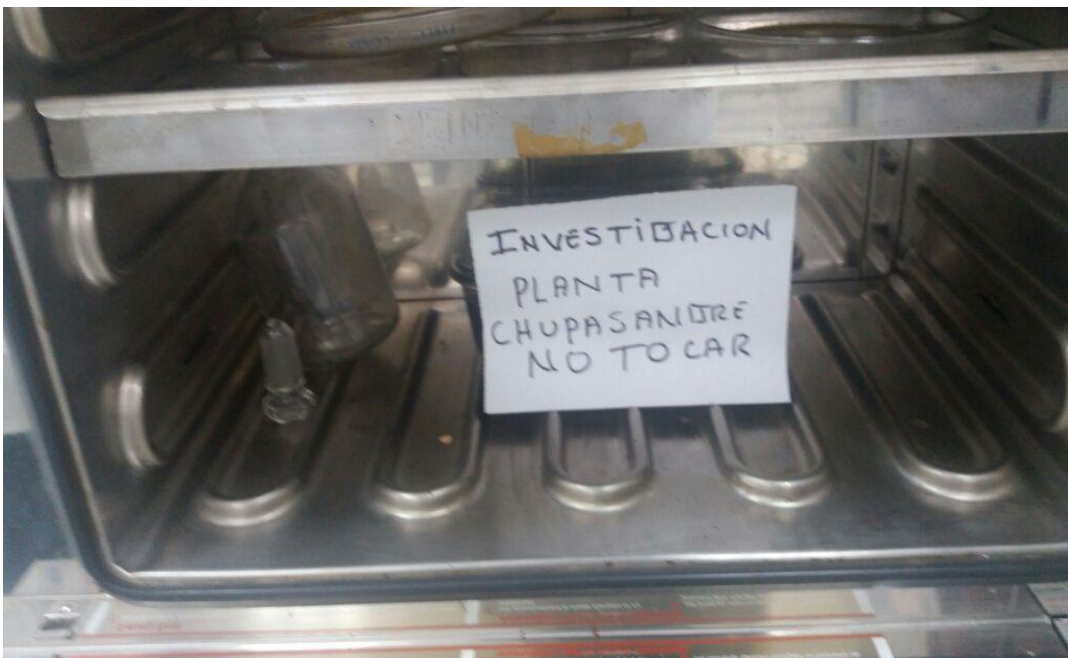
Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en Proceso de maceración

Fuente: Los Investigadores



Secado del Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) en estufa

Fuente: Los Investigadores.



Estufa en proceso de secado de Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores.



Retiro de la Estufa el Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores.



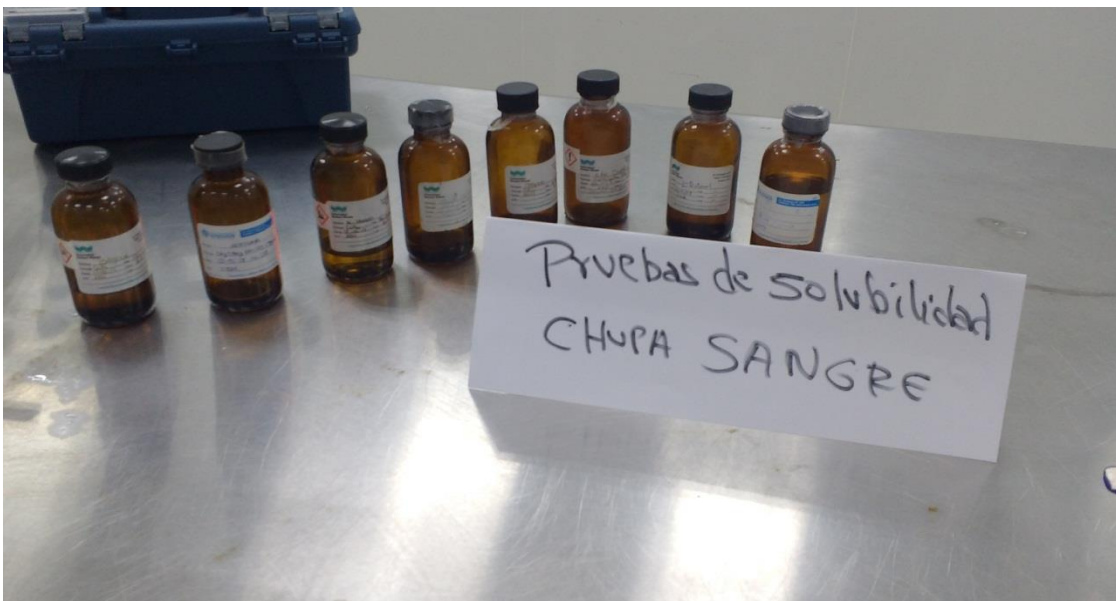
Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) totalmente Evaporado

Fuente: Los Investigadores.



Realizando los procesos de Pruebas de solubilidad del Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores



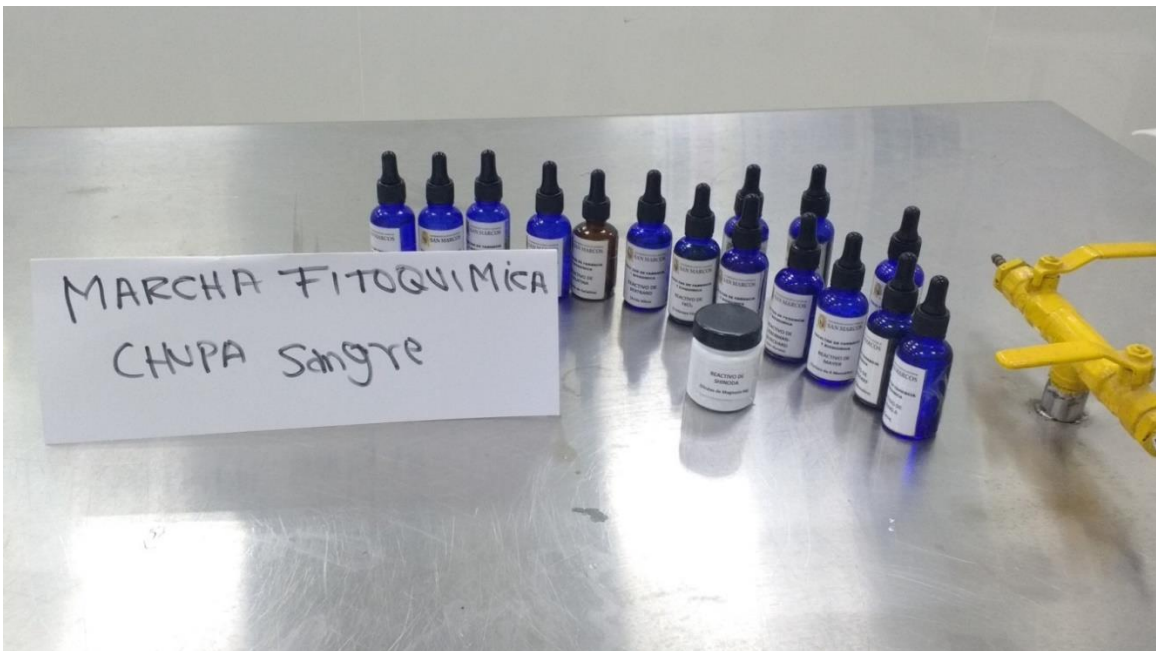
Reactivos para las Pruebas de Solubilidad del Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores



Resultado de Pruebas de Solubilidad del Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores



Reactivos para Marcha Fitoquímica para el extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores



Preparación de Muestras para Realizar marcha Fitoquímica de Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores.



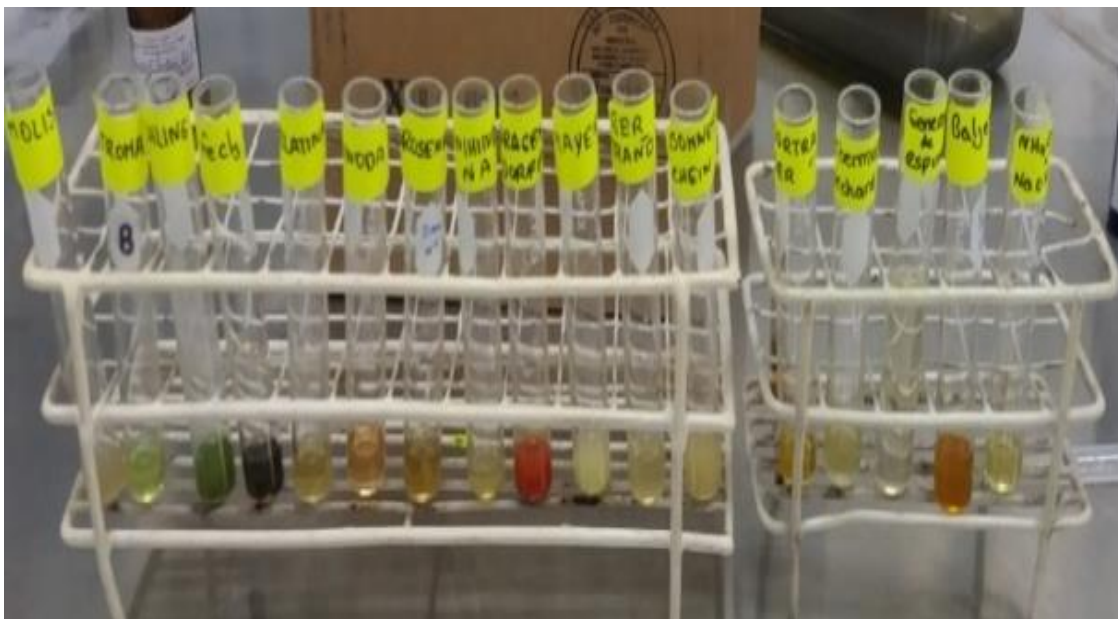
En proceso la Marcha Fitoquímica del Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores.



Observando Resultado de la Marcha Fitoquímica de Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores



Resultado de Marcha Fitoquímica de Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores





Compra de las Ratas para el Ensayo de la Investigación Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores



Recepcionando las Ratas Albinas (Holtzman) en el Instituto Nacional de Salud Chorrillos

Fuente: Los Investigadores.



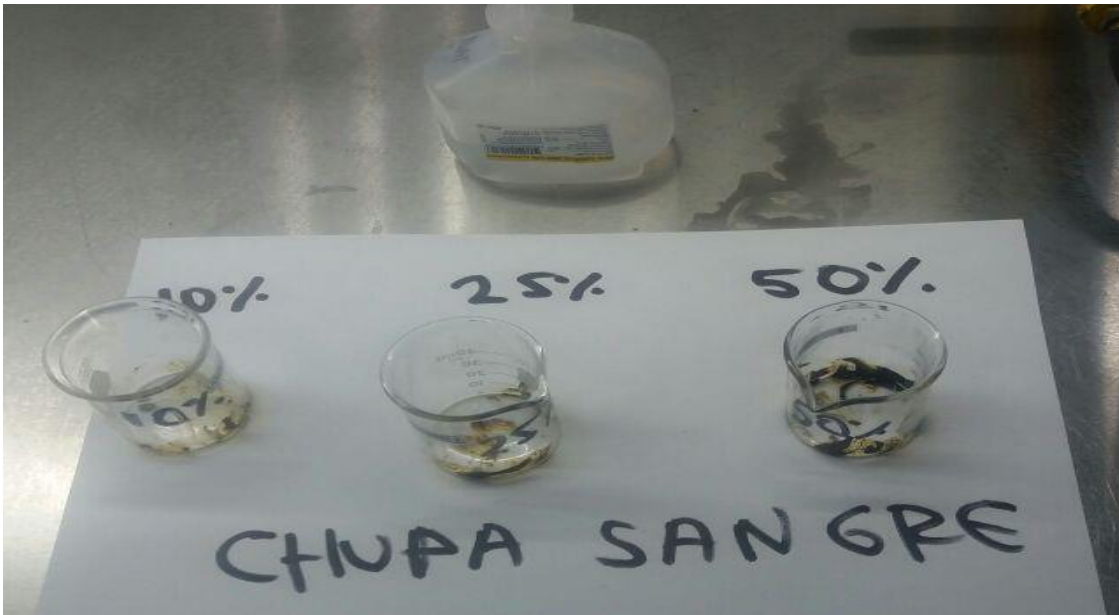
Aclimatación de las Ratas Albinas (Holtzman) antes de su Ensayo.

Fuente: Los Investigadores.



Preparación de las soluciones del Extracto Hidroalcohólico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre) para su administración en Ratas Albinas (Holtzman)

Fuente: Los Investigadores.



Porcentajes preparadas para su Administración del Hidroalcoholico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores



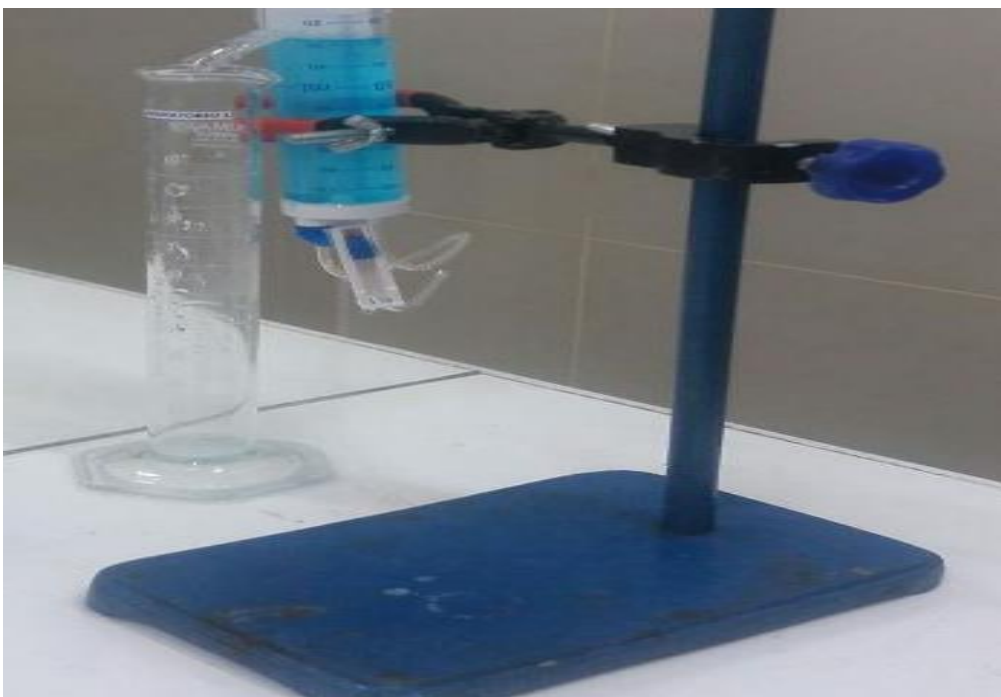
Preparación de Materiales y Soluciones Instrumentación antes de proceder la Inducción a la Inflamación

Fuente: Los Investigadores.



Proceso de pesaje de las Ratas Albinas (Holzman) para su Procedimiento de la Investigación

Fuente: Los Investigadores.



Pletismometro artesanal fabricado por los Investigadores

Fuente: Los Investigadores.



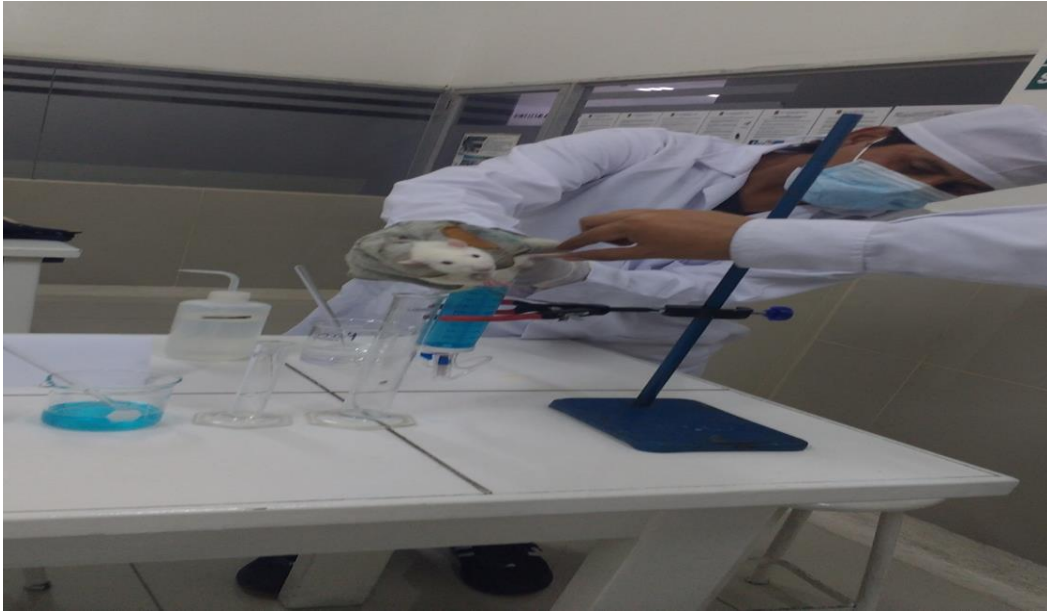
Preparación de Soluciones de Cloruro de Sodio en Distintas concentraciones para inyectar e Inducir la Inflamación

Fuente: Los Investigadores



Proceso de Inducción a la Inflamación en las Ratas Albinas (Holtzman)

Fuente: Los Investigadores



Iniciando el Proceso de Medición por Volumen perdidas en el pletismometro

Fuente: Los Investigadores



Inyectando a las Ratas Albinas (Holzman) la Solución del Extracto Hidroalcoholico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: Los Investigadores.



Luego del Tratamiento con el Extracto Hidroalcoholico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: los Investigadores



En proceso de Medición de Volumen de Liquido después del Tratamiento con el Extracto Hidroalcoholico de *Oenothera rosea* A. (Chupasangre)

Fuente: los Investigadores

Anexo 05 Validación de instrumentos



VALIDACION DE INSTRUMENTOS

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DE INSTRUMENTOS

FICHA DE OBSERVACION ADHOC DE RECOLECCION DE DATOS

EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DEL CHUPASANGRE ( Oenothera Rosea A.) EN RATAS ALBINAS ( holtzman

Después de revisado el instrumento es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

Form with 6 questions regarding instrument validity and response options (MENOS DE: 50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100). Includes handwritten responses for each question.

SUGERENCIAS:

Three questions for suggestions regarding items to be added, removed, or reformulated, with handwritten answers.

Fecha 15 - Agosto 2018

Validado por: Q.F. OSCAR FLORES LOPEZ

Firma:

Handwritten signature and official stamp of Oscar Flores López, Químico Farmacéutico, C.Q.F.P. 19190.





**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA**

**EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS  
 HOJAS DEL CHUPASANGRE ( *Oenothera rosea A.*) EN RATAS ALBINAS (   
 holtzman**

<b>Prueba de solubilidad</b>	
Solventes	Resultado
etanol	
cloroformo	
Éter de petróleo	
Etanol	
Metanol	
Agua destilada	
ciclohexano	

- (-) La solubilidad no se visualiza
- (+) La solubilidad en menor grado
- (++) La solubilidad es moderada
- (+++) La solubilidad es mayor

<b>Marcha fitoquímica</b>		
<b>Metabolitos Secundarios</b>	<b>Reactivo De Identificación</b>	
Alcaloides	Mayer	
	Wagner	
	Dragendorff	
	Scheibler	
	Sonneschein	
	Reineckato	
Compuestos Fenólicos y Flavonoides	Shinoda	
	Cloruro férrico	
	Gelatina al 1%	
	Bortranger	
Aminoácidos	Ninhidrina	
Camarinas	Hidróxido de Sodio al 1%	
Antraquinonas	Reacción de Bortranger	

<b>Metabolitos Primarios</b>	<b>Reactivo de Identificación</b>	
Glúcidos	Fehling A y B	
Almidón	Lugol	
Cetonas	2,4 DNPH	

- (-) La coloración o precipitado no se evidencia
- (+) La coloración o precipitado se evidencia poco
- (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente
- (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

#### **TOXICIDAD AGUDA ORAL**

<b>Dosis (mg/Kg rata)</b>	<b>Mortalidad Machos Muertos/Total</b>

**Tabla 4.** Registro de Efecto Antiinflamatorio

VOLUMEN DE PERDIDAS DE LIQUIDOS POR INTRODUCCION DE LAS PATAS DE RATA INDUCIDAS									
N	RATA	PESO	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS	4 HORAS	5 HORAS	6 HORAS	PROMEDIO
1									
2									
3									
4									
5									

**RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIO**

Grupo	Efectividad antiinflamatoria (mg/dL)				
	Basal	Inducción	1Hora	2Horas	3Horas
G1 (Control negativo)					
G2 (Control positivo)					
G3 (Dosis 100 mg/kg)					
G4 (Dosis 250 mg/kg)					
G5 (Dosis 400 mg/kg)					
G6 Diclofenaco 70mg/kg)					

Fecha 15- Agosto 2018

Validado por: Q.F. OSCAR FLORES LÓPEZ

Firma:

  
**OSCAR B. FLORES LÓPEZ**  
 QUIMICO FARMACEUTICO  
 C.Q.F.P. 19190