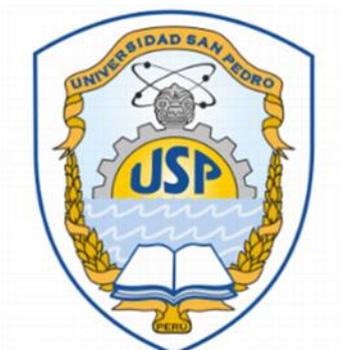


UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



Efecto Antiinflamatorio del extracto etanólico de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta) sobre el edema auricular agudo inducido por xilol en ratones.

Tesis para optar al grado de Químico Farmacéutico

Autor:

Br. Flores Serrano Liliana Lissette

Br. Rodriguez Cruz Anali

Asesor:

Mg. César Braulio Cineros Hilario

NVO. CHIMBOTE – PERÚ

2019

i.- Palabras clave

Tema	Antiinflamatorio, Chuquiraga spinosa (Huamanpinta), edema.
Especialidad	Farmacia y Bioquímica

Keywords

Subject	Antiinflammatory, Chuquiraga spinosa (Huamanpinta), edema.
Speciality	Pharmacy and Biochemistry

Línea de Investigación	Recursos Naturales Terapéuticos y Fitoquímica
Área	Ciencias médicas y de salud.
Subarea	Medicina básica.
Disciplina	Farmacología y Farmacia

ii.- Título

Efecto Antiinflamatorio del extracto etanólico de *Chuquiraga spinosa* (*Huamanpinta*) sobre el edema auricular agudo inducido por xilol en ratones.

iii.- Resumen

El presente trabajo tuvo como finalidad determinar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta) sobre la inflamación inducida con xilol en el lóbulo auricular en ratones. El diseño fue un estudio preclínico, desarrollado en la Escuela de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Medicina Humana. Universidad San Pedro, Chimbote, Perú. Se utilizaron 30 ratones machos cepa Balb/c de 25 ± 5 g de peso corporal y extracto etanólico de huamanpinta. La muestra vegetal fue recolectada en el caserío de San José, distrito de San Pedro de Casta, de la Provincia de Huarochiri del departamento de Lima. La actividad antiinflamatoria fue evaluado utilizando el test de edema auricular y pruebas bioquímicas, se utilizaron 30 ratones divididos aleatoriamente en 5 grupos de 6 ratones cada una, donde el 1° fue control recibiendo SSF 10 mL/kg, 2° dexametasona 4 mg/kg y 3°, 4° Y 5° recibieron 100, 200 y 400 mg/kg extracto de huamanpinta respectivamente, todos los especímenes recibieron 20 µg de xilol por vía tópica en el lóbulo auricular. Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS, se evaluó la estadística descriptiva y el análisis de varianza considerando para cada caso una $p < 0,05$. Los resultados evidenciaron un mayor eficacia antiinflamatorio con el extracto a dosis del 400 mg/kg y con un porcentaje de inhibición del 33.82%. Concluyéndose que el extracto etanólico de hojas de *Chuquiraga spinosa* en condiciones experimentales presentan efecto antiinflamatorio en ratones.

Palabras clave: antiinflamatorio, *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta), edema.

iv. - Abstract

The purpose of this study was to determine the antiinflammatory effect of the ethanolic extract of *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta) on the inflammation induced with xylol in the auricular lobe in mice. The design was a preclinical study, developed in the School of Pharmacy and Biochemistry, Faculty of Human Medicine. San Pedro University, Chimbote, Peru. 30 male Balb / c strain mice of 25 ± 5 g of body weight and ethanolic extract of huamanpinta were used. The vegetal sample was collected in the village of San José, district of San Pedro de Casta, of the Province of Huarochiri of the department of Lima. The anti-inflammatory activity was evaluated using the atrial edema test and biochemical tests, 30 mice were randomly divided into 5 groups of 6 mice each, where the 1st was control receiving SSF 10 mL / kg, 2 ° dexamethasone 4 mg / kg and 3 °, 4 ° and 5 ° received 100, 200 and 400 mg / kg extract of the huamanpinta respectively, all the specimens received 20 µg of xylol topically in the ear lobe. For the statistical analysis, the SPSS statistical program was used, descriptive statistics and analysis of variance were evaluated considering $p < 0.05$ for each case. The results showed a greater anti-inflammatory efficacy with the extract at a dose of 400 mg / kg and with a percentage of inhibition of 33.82%. It was concluded that the ethanolic extract of *Chuquiraga spinosa* leaves under experimental conditions have an anti-inflammatory effect in mice.

Key words: anti-inflammatory, *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta), edema.

Índice

	Pág
Palabras clave- Línea de investigación	i
Título de la investigación	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
Índice	v
Introducción	1
Antecedentes y fundamentación científica	1
Justificación de la investigación	4
Problema	5
Marco Referencial	6
Hipótesis	15
Objetivos	15
Metodología	16
Tipo y Diseño de investigación	16
Población – Muestra	16
Técnicas e instrumentos de investigación	16
Resultados	20
Análisis y Discusión	25
Conclusiones	29
Recomendaciones	30
Referencias Bibliográficas	31
Anexos	38

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes y fundamentación científica

La inflamación involucra una serie de respuestas, como reparadoras, protectoras frente a injurias tisulares, producidas por infecciones, procesos inmunológicos o injurias traumáticas directas. Los compuestos fenólicos y los flavonoides, tienen una gran capacidad antioxidante (Haysteen, 1983). Por lo expuesto, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo y tienen efectos terapéuticos frente a la inflamación (Pace-Asciak, 1995). Los vegetales contienen compuestos fenólicos y flavónicos, los cuales son pigmentos naturales y que protegen al organismo humano del daño producido por agentes oxidantes; están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana (Aherne, 2002).

La salud humana es de gran importancia para el desarrollo y el progreso de un país. Se ha utilizado preparaciones o medicamentos herbarios desde épocas antiguas, en muchas partes del mundo, incluyendo la India. En años recientes, su uso como alternativa popular a la medicina moderna ha aumentado considerablemente en países desarrollados (Corns, 2003; Barnes, 2003; Rousseaux, 2003).

La inflamación constituye la primera línea de defensa activa y natural del organismo, a partir de la penetración de un elemento extraño (Smyth, 2006). Este proceso de defensa natural lleva un flujo de sangre incrementando en el área afectada, produciéndose una acumulación de líquidos. A medida que el cuerpo acumula esta respuesta protectora, los síntomas de la inflamación se desarrollan; los cuales incluyen: hinchazón, dolor, aumento de calor y enrojecimiento de la piel (Smyth, 2006, Zalles, 1991). Las drogas antiinflamatorias de naturaleza no esterooidal, como la indometacina, inhiben la actividad de la enzima hialuronidasa, esta enzima es conocida por estar involucrada en procesos inflamatorios y de permeabilidad vascular (Lee, 1993).

En el Perú la medicina tradicional, sus prácticas y agentes, constituyen un importante sector de atención informal de salud en el país. No sólo cubren eficazmente con bajo costo y efectividad la atención de salud de la población en zonas donde no llegan los servicios oficiales del estado, cuya cobertura a nivel nacional alcanza a un 60% de la población del país ,sino que además se constituyen en eficientes recipientes y transmisores agentes psicosociales comunitarios aportando decididamente al fortalecimiento de la identidad local y regional, la cohesión grupal y el orden social y moral de la comunidad.(Pereyra de Priby 2009).

Teniendo en cuenta la composición fitoquímica de las *Chuquiraga spinosa*, ricas en alcaloides fijos, glucósidos, glucoresinas, flavonoides y taninos; además de carbohidratos, y metales, particularmente hierro. La presencia de glucósidos entre los metabolitos de la *Chuquiraga spinosa*, son los responsables de la acción antifebrífuga, antiséptica y antiinflamatoria, y se valoró la posibilidad de utilizar la propiedad hepatoprotectora de estas plantas, autóctona de Perú (Guevara – Espinoza, 2004).

De acuerdo a lo anterior expuesto se propuso determinar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *Chuquiraga spinosa* (Huamanpinta), sobre el edema auricular agudo inducido por xilol en ratones.

1.2. Justificación de la investigación

Los extractos vegetales han demostrado poseer efectos terapéuticos gracias a los múltiples metabolitos que contienen, de los cuales los flavonoides constituyen una de las subfamilias de polifenoles naturales a las que la comunidad científica ha dedicado más atención en los últimos años. Sus múltiples propiedades biológicas observadas experimentalmente y su abundancia en la dieta, junto con su presencia en numerosos remedios de la medicina tradicional, los convierten en posibles candidatos a explicar la asociación encontrada entre el consumo de determinados productos de origen vegetal y la prevención de diversas enfermedades inflamatorias, microbianas, alérgicas, cardiovasculares, cancerígenas, neurológicas entre otras. (Gonzales, 1998; Manthey, 1998). Existen estudios epidemiológicos que sostienen que el consumo de fruta fresca y vegetales (fuentes importantes de flavonoides) tiene un efecto protector contra el cáncer, la enfermedad cardíaca, la enfermedad coronaria y la apoplejía, así como un efecto positivo para la salud en general y un aumento de la resistencia frente a diversas enfermedades crónicas (Carhuapoma y López, 2008; García, 2000; Kukoski, 2004).

Los flavonoides comprenden un amplio grupo de compuestos fenólicos que aparecen de forma espontánea en casi todas las plantas superiores, poseen un origen biosintético común y, por ese motivo, posee un mismo elemento estructural básico con diferentes grados de oxidación, dando lugar a los distintos tipos de flavonoides hoy conocidos, como: flavonas, flavonoles,

flavanonas, flavanoles, isoflavonas, neoflavonas, catequinas, antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, diflavonas, entre otras (Lock de Ugaz, 1994).

Los flavonoides compuestos que, además de estar dotados de una baja toxicidad, presentan unas características idóneas para ser considerados como compuestos antiinflamatorios y cicatrizantes, entre ellas: Inhiben distintas enzimas cuya expresión y/o actividad se encuentran incrementadas en los procesos inflamatorios (Manthey, 2001; Middleton, 2000) y son compuestos que presentan propiedades antioxidantes (Asad, 2006).

1.3. Problema

Por todas estas razones nos planteamos el problema si: ¿El extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta), tendrá efecto antiinflamatorio al administrarlo por vía oral en ratones con inducción de edema auricular agudo por xilol?

1.4. Marco Referencial

La inflamación

La inflamación es una reacción local del tejido vascularizado frente a un agente injuriente que provoca daño tisular. Los componentes que participan en la respuesta inflamatoria son la microcirculación, las células sanguíneas, el plasma y células del tejido conectivo. Su función es localizar, eliminar o aislar al agente injuriente y tejido dañado, permitiendo la posterior reparación por mecanismos regenerativos (Pepper, 1994).

Tipos de inflamación

Inflamación Aguda

Es una respuesta inmediata que se produce frente al agente lesivo, se caracteriza por un aumento del flujo sanguíneo, alteración de la permeabilidad de la microvasculatura y migración de leucocitos hasta el foco de lesión. La inflamación aguda consta de dos fases. La primera fase va desde el momento en que se inicia la inflamación hasta aproximadamente una hora después. Se produce una vasoconstricción momentánea y la piel de esta zona adquiere una coloración pálida, seguida de vasodilatación con un incremento del flujo sanguíneo (hiperemia) y enrojecimiento de la zona (eritema). En esta primera fase juegan un papel determinante los mastocitos que se encuentran principalmente en el tejido conectivo, rodeando a vasos sanguíneos, linfáticos y terminaciones nerviosas periféricas. Contienen gránulos basófilos donde se

almacenan histamina, serotonina y heparina entre otras sustancias, que se liberan de forma rápida por exocitosis al medio extracelular como respuesta a estímulos flogógenos ya sean nerviosos (Weidner, 2000) o químicos (Moss, 1995). La histamina interacciona con dos subtipos de receptores conocidos como H1 y H2 (Lovenberg, 1999) provoca la extravasación de líquido y proteínas plasmáticas, con formación de edema, estimula intensamente terminaciones nerviosas sensoriales provocando sensación de prurito y de dolor. A los 10 minutos de comenzar la inflamación ya se produce edema cuantificable. Este fluido extravascular, conocido como trasudado, está básicamente formado por agua y electrolitos, y es dependiente de los mediadores liberados inicialmente y de forma rápida, destacando especialmente la histamina (Al-Haboubi, 1983).

La segunda fase se inicia aproximadamente dos horas después de la acción del agente flogógeno aumentando los niveles de eicosanoides (Hinz y Brune, 2002) que son un conjunto de sustancias sintetizadas a partir del ácido araquidónico (AA) que se ingiere con la dieta y es almacenado formando parte de los fosfolípidos de la membrana celular, siendo muy pequeña la concentración de AA libre en la célula (Esplugues, 1997). La enzima responsable de la síntesis de eicosanoides es la COX, que actúa una vez que se han liberado el AA desde la membrana mediante la acción de fosfolipasa A2, oxidando el AA y transformándolo en PGG2 seguido de reducción de la misma obteniéndose un endoperóxido inestable PGH2 (Cohen y col 2003). PGH2 sirve de sustrato para la enzima PG sintasa, la cual es responsable de la producción de las 5 PGs bioactivas principales generadas *in vivo*: PGE2, PGF2 α ,

PGD₂, PGI₂ (prostaciclina) y TXA₂ (tromboxano). Las PGs son consideradas potentes mediadores proinflamatorios y los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) están indicados para bloquear su biosíntesis (Dubois, 1998).

La COX-1 es una enzima constitutiva, reguladora de procesos fisiológicos básicos, como la citoprotección gastrointestinal, la resistencia vascular periférica, el flujo sanguíneo renal, la excreción renal de sodio y renina y la agregación plaquetaria. La COX-2 actúa como constitutiva en algunos pocos tejidos y como enzima inducible en las células inflamatorias. COX-2 es una enzima constitutiva del cerebro y de la médula espinal y está relacionada con la transmisión nerviosa del dolor y de la fiebre. Esta enzima aparece rápidamente cuando es estimulada por citoquinas proinflamatorias, como la IL-1, TNF α , las endotoxinas y otros factores de la inflamación, por lo que se hace responsable a esta enzima de eventos relacionados con el proceso inflamatorio y el control del crecimiento celular, así como de la generación de sustancias sensibilizadoras al dolor (Morón, 2002). La PGE₂ tiene un número de efectos pro-inflamatorios que incluyen inducción de fiebre, aumento de la permeabilidad vascular, vasodilatación e intensifica el dolor y edema. Recientes estudios han demostrado que PGE₂ induce COX-2 en cultivo de fibroblastos y sobre regula la producción de la misma e induce producción de citoquinas inflamatorias IL-6 por macrófagos (Bagga, 2003).

Inflamación crónica

Considera una duración prolongada (semanas o meses) en la que se pueden observar simultáneamente signos de inflamación activa, de destrucción tisular y de intentos de curación (Rivera, 1997). Puede surgir como cuadro evolutivo a partir de una inflamación aguda o iniciarse como un evento insidioso y a menudo asintomático (como puede ser vista en artritis reumatoide, aterosclerosis, tuberculosis y neumopatías crónicas). Puede ser observada en infecciones persistentes producidas por ciertos microorganismos, exposición prolongada a agentes potencialmente tóxicos y autoinmunidad (artritis reumatoide y lupus eritematoso. Así como en la inflamación aguda el neutrófilo es la célula más importante y predominante, en la inflamación crónica, la figura central es el macrófago, en especial, por la gran cantidad de sustancias biológicamente activas, que puede secretar. Los macrófagos son activados mediante células T activadas y por estímulos no inmunológicos como endotoxina y otros mediadores químicos (Robbins, 2007).

Estudios indican que la resolución de la inflamación es un proceso activo controlado por mediadores endógenos, que suprimen la expresión de genes proinflamatorios y señales celulares. También inducen apoptosis de las células inflamatorias y fagocitosis, cruciales para llegar a la resolución final con éxito. Parece que los macrófagos son una fuente importantes de proteínas implicadas en la resolución de la inflamación. El control de éstas células durante el desarrollo de la inflamación aguda puede ser crucial a la hora de determinar si la lesión se resuelve o el proceso se hace crónico (Lawrence, 2002).

Los corticosteroides

Los corticoesteroides actúan inhibiendo la respuesta inflamatoria interfiriendo el metabolismo del AA que conduce a disminuir la síntesis de AA y producir una marcada reducción de las dos vías de producción de los mediadores de la inflamación; la vía de la COX y la vía de la lipooxigenasa (Sierra, 2006). Los efectos secundarios pueden dividirse en aquellos que son inmediatos, tardíos e idiosincráticos. Los inmediatos incluyen la retención de líquidos, el aumento de peso, hipertensión, alteraciones lipídicas, supresión adrenal, entre otras. Se han relacionado las dosis altas de corticoesteroides con el desarrollo de infecciones severas. Su uso durante periodos prolongados está asociado a múltiples efectos secundarios importantes como son la osteoporosis, el aumento de peso, la diabetes, la formación de cataratas, la supresión de la médula adrenal, la hipertensión y el aumento de riesgo de infecciones. Las enfermedades inflamatorias de tipo crónico constituyen un problema de salud importante debido a la falta de medicamentos eficaces y seguros para su utilización por periodos prolongados. Actualmente se dispone de AINEs no selectivos (indometacina, fenilbutazona y naproxeno), con muchas reacciones adversas, y más recientemente los AINEs selectivos de COX-2 (nimesulida, celecoxib), que erróneamente se pensó tendrían la ventaja de inhibir la inflamación con pocos efectos adversos. Sin embargo en la práctica el uso de este tipo de fármacos se ha visto limitado debido al riesgo de efectos adversos tales como: toxicidad gastrointestinal, retención de líquidos e hipertensión y enfermedad renal (Jiménez, 2003).

Los flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas, representando componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química (Spencer, 2007). Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C. En función de sus características estructurales se pueden clasificar en flavanos (catequina), flavonoles (quercetina), flavonas (diosmetina) y antocianidinas (Martínez, 2002).

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías. Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilo y superóxido, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la

cadena de peroxidación lipídica y se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides, de prevenir la agregación plaquetaria (efectos antitrombóticos) y de proteger a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación (prevención de la placa de ateroma) (Martínez, 2002).

Muchos de los medicamentos que se utilizan en la actualidad proceden de fuentes naturales. La medicina alopática utiliza universalmente 119 compuestos, con estructuras definidas, las que se han aislado a partir de cerca de 90 especies de plantas superiores (Chediwick, 1990). En el Diccionario de Productos Naturales se describen datos químico estructurales y bibliográficos para más de 100.000 productos de origen natural y sustancias relacionadas. Además, se conoce que la potencialidad de los compuestos biológicamente activos es muy elevada. Restan por investigarse más de la mitad de las especies de plantas y animales; también el mar es aún una fuente incalculable para estos propósitos (Roig, 1965).

Para este género se señalan el aislamiento de alcaloides y flavonoides como grupos químicos fundamentales, mientras que las hojas y el tronco son las partes más estudiadas de las plantas. Entre las propiedades etnomédicas se destacan fundamentalmente el uso como estimulante, para la inducción de euforia y aliviar la sensación del hambre, contra la fatiga y problemas estomacales. Desde el punto de vista biológico se han estudiado extractos de varias de las especies del género; para ello se han desarrollado ensayos para evaluar el efecto

citotóxico, la actividad antibacteriana y la actividad antiviral, entre otras (Johnson, 1997; Salama, 1994; Hattori, 1995; Lohezic, 1999; Bisset, 1988).

Chuquiraga Spinosa (Huamanpinta)

Es un arbusto perenne, verde, espinudo de 1 a 1,5 m de alto, con ramas densas hacia los extremos. Sus hojas son alternas o a veces, las superiores, opuestas, ovaladas a lanceoladas, espinosas en la punta. Sus inflorescencias se presentan en capítulos solitarios, terminales o axilares, sésiles, con el involucreo turbinado rojizo o anaranjado, de tres a cuatro cm de largo, formado por brácteas en muchas series. Las cabezuelas están compuestas por 15 a 23 flores de corola anaranjada, con los estigmas sobresaliendo notoriamente formando un mechón. Los tallos, hojas y flores se usan como cicatrizantes, sudoríficos, antiinflamatorios, diuréticos, para problemas renales y biliares, y como antisépticos de las vías urinarias y próstata (Orrego y col, 2013). El estudio del extracto etanólico y acuoso evidenció acción antioxidante y antiinflamatoria *in vivo* e *in vitro*, así como también antifúngica las que se deben a la alta concentración de compuestos fenólicos como flavonoides y derivados del ácido fenólico (Calvo et al., 2011).

La Huamanpinta es utilizada para desinflamar los riñones, próstata y vías urinarias, diurético y para la blenorragia (infusión de la planta), se utilizado como tratamiento de enfermedades hepáticas. Tonifica y activa las funciones del hígado, aumenta el flujo de bilis; es purificador de la sangre, combate la

obstrucción hepática; desinflamante de la vesícula biliar y evita la formación de arenilla, antiséptico vaginal y cicatrizante de heridas superficiales

Algunos estudios reportan que la composición química de las hojas de *Chuquiraga spinosa* contiene: “alcaloides, triterpenos, esteroides, saponinas, flavonoides, taninos, sesquiterpenolactonas, aminoácidos y resinas, además de potasio, calcio, fósforo, azufre y silicio (Torres, 2004).

Desde el punto de vista la medicina tradicional constituye una potencial alternativa que ha comenzado a tener en cuenta, por su efectividad y bajo costo; de tal sentido, que el presente trabajo busca contribuir a dar validación científica el efecto antiinflamatorio de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta) a la vez hacer de conocimiento a la población para que pueda utilizarla para tratar diferentes problemas inflamatorios. Esta planta muestra una riqueza en principios activos y una amplia actividad terapéutica.

El presente trabajo de investigación nos permitirá determinar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *Chuquiraga spinosa*, en edema auricular agudo inducido por xilol en ratones.

1.5. Hipótesis

El extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta) tiene efecto antiinflamatorio con inducción de edema auricular agudo por xilol en ratones.

1.6. Objetivos

Objetivo general:

- Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta). sobre el edema auricular agudo por xilol en ratones.

Objetivos específicos:

- Obtención de la muestra vegetal.
- Obtención del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta).
- Realizar la marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta).
- Evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta).

II. METODOLOGÍA

2.1. Tipo y diseño de la investigación

El tipo analítico-experimental, aleatorizado, completo, pre-clínico in vivo y sigue el siguiente diseño:

2.2. Población y muestra

Población:

- Ratones albinos Cepa Balb/C, adquiridos del biotério del Instituto Nacional de Salud - INS Lima-Chorrillos.
- Plantas completas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta).

Muestra:

- 30 Ratones albinos Cepa Balb/C, de peso 25 ± 5 g, adquiridos del biotério del Instituto Nacional de Salud - INS Lima - Chorrillos.
- 01 kg de hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta).

2.2.1. Técnicas e instrumentos de investigación

2.2.1.1. Colecta de la muestra vegetal de la planta, obtención del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga Spinosa* (Huamanpinta) y estudio fitoquímico.

2.2.1.1.1. Colecta de la muestra vegetal

Las plantas completas de *huamanpinta* fueron colectadas en el caserío de San José, distrito de San Pedro de Casta, de la Provincia de Huarochiri del departamento de Lima.

2.2.1.1.2. Obtención del extracto (CYTED, 1995).

Para la preparación del extracto alcohólico, las hojas de *Chuquiraga spinosa* (Huamanpinta) fueron lavadas y sometidas a deshidratación, a 40 °C en un horno con aire circulante, luego el material seco, fue triturado en un molino eléctrico de cuchillas, hasta obtener un polvo fino, y se llevó a maceración con etanol a temperatura ambiente. Luego de 7 días se filtró y dicho filtrado se desecó a 40°C en estufa hasta peso constante. El residuo seco, se denominó extracto etanólico, el cuál fue conservado en frasco de color ámbar a 4°C, luego éste residuo sirvió para realizar el estudio fitoquímico y ensayo farmacológico, previa reconstitución con agua destilada, utilizando como agente tensoactivo polisorbato de sodio 80° al 3% de la solución a preparar.

2.2.1.1.3. Estudio fitoquímico (Lock de Ugaz, 1994).

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta) se realizó en el los ambientes de laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, al cual se le practicó, las reacciones de Molisch (carbohidratos), Fehling (azúcares reductores), tricoloruro férrico (taninos), ninhidrina (compuestos aminados), shinoda (flavonoides), Dragendorff (alcaloides), Borntrager (antraquinonas), Liebermann (esteroides triterpénicos), Vainillin sulfúrico (glicósidos), Para determinar cualitativamente la presencia y cantidad de metabolitos secundarios presentes en el extracto,

se utilizó la siguiente codificación: Ausencia (-), Poca cantidad (+), Regular Cantidad (++) , Abundante cantidad (+++).

2.2.1.2. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta) (CYTEC, 1995).

Para determinar el efecto antiinflamatorio, se utilizaron 30 ratones albinos cepa Balb/c de 25 ± 5 g de peso corporal. Las cuales se obtuvieron del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Lima-Chorrillos) y fueron aclimatados 7 días antes de la experimentación, alojadas en jaulas metálicas con alimento balanceado en pellets (ratonina) y agua a libertad a temperaturas 25 ± 1 °C, ciclo luz oscuridad 12:12 y humedad relativa del 60%, luego se distribuyeron de manera aleatoria en 5 grupos de seis ratones cada grupo, se utilizará el test de edema auricular agudo inducido por xilol en ratones, que consistirá en aplicar una muestra de 20 μ L de xilol en el lóbulo auricular de los ratones, e inmediatamente se le administra los tratamientos por vía oral., transcurrido una hora se les anestesió utilizando éter y se le extrajo con el uso de un saca bocados una muestra del lóbulo de la oreja que fueron pesados, además se les extrajo una muestra de sangre por punción cardiaca para medir la concentración de proteína C reactiva y numeración y fórmula leucocitaria.

- El grupo 01 recibe xilol+ 4 mL/Kg solución salina fisiológica (SSF).
- El grupo 02 recibe xilol + Dexametasona 4 mg/Kg
- El grupo 03 recibe xilol + extracto de huamanpinta 100 mg/Kg
- El grupo 04 recibe xilol + extracto de huamanpinta 200 mg/Kg

- El grupo 05 recibe xilol + extracto de huamanpinta 400 mg/Kg

2.2.2. Procesamiento y análisis de la información.

Los datos fueron expresados mediante la estadística descriptiva utilizándose valores medios \pm error estándar (EA), límites inferior y superior a un intervalo de confianza del 95%, e inferencialmente por el análisis de varianza y de múltiples comparaciones de Duncan, los valores fueron significativos con una $p < 0,05$; para el cual se utilizó el programa estadístico SPSS.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Obtención del Porcentaje de rendimiento.

%Rendimiento= (Cantidad de extracto obtenido/ cantidad de muestra vegetal) x 100

$$\% \text{ Rendimiento} = (4\text{g} / 100 \text{ g}) \times 100 = 4\%$$

Tabla 2. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa*.

Reacción de Identificación	Metabolito Secundario	Cantidad
Molisch	Carbohidratos	++
Fehling	Azúcares reductores	++
Tricloruro férrico	Taninos	++
Ninhidrina	Compuestos aminados	++
Shinoda	Flavonoides	+++
Dragendorff	Alcaloides	+++
Bortrager	Heterósidos antraquinónicos	++
Lieberman	Esteroides triterpénicos	++
Vainillín sulfúrico	Glicósidos	++

Leyenda: (+++) = *Abundante cantidad*; (++)=*Regular cantidad o positivo*, (+)= *Poca cantidad o trazas*; (-)=*Ausencia*.

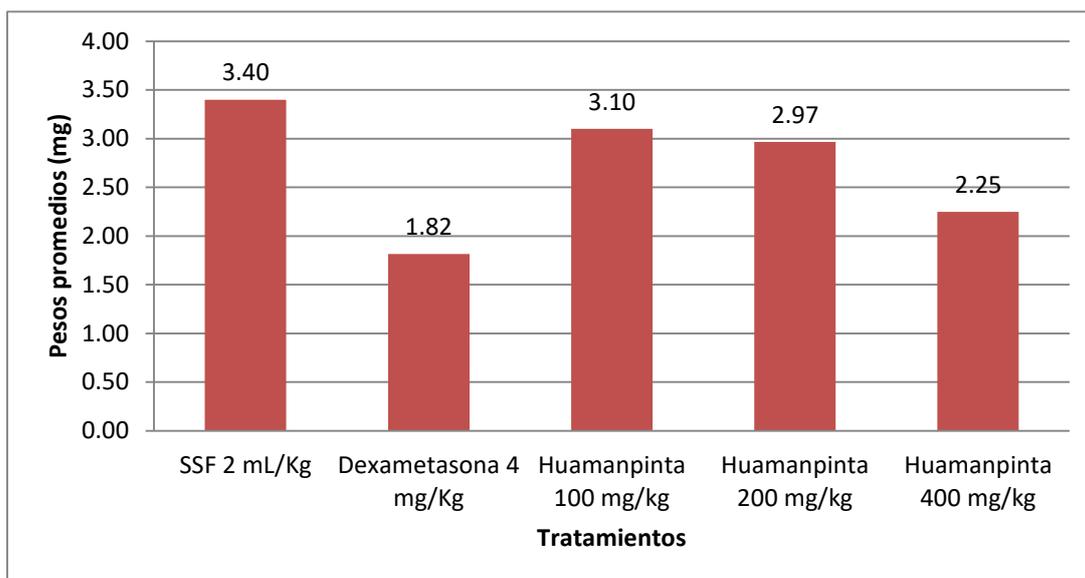


Figura 1. Valor medio de la masa de los discos auriculares al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* sobre el edema auricular inducido por xilol en ratones.

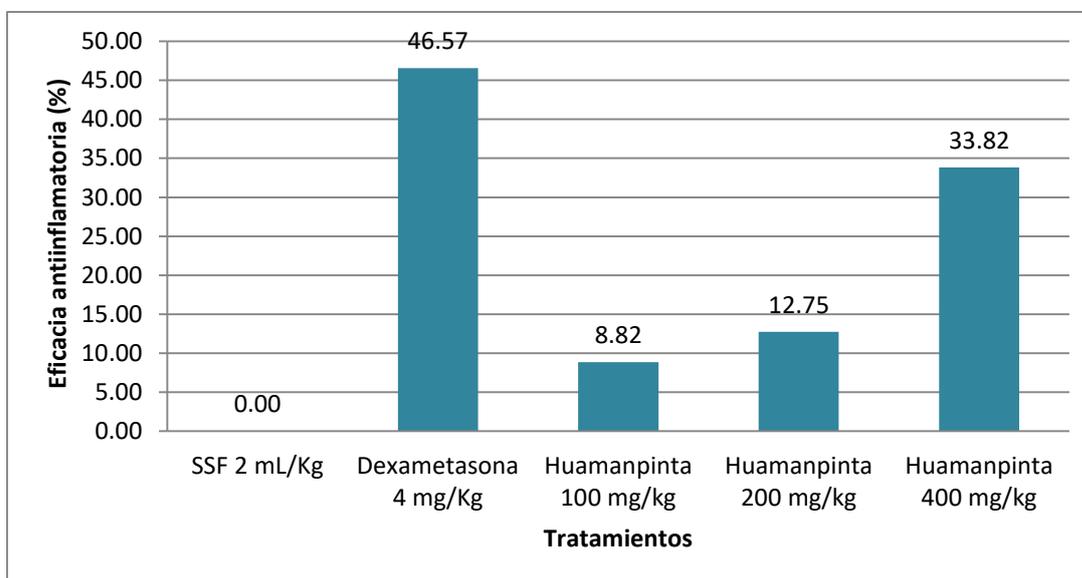


Figura 2. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* sobre el edema auricular inducido por xilol en ratones

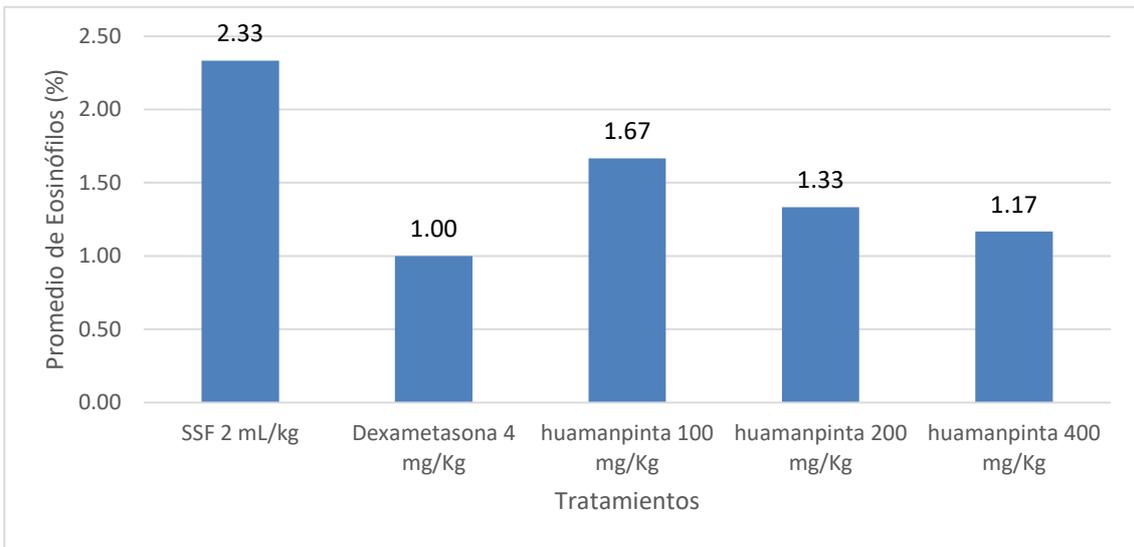


Figura 3. Valores promedios ($10^9/L$) del porcentaje de eosinófilos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* sobre el edema auricular inducido por xilol en ratones

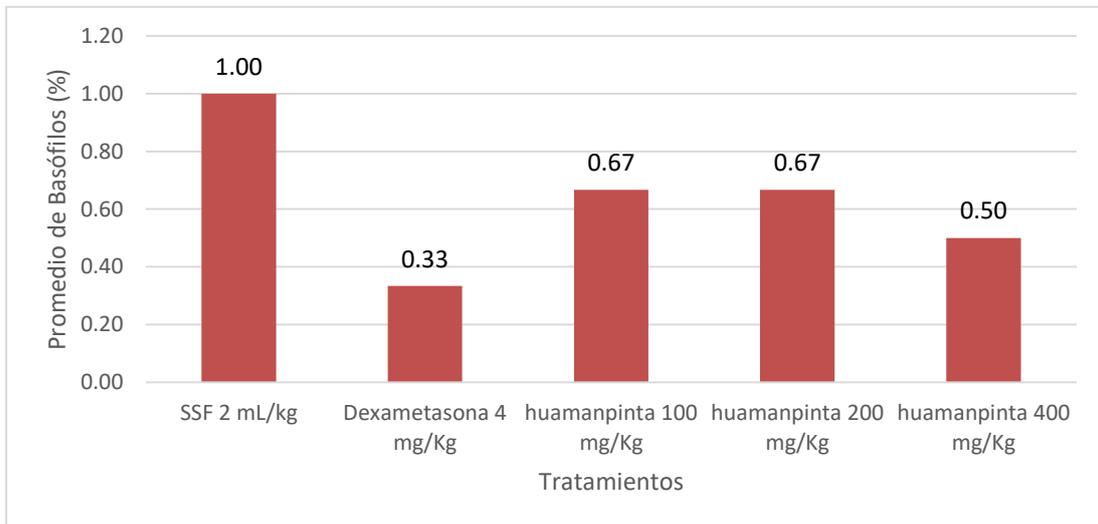


Figura 4. Valores promedios ($10^9/L$) del porcentaje de basófilos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* sobre el edema auricular inducido por xilol en ratones

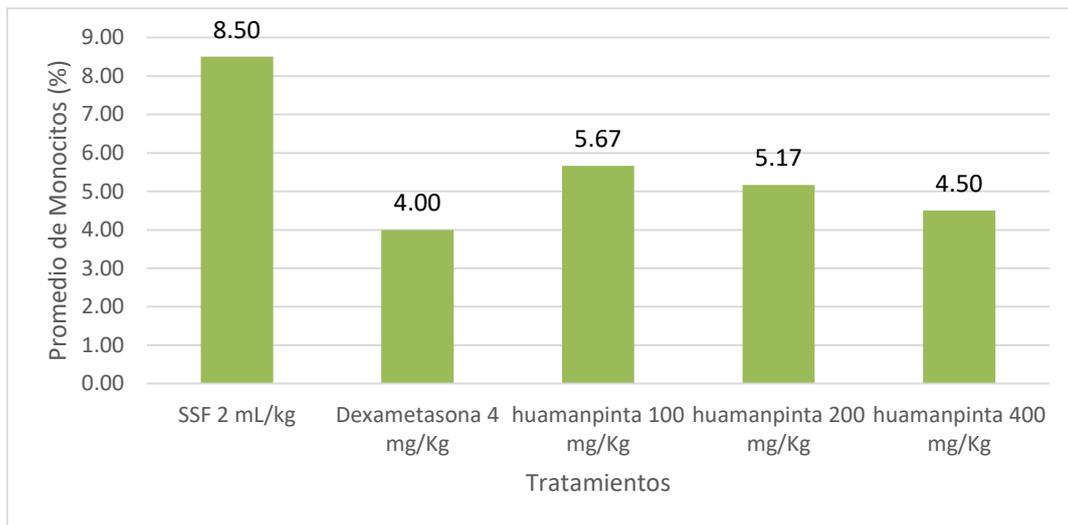


Figura 5. Valores promedios ($10^9/L$) del porcentaje de monocitos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* sobre el edema auricular inducido por xilol en ratones

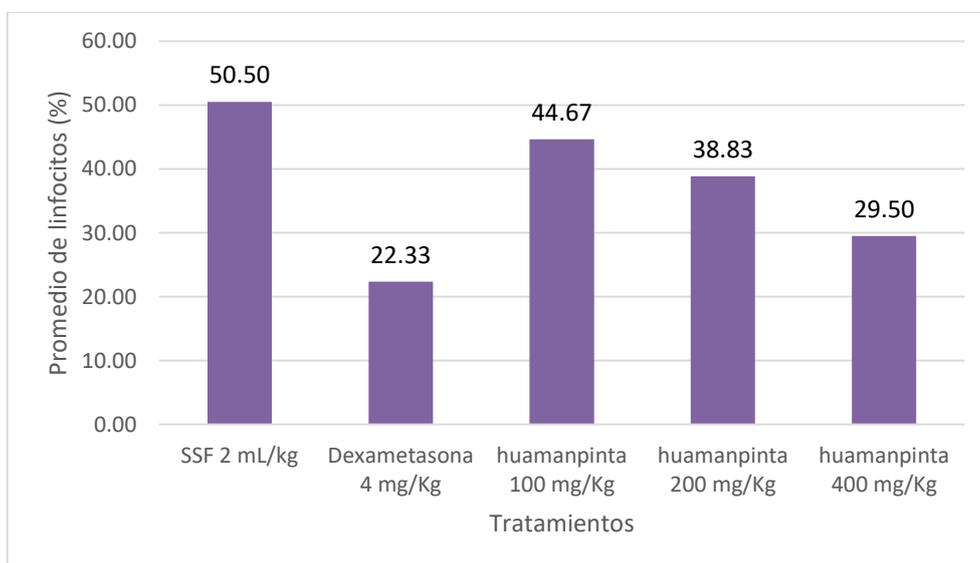


Figura 6. Valores promedios ($10^9/L$) del porcentaje de linfocitos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* sobre el edema auricular inducido por xilol en ratones

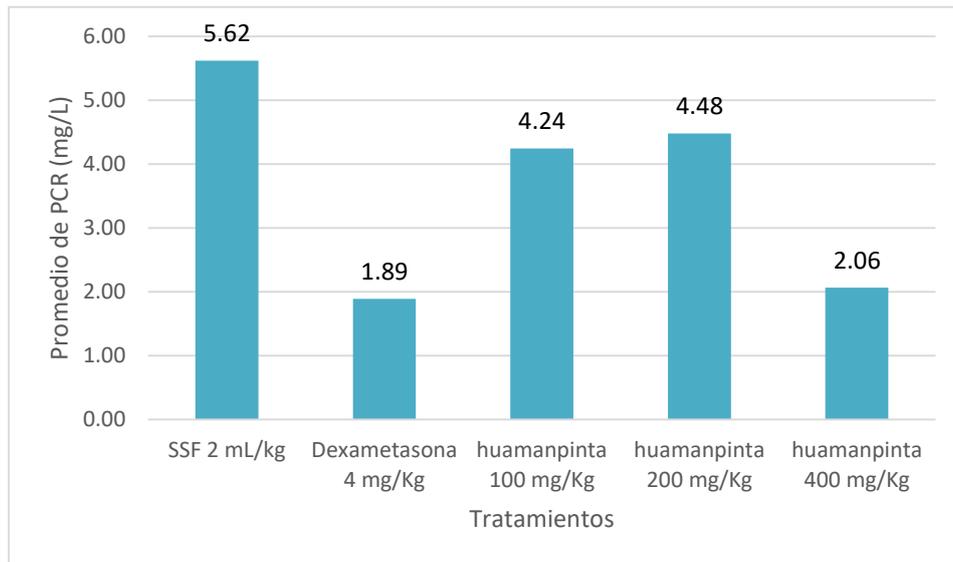


Figura 7. Valores promedios de proteína C reactiva en sangre (mg/L) al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* sobre el edema auricular inducido por xilol en ratones

IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

La búsqueda de nuevos productos con eficacia antiinflamatoria ha estado centrada en la utilización de modelos *in vitro* e *in vivo* para demostrar que son efectivos y seguros bajo condiciones normales de uso, técnicas iniciales *in vivo* deberán ser sencillas, de corta duración, realizables con una pequeña inversión económica donde los roedores son especímenes de primera elección. Actualmente los modelos *in vivo* son valiosos bioensayos, complejos y completos, para el estudio de nuevas estrategias terapéuticas entre los que cabe destacar los modelos de inflamación aguda y crónica. (Giráldez 2001).

En este trabajo se muestran los resultados del estudio como son el porcentaje de rendimiento que fue de un 4% (tabla 1), así mismo el screening fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de huamanpinta evidenció contener una gran cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides (Tabla 2). Por otro lado, los flavonoides han mostrado actividad antiinflamatoria *in vitro* e *in vivo* (Tanaka, 1994). Uno de estos mecanismos es por inhibición de eicosanoides generadores de enzimas, incluyendo fosfolipasa A2, ciclooxigenasa y lipoxigenasa, reduciendo así la presencia de prostanoïdes y leucotrienos. Además, recientes estudios muestran que los flavonoides, especialmente flavonas y sus derivados, expresan una gran actividad antiinflamatoria debido a la modulación de la expresión de genes proinflamatorios, tales como ciclooxigenasa-2, óxido nítrico sintasa inducible y varias citoquinas pivotaes (Kim, 2004; Sakata, 2003).

Al evaluar el peso de los discos auriculares en la experimentación del efecto antiinflamatorio por el método del lóbulo auricular inducido por xilol se evidencia que existe eficacia del extracto etanólico de la hojas de *Chuquiraga spinosa* a dosis de 400 mg/Kg con un 33.82 % de eficacia en comparación con la dexametasona 4 mg/kg de eficacia comprobada con un 46.57 % de inhibición de la inflamación frente al agente flogógeno xilol (Figura 2).

Al evaluar el efecto antiinflamatorio por el método de inflamación auricular por xilol en ratones se observa que dentro la primera media hora de administración, se registra un incremento gradual del edema, y durante la segunda media hora hay un incremento del edema (Vinegar, 1969). Además se refuerza el efecto antiinflamatorio del extracto de Huamanpinta encontrándose dentro de los parámetros normales de eosinófilos, basófilos monocitos, linfocitos y de proteína C reactiva en sangre sobre todo con el extracto a concentraciones de 400 mg/kg (Figura 3, 4, 5, 6 y 7).

Los flavonoides poseen actividad antiinflamatoria al inhibir diversas enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico como la ciclooxigenasa, lipooxigenasa, fosfato dinucleótido adenina nicotinamida (NADPH) (Middleton, 2000; De Groot, 1998; Ródenaas, 1995; García, 2002), además los flavonoides polihidroxiados actúan preferentemente por la vía de 5-lipooxigenasa, mientras que los menos hidroxiados inhiben fundamentalmente la vía de ciclooxigenasa.

In vivo (Ferrándiz, 1990). Otros mecanismos implicados en la acción antiinflamatoria y en los cuales pueden intervenir los flavonoides son: inhibición de la liberación de histamina, inhibición de la migración celular (en el proceso inflamatorio los leucocitos se dirigen por quimiotactismo hacia el foco inflamatorio, donde son activados liberando eicosanoides y otros agentes proinflamatorios). Muchos de los flavonoides y fenoles cooperan en el efecto antiinflamatorio, pues una explicación posible sería la actividad inhibidora de la prostaglandina sintetasa, impidiendo por lo tanto la síntesis de prostaglandinas, componente responsable de la actividad inflamatoria Ferrándiz, 1990).

La IL-1 permite la inducción de genes que codifican para la ciclooxigenasa tipo 2 (COX2), la fosfolipasa A tipo 2 (PLAT2) y la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). Otras citoquinas, como IL-2, IL-6 e IL-8, contribuyen a la aparición de manifestaciones de respuesta inflamatoria (Mitchell, 2007, Goodman y Gilman, 1996). Las consecuencias biológicas de esta inducción se traducen en una franca respuesta inflamatoria. Por otra parte, los corticoides ejercen profundos efectos sobre las reacciones inmunitarias, inhibiendo la producción de interleuquinas IL-1 e IL-6 (Castell, 1989). Explican que la interleuquina 1 (IL-1), el factor de necrosis del tumor alfa (TNF-alfa) y la interleuquina-6 (IL-6) modulan en la fase aguda de la inflamación la síntesis de proteínas del plasma, en hepatocitos humanos adultos. Solo la IL-6 estimula la síntesis de proteína C reactiva durante la inflamación. Estos datos sugieren que IL-6 tiene el papel crucial en la

regulación de síntesis aguda de proteína de fase en los hepatocitos humanos. En resumen, se puede expresar que los flavonoides, al tener un comportamiento dual de inhibir la formación de prostaglandina E2 (PGE2) y leucotrieno B4 (LTB4), afectan el metabolismo del ácido araquidónico e inhiben la síntesis de interleuquina 1 (IL-1) y como consecuencia la interleuquina 6 (IL-6), lo cual a su vez afecta la síntesis de la proteína C reactiva (PCR).

La actividad antiinflamatoria según el modelo de edema auricular en ratones se fundamenta en la posible presencia de las flavonoides y compuestos fenólicos (Kim, 2008). en mayor cantidad, pero no hay descuidar del hecho que los metabolitos secundarios encontrados en una especie vegetal depende de múltiples factores ambientales, el uso de una parte de la planta y del tipo de solvente utilizado para extraer estos metabolitos, por ende el efecto es realmente atribuible a la sinergia de todos los metabolitos presentes en esta especie

V. CONCLUSIONES

- Se logró recolectar la muestra vegetal de *Chuquiraga spinosa* (planta completa) del caserío de San José, distrito de San Pedro de Casta, de la Provincia de Huarochiri del departamento de Lima.
- Se preparó extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* (huamanpinta), con un porcentaje de rendimiento del 4%.
- Se realizó la marcha fitoquímica del extracto encontrándose mayor cantidad de flavonoides y compuestos fenólicos.
- Se evaluó el efecto antiinflamatorio del extracto de las hojas de *Chuquiraga spinosa* inducido por xilol en el lóbulo auricular en ratones
- Se concluye que el extracto etanólico de *Chuquiraga spinosa* inducido por xilol en el lóbulo auricular en ratones posee efecto antiinflamatorio bajo condiciones experimentales y con mayor efecto a una concentración del extracto de 400 mg/kg con un 33.82 % de eficacia antiinflamatoria.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios con la totalidad de la planta.
- Se recomienda realizar ensayos con extractos donde se utiliza otros solventes que extraigan metabolitos de otras polaridades.
- Se recomienda evaluar el extracto utilizando otras vías de administración.
- Se recomienda realizar estudios de seguridad, que permitan aplicar este producto natural en investigaciones de tipo clínico.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Haboubi, H., Zeitlin. J. (1983). Re-appraisal of the role of histamine in carrageenan-induced paw oedema. *Eur J Pharmacol* 25, 169-76.
- Asad, S., Singh, S., Ahmad, A., Hadi, S. (2006). Flavonoids: antioxidants in diet and potential anticancer agents. *Medical Science*.
- Aherne, S., O'Brien, N. (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*. 18:75-81.
- Bagga, D., Wang, R., Farias-Eisner, J., Glaspy, S., Reddy. (2003). Differential effects of prostaglandin derived from o-6 and o-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc Natl Acad Sci* 100, 1751–1756.
- Barnes, J. (2003). Quality, efficacy and safety of complementary medicines: fashions, facts and the future. Part I. Regulation and quality. *Br J Clin Pharmacol*. 55:226-33.
- Bisset, J. (1988) “*Arboles de Cuba*”. Ed. Científico Técnica, Ciudad de la Habana, págs. 54-6.
- Calvo, J., García-Mina, J., Marston, A., Hostettmann, K., *et al.* (2011). Anti-inflammatory, antioxidant and antifungal activity of *Chuquiraga spinosa*. *Pharm Biol*. 49(6): 620-6.
- Carhuapoma, M., López S. (2008). *Maíz Morado Purple Corn Moléculas bioactivas antioxidantes y anticancerígenas*. 1ª Edición. Editorial Concytec, 53– 90.

Castell, J.V., Gómez-Lechón, M.J., David, M., Andus, T., Geiger, T., Trullenque, R., Fabra, R., Heinrich, P.C. (1989). Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. *FEBS Lett*, 242(2):237-9.

Chediwick, D.J & J. Marsh (1990) "*Bioactive compounds from plants*", Ed. John Wiley, New York, págs. 23- 24

CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 1995. p.220

Corns, C.M. (2003). Herbal remedies and clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem*. 40:489– 507.

De Groot, H., Raven, C. (1998). Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol*, 12:249-55.

Dubois, R., Abramson, L., Crofford, R., Gupta, L., Simon, L., Van De Putte, P., Lipsky. (1998). Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J* 12, 1063– 1073.

Esplugues, J., López-Jaramillo, P. (1997). Mediadores celulares II. Eicosanoides, óxido nítrico y factor activador de plaquetas. En: Flórez J. *Farmacología Humana*. 3^a ed. Masson-Salvat. Barcelona, España, Pp 328-341.

Ferrándiz, M.L., Alcaraz, M.J. (1991). Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents Actions*, 32:283-8.

- García, L., Rojo, D., García, L.V., Hernández, M. (2002). Plantas con propiedades antiinflamatorias. Centro de Investigaciones Biomédicas "Victoria de Girón" *Rev Cubana Invest Biomed*, 21(3):214-6.
- Giráldez R. 2001. Cursos sobre modelos de inflamación. En: Taller nacional sobre inflamación. Sociedad Cubana de Farmacología. La Habana, Cuba, Pp 18-35.
- Goodman y Gilman. (1996). Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª. Edición. México: Ed. McGraw-Hill. Interamericana. 1996:661-9.
- Hattori, M., M.T. Nakabayashi & Y. Lim (1995). *Phytother. Res.* **9**: 270-6.
- Hinz, B., Brune, K. (2002). Cyclooxygenase-210 Years Later. *J Pharmacol Exp Ther* 300, 367–375.
- Haysteen, B. (1983). Flavonoids. A class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol*, 32:1141-8.
- Jiménez, G., Debesa, F., Bastanzuri, T., Pérez, J., Ávila, J. (2003). Comportamiento de las reacciones adversas a los analgésicos y antiinflamatorios no esteroideos notificados por el Sistema Cubano de Farmacovigilancia en el 2001. *Rev Cubana Farm* 37, 3.
- Johnson, E. L., W. F. Schmidt & H. A. Norman (1997). *Z. Naturforsch., C: Biosci.* **52**: 577-85.
- Kim, H. P., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S. (2004). Antiinflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J Pharmacol Sci.* 96:229-45.

- Kim, H.K., Namgoong, S.Y., Kim, H.P. (2008). Anti-inflammatory activity of flavonoids: mouse ear edema inhibition. *Arch Pharmacol Res*, 16(1):18-24.
- Lawrence, T., Willoughby, D., Gilroy, D. (2002). Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nat Rev Immunol* 2, 787-795.
- Lee, J., Lee, H. S. y Min, R. K. (1993). *Inhibitory effect of hidrolizable tannins on ca+2 activated hyaluronidase*. *Planta Med.* 59:381-82
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales*. 2º Edición. Lima: Fondo Editorial PUCP.
- Lohezic, F; M. Amoros., J. Boustie & L. Girre (1999). *Pharm. Pharmacol. Commun.* 5: 249-53.
- Lovenberg, T., Roland, S., Wilson, X., Jiang, J., Pyati, A., Huvar, M., Jackson, M., Erlander. (1999). Cloning and Functional Expression of the Human Histamine H₃ Receptor. *Mol Pharmacol* 55, 1101-1107.
- Manthey, J., Grohmann, K., Guthrie, N. (2001). *Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation*. *Curr Med Chem.* 8:135-53.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J., Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp* 17, 271-278.
- Middleton, E., Kanndasamy, C., Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52(4):673-751.

- Mitchell, R., Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N. (2007). Compendio de Robbins y Cotran: Patología estructural y funcional. 7ª. Edición. Madrid, España: Ed. Elsevier España S.A. 30-57.
- Morón, F., Levy, M. (2002). Mediadores Químicos. En: Borroto R. *Farmacología General*. Editorial Ciencias Médicas. La Habana, Cuba, Pp147-164.
- Moss, J. (1995). Muscle relaxants and histamine release. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 106, 7-12.
- Orrego, F., Watson, J., Flores, A., Rojas, G. Flores. (2013). Silvestres de Chile. Flores del Norte Grande. Santiago de Chile: Quad/Graphics S.A.
- Pace-Asciak, C., Hahn, S., Diamandis, E., Soleas, G., Goldberg, D.M. (1995). The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation in eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta*. 235:207-19.
- Pepper, I. (1994). Concepto de inflamación. En: *Atlas de Inmunología*. Mediterráneo. Santiago, Chile, Pp18.
- Raj, K., Sripal, M., Chauluvadi, M., Krishna, D. (2001). Bioflavoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*. 33:2-16.
- Rivera, M. (1997). Inflamación aguda y crónica. En: *Fisiopatología*. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Caracas, Venezuela, Pp 345- 359.
- Robbins, S., Cotran, R. (2007). Inflamación aguda y crónica. En: *Patología estructural y funcional*. 7ª ed. Saunders. Madrid. España, Pp 47-46.

- Roig, T. J. (1965) "*Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba*". Ed. Ciencia y Técnica, Instituto del Libro, La Habana. págs. 54-56.
- Rousseaux, C.G., Schachter, H. (2003). Regulatory issues concerning the safety, efficacy and quality of herbal remedies. *Birth Defects Res Part B. Dev Reprod Toxicol.* 68:505–10.
- Salama, A. M., J.E. Calderson & M. Sanchez (1994). *Rev. Colomb. Cienc. Quim.-Farm.* 22: 27-30.
- Sakata, K., Hirose, Y., Qiao, Z., Tanaka, T., Mori, H. (2003). Inhibition of inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric oxide synthase by flavonoid hesperidin in mouse macrophage cell line. *Cancer Lett.* 199:139-45.
- Sierra, A. (2006). Tratamiento farmacológico de las enfermedades reumáticas. *El Peu* 26, 32-42.
- Spencer, J. (2007). The interactions of flavonoids within neuronal signalling pathways. *Genes Nutr* 2, 257–273.
- Smyt, B., Gitz, Gerald, G. (2006) *Autacoids: pharmacotherapy of inflammation*, editor. *Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics.* 11th ed. New York 653-70.
- Tanaka, T., Makita, H., Ohnishi, M., Hirose, Y., Wang, A., Mori, H., et al. (1994). Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced oral carcinogenesis by dietary curcumin and hesperidin: Comparison with the protective effect of β -carotene. *Cancer Res.* 54:4653-9.

- Torres, M. (2004). Actividad antiinflamatoria prostática del extracto atomizado de la especie *Chuquiraga spinosa* Lessing “qarisirwi” en *Canis familiares*. Tesis de Químico Farmacéutico. Ayacucho-Perú.
- Vinegar, H. (1969). Biphasic development of carrageen in edema in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 166(1):99-103.
- Weidner, C., Klede, R., Rukwied, G., Lischetzki, U., Neisius, P., Skov, L., Petersen, M., Schmelz. (2000). Acute Effects of Substance P and Calcitonin Gene-Related Peptide in Human Skin – A Microdialysis Study. *J Infect Dis* 115, 1015–1020.
- Zalles, J., De Lucca, M. (1991). “*El verde de la Salud*”. Punata, Cochabamba.

VII. ANEXOS Y APÉNDICES

Anexo 01. Pesos de las muestras tomadas de los lóbulos auriculares de ratones obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol.

Nro.	Tratamientos	peso lóbulos auriculares mg
1	SSF 2 mL/Kg	4.9
2	SSF 2 mL/Kg	3.5
3	SSF 2 mL/Kg	3.1
4	SSF 2 mL/Kg	3.1
5	SSF 2 mL/Kg	2.7
6	SSF 2 mL/Kg	3.1
7	Dexametasona 4 mg/Kg	2.1
8	Dexametasona 4 mg/Kg	1.3
9	Dexametasona 4 mg/Kg	2
10	Dexametasona 4 mg/Kg	2.4
11	Dexametasona 4 mg/Kg	1.2
12	Dexametasona 4 mg/Kg	1.9
13	Huamanpinta 100 mg/kg	2.5
14	Huamanpinta 100 mg/kg	2.6
15	Huamanpinta 100 mg/kg	3.8
16	Huamanpinta 100 mg/kg	3.5
17	Huamanpinta 100 mg/kg	3.5
18	Huamanpinta 100 mg/kg	2.7
19	Huamanpinta 200 mg/Kg	3.3
20	Huamanpinta 200 mg/Kg	3
21	Huamanpinta 200 mg/Kg	3.2
22	Huamanpinta 200 mg/Kg	3.2
23	Huamanpinta 200 mg/Kg	2.5
24	Huamanpinta 200 mg/Kg	2.6
25	Huamanpinta 400 mg/kg	2.7
26	Huamanpinta 400 mg/kg	2.1
27	Huamanpinta 400 mg/kg	2.2
28	Huamanpinta 400 mg/kg	2.5
29	Huamanpinta 400 mg/kg	2.1
30	Huamanpinta 400 mg/kg	1.9

Anexo 02. Estadística descriptiva de los valores obtenidos de los pesos de los lóbulos auriculares al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

<i>Parámetros</i>	SSF 2 mL/Kg	Dexametasona 4 mg/Kg	Huamanpinta 100 mg/kg	Huamanpinta 200 mg/Kg	Huamanpinta 400 mg/kg
Media	3.4	1.81666667	3.1	2.96666667	2.25
Error típico	0.31728011	0.19220938	0.22949219	0.13824294	0.12041595
Mediana	3.1	1.95	3.1	3.1	2.15
Moda	3.1	#N/A	3.5	3.2	2.1
Desviación estándar	0.77717437	0.4708149	0.56213877	0.33862467	0.29495762
Varianza de la muestra	0.604	0.22166667	0.316	0.11466667	0.087
Curtosis	3.97131705	-1.41654135	-2.68186188	-1.78981882	-0.614348
Coefficiente de Asimetría	1.88661029	-0.41521354	0.11146399	-0.68333872	0.66637275
Rango	2.2	1.2	1.3	0.8	0.8
Mínimo	2.7	1.2	2.5	2.5	1.9
Máximo	4.9	2.4	3.8	3.3	2.7
Suma	20.4	10.9	18.6	17.8	13.5
Cuenta	6	6	6	6	6

Anexo 03. Análisis de varianza (ANOVA) de los datos obtenidos de los pesos de los lóbulos auriculares al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
SSF 2 mL/Kg	6	20.4	3.4	0.604
Dexametasona 4 mg/Kg	6	10.9	1.81666667	0.22166667
Huamanpinta 100 mg/kg	6	18.6	3.1	0.316
Huamanpinta 200 mg/Kg	6	17.8	2.96666667	0.11466667
Huamanpinta 400 mg/kg	6	13.5	2.25	0.087

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	10.222	4	2.5555	9.5117866	8.1295E-05	2.75871047
Dentro de los grupos	6.71666667	25	0.26866667			
Total	16.9386667	29				

Anexo 04. Pesos de las muestras tomadas de los lóbulos auriculares de ratones obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol.

Nro	TRATAMIENTO	eosinófilos	basófilos	monocitos	linfocitos	PCR mg/L
1	SSF 2 mL/kg	2	0	12	55	5.01
2	SSF 2 mL/kg	4	2	5	49	6.33
3	SSF 2 mL/kg	2	1	10	60	5.45
4	SSF 2 mL/kg	1	1	10	51	5.88
5	SSF 2 mL/kg	3	2	9	37	6.77
6	SSF 2 mL/kg	2	0	5	51	4.27
7	Dexametasona 4 mL/kg	2	0	4	19	2.78
8	Dexametasona 4 mL/kg	1	1	3	21	0.99
9	Dexametasona 4 mL/kg	1	0	5	32	0.44
10	Dexametasona 4 mL/kg	1	0	4	31	1.25
11	Dexametasona 4 mL/kg	0	0	3	18	1.32
12	Dexametasona 4 mL/kg	1	1	5	13	4.55
13	Huamanpinta 100 mg/kg	3	1	3	52	3.76
14	Huamanpinta 100 mg/kg	2	0	6	48	2.45
15	Huamanpinta 100 mg/kg	2	1	4	46	6.21
16	Huamanpinta 100 mg/kg	1	1	9	42	4.32
17	Huamanpinta 100 mg/kg	0	1	6	38	4.35
18	Huamanpinta 100 mg/kg	2	0	6	42	4.36
19	Huamanpinta 200 mg/kg	1	1	3	39	2.55
20	Huamanpinta 200 mg/kg	2	1	5	36	2.44
21	Huamanpinta 200 mg/kg	2	1	6	44	4.33
22	Huamanpinta 200 mg/kg	1	0	5	39	6.44
23	Huamanpinta 200 mg/kg	1	1	7	44	7.88

24	Huamanpinta 200 mg/kg	1	0	5	31	3.22
25	Huamanpinta 400 mg/kg	1	0	5	20	1.55
26	Huamanpinta 400 mg/kg	0	1	4	29	1.01
27	Huamanpinta 400 mg/kg	2	0	6	25	2.33
28	Huamanpinta 400 mg/kg	2	1	4	36	1.26
29	Huamanpinta 400 mg/kg	1	1	3	34	3.01
30	Huamanpinta 400 mg/kg	1	0	5	33	3.21

Anexo 05. Estadística descriptiva de los valores obtenidos del porcentaje eosinófilos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

<i>Parámetros</i>	SSF 2 mL/Kg	Dexametasona 4 mL/kg	Huamanpinta 100 mg/kg	Huamanpinta 200 mg/kg	Huamanpinta 400 mg/kg
Media	2.33333333	1	1.66666667	1.33333333	1.16666667
Error típico	0.42163702	0.25819889	0.42163702	0.21081851	0.30731815
Mediana	2	1	2	1	1
Moda	2	1	2	1	1
Desviación estándar	1.03279556	0.63245553	1.03279556	0.51639778	0.75277265
Varianza de la muestra	1.06666667	0.4	1.06666667	0.26666667	0.56666667
Curtosis	0.5859375	2.5	0.5859375	-1.875	-0.10380623
Coefficiente de Asimetría	0.66566901	0	-0.66566901	0.96824584	-0.31256996
Rango	3	2	3	1	2
Mínimo	1	0	0	1	0
Máximo	4	2	3	2	2
Suma	14	6	10	8	7
Cuenta	6	6	6	6	6

Anexo 06. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores obtenidos del porcentaje eosinófilos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
SSF 2 mL/Kg Dexametasona	6	14	2.33333333	1.06666667
4 mL/kg Huamanpinta	6	6	1	0.4
100 mg/kg Huamanpinta	6	10	1.66666667	1.06666667
200 mg/kg Huamanpinta	6	8	1.33333333	0.26666667
400 mg/kg Huamanpinta	6	7	1.16666667	0.56666667

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	6.66666667	4	1.66666667	2.47524752	0.07021294	2.75871047
Dentro de los grupos	16.83333333	25	0.67333333			
Total	23.5	29				

Anexo 07. Estadística descriptiva de los valores obtenidos del porcentaje de basófilos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

<i>Parámetros</i>	SSF 2 mL/Kg	Dexametasona 4 mL/kg	Huamanpinta 100 mg/kg	Huamanpinta 200 mg/kg	Huamanpinta 400 mg/kg
Media	1	0.33333333	0.66666667	0.66666667	0.5
Error típico	0.36514837	0.21081851	0.21081851	0.21081851	0.2236068
Mediana	1	0	1	1	0.5
Moda	0	0	1	1	0
Desviación estándar	0.89442719	0.51639778	0.51639778	0.51639778	0.54772256
Varianza de la muestra	0.8	0.26666667	0.26666667	0.26666667	0.3
Curtosis	-1.875	-1.875	-1.875	-1.875	-3.33333333
Coefficiente de Asimetría	0	0.96824584	-0.96824584	-0.96824584	0
Rango	2	1	1	1	1
Mínimo	0	0	0	0	0
Máximo	2	1	1	1	1
Suma	6	2	4	4	3
Cuenta	6	6	6	6	6

Anexo 08. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores obtenidos del porcentaje basófilos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
SSF 2 mL/Kg	6	6	1	0.8
Dexametasona 4 mL/kg	6	2	0.33333333	0.26666667
Huamanpinta 100 mg/kg	6	4	0.66666667	0.26666667
Huamanpinta 200 mg/kg	6	4	0.66666667	0.26666667
Huamanpinta 400 mg/kg	6	3	0.5	0.3

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.46666667	4	0.36666667	0.96491228	0.44402253	2.75871047
Dentro de los grupos	9.5	25	0.38			
Total	10.9666667	29				

Anexo 09. Estadística descriptiva de los valores obtenidos del porcentaje de monocitos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

Parámetros	SSF 2 mL/Kg	Dexametasona 4 mL/kg	Huamanpinta 100 mg/kg	Huamanpinta 200 mg/kg	Huamanpinta 400 mg/kg
Media	8.5	4	5.66666667	5.16666667	4.5
Error típico	1.17615192	0.36514837	0.84327404	0.54262735	0.42817442
Mediana	9.5	4	6	5	4.5
Moda	5	4	6	5	5
Desviación estándar	2.88097206	0.89442719	2.06559112	1.32916014	1.04880885
Varianza de la muestra	8.3	0.8	4.26666667	1.76666667	1.1
Curtosis	-	-	-	-	-
Coficiente de Asimetría	1.57207142	-1.875	0.73974609	1.33499466	-0.24793388
	0.45165479	0	0.46142966	-0.44005658	-4.996E-17
Rango	7	2	6	4	3
Mínimo	5	3	3	3	3
Máximo	12	5	9	7	6
Suma	51	24	34	31	27
Cuenta	6	6	6	6	6

Anexo 10. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores obtenidos del porcentaje monocitos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

RESUMEN					
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza	
SSF 2 mL/Kg Dexametasona	6	51	8.5	8.3	
4 mL/kg Huamanpinta	6	24	4	0.8	
100 mg/kg Huamanpinta	6	34	5.66666667	4.26666667	
200 mg/kg Huamanpinta	6	31	5.16666667	1.76666667	
400 mg/kg Huamanpinta	6	27	4.5	1.1	

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	74.2	4	18.55	5.71355236	0.00208193	2.75871047	
Dentro de los Grupos	81.1666667	25	3.24666667				
Total	155.366667	29					

Anexo 11. Estadística descriptiva de los valores obtenidos del porcentaje de linfocitos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

Parámetros	SSF 2 mL/Kg	Dexametasona 4 mL/kg	Huamanpinta 100 mg/kg	Huamanpinta 200 mg/kg	Huamanpinta 400 mg/kg
------------	----------------	-------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

Media	50.5	22.3333333	44.6666667	38.8333333	29.5
Error típico	3.13847097	3.0947985	2.0439613	2.02347336	2.48663092
Mediana	51	20	44	39	31
Moda	51	#N/A	42	39	#N/A
Desviación estándar	7.68765244	7.58067719	5.00666223	4.95647724	6.09097693
Varianza de la muestra	59.1	57.4666667	25.0666667	24.5666667	37.1
Curtosis	2.12227404	-1.49324939	-0.57378904	-0.15514508	-0.70640289
Coefficiente de Asimetría	-	1.00035159	0.42726778	0.23798078	-0.5606468
Rango	23	19	14	13	16
Mínimo	37	13	38	31	20
Máximo	60	32	52	44	36
Suma	303	134	268	233	177
Cuenta	6	6	6	6	6

Anexo 12. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores obtenidos del porcentaje linfocitos en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

RESUMEN					
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza	
SSF 2 mL/Kg	6	303	50.5	59.1	
Dexametasona					
4 mL/kg	6	134	22.3333333	57.4666667	
Huamanpinta					
100 mg/kg	6	268	44.6666667	25.0666667	
Huamanpinta					
200 mg/kg	6	233	38.8333333	24.5666667	
Huamanpinta					
400 mg/kg	6	177	29.5	37.1	

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	3093.66667	4	773.416667	19.0215609	2.7101E-07	2.75871047	

Dentro de los grupos	1016.5	25	40.66
Total	4110.16667	29	

Anexo 13. Estadística descriptiva de los valores obtenidos de proteína C reactiva en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

<i>Parámetros</i>	SSF 2 mL/Kg	Dexametasona 4 mL/kg	Huamanpinta 100 mg/kg	Huamanpinta 200 mg/kg	Huamanpinta 400 mg/kg
Media	5.61833333	1.88833333	4.24166667	4.47666667	2.06166667
Error típico	0.37048092	0.61953432	0.49491694	0.91100921	0.37861517
Mediana	5.665	1.285	4.335	3.775	1.94
Moda	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Desviación estándar	0.90748921	1.51754297	1.21229397	2.23150771	0.92741397
Varianza de la muestra	0.82353667	2.30293667	1.46965667	4.97962667	0.86009667
Curtosis	0.61123944	1.16028466	1.9719234	-1.09819681	-2.22118691
Coeficiente de Asimetría	0.31122683	1.31841475	0.29740954	0.79373235	0.21593805
Rango	2.5	4.11	3.76	5.44	2.2
Mínimo	4.27	0.44	2.45	2.44	1.01
Máximo	6.77	4.55	6.21	7.88	3.21
Suma	33.71	11.33	25.45	26.86	12.37
Cuenta	6	6	6	6	6

Anexo 14. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores obtenidos de la concentración de proteína C reactiva en sangre al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *Chuquiraga spinosa* por el método del edema auricular inducido por xilol en ratones.

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
SSF 2 mL/Kg Dexametasona	6	33.71	5.618333333	0.82353667
4 mL/kg Huamanpinta	6	11.33	1.888333333	2.30293667
100 mg/kg Huamanpinta	6	25.45	4.241666667	1.46965667
200 mg/kg Huamanpinta	6	26.86	4.476666667	4.97962667
400 mg/kg Huamanpinta	6	12.37	2.061666667	0.86009667

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	63.20272	4	15.80068	7.57038236	0.00038611	2.75871047
Dentro de los Grupos	52.1792667	25	2.08717067			
Total	115.381987	29				

Anexo 15. Evidencias fotográficas de la parte experimental



Selección aleatoria de los especímenes



Preparación de los tratamientos a ensayar.



Administración de los tratamientos por vía oral haciendo uso de una cánula metálica.



Administración tópica del xilol sobre el lóbulo auricular de los ratones.



Fase inflamatoria por el xilol



Saca bocados utilizado para toma de muestra de lóbulos auriculares en ratones.



Ratones anestesiados con éter para toma de muestra de lóbulo auricular y muestra de sangre por punción cardiaca.



Toma de muestra de lóbulo auricular en los ratones.



Peso de las muestras de los lóbulos auriculares de ratones.