

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Dirección General de Investigación



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

**EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO
METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Erythroxylum coca* EN
RATAS.**

Cisneros Hilario, César Braulio
Cisneros Hilario, David Fernando
Arroyo Acevedo, Jorge Luís
Carrillo Julca, Keith Luger

Chimbote – Perú
2016

Palabras clave: Antiinflamatorio, compuestos fenólicos, flavonoides, carragenina, xylol

Keywords: Antiinflammatory, phenolic compounds, flavonoids, carrageenan, xylol

Línea de Investigación: 04050302 (Química de los productos naturales).

**EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS
HOJAS DE *Erythroxylum coca* EN RATAS.**

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la influencia del extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* sobre el edema subplantar y auricular inducido con carragenina y Xylol en ratas respectivamente. El estudio es experimental y se desarrolló en los laboratorios de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, para lo cual se utilizarán 30 ratas albinas cepa Holtzmann machos dispuesta de manera aleatoria en 6 grupos, de 5 ratas cada uno. Todos los grupos recibieron carragenina 0.1 ml al 1% inyectada en la aponeurosis subplantar y 20 µg de xylol por vía tópica del lóbulo auricular, el 1° grupo fue control y recibió SSF, el 2° diclofenaco 50 mg/kg, 3° dexametasona 4 mg/kg, 4°, 5° y 6° grupo recibieron extracto en dosis de 50, 250 y 500 mg/Kg por vía oral respectivamente, para luego medir el edema subplantar usando un pletismómetro digital a 1h, 3h y 6h además de extraerles una porción circular del lóbulo auricular con un sacabocados y ser pesados, Para la significancia estadística se consideró la $p < 0,05$. Las principales medidas de resultado fueron la disminución del edema subplantar y auricular inducida en ratas. Los resultados evidencian un mayor efecto antiinflamatorio en los grupos que recibieron el extracto etanólico, a dosis de 250 mg/kg para edema subplantar y 50 mg/kg para edema auricular. Concluyéndose que el extracto metanólico de hojas de *Erythroxylum coca* en condiciones experimentales presentan efecto antiinflamatorio en ratas.

ABSTRACT

The present investigation had as objective to determine the influence of the methanolic extract of the leaves of *Erythroxylum coca* on the subplant and auricular edema induced with carrageenan and Xylol in rats respectively. The study is experimental and was developed in the laboratories of the Faculty of Human Medicine of the University San Pedro, for which 30 male albino rats will be used Holtzman male strain arranged randomly in 6 groups, 5 rats each. All groups received carrageenan 0.1 ml 1% injected into the subplantar aponeurosis and 20 µg xylol topically at the earlobe, the 1st group was control and received SSF, the 2nd diclofenac 50 mg / kg, the 3rd dexamethasone 4 mg /kg, 4°, 5° and 6° group received extract at doses of 50, 250 and 500 mg/kg orally respectively, to then measure the subplantar edema using a digital plethysmometer at 1h, 3h and 6h in addition to extracting them. A circular portion of the auricular lobe with a punch and be weighed. For $p < 0.05$, statistical significance was considered. The main outcome measures were the reduction of subplantar and atrial edema induced in rats. The results showed a greater anti-inflammatory effect in the groups that received the ethanolic extract, at doses of 250 mg/kg for subplantar edema and 50 mg/kg for atrial edema. Concluding that the methanolic extract of leaves of *Erythroxylum coca* under experimental conditions present anti - inflammatory effect in rats.

ÍNDICE

Tema	Página N°
Palabras clave	i
Título	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
Indice	v
Introducción	1
Metodología	12
Resultados	16
Análisis y discusión	20
Conclusiones	23
Recomendaciones	24
Referencias bibliográficas	25
Anexos y apéndice	31

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)

El *Erythroxylum coca* (coca), es una planta nativa del Perú, de valles calientes y húmedos de la cordillera de los andes, que crece a 600 y 2000 msnm, que ha sido cultivada desde tiempos muy remotos (2100 AC aprox.) (Villar, 2001; Falcon, 1993, Tosi, 1990) cuyas hojas son utilizadas por los habitantes de la zona por sus diversas propiedades terapéuticas y entre ellas las antiinflamatorias. (Pelzer, 1998; Raj, 2001)

1.2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Desde las primeras épocas el hombre ha usado los métodos naturales para curar sus molestias, métodos que cuando eran efectivos se transmitían de generación en generación y así han llegado a nuestros días. En 1998, los editores del *New England Journal of Medicine* declararon: "Es tiempo de que la comunidad científica detenga el libre andar de la medicina alternativa. Su planteamiento se fundamentó en las pocas publicaciones científicas en este campo. A partir de esta opinión los practicantes e investigadores de este tipo de medicina comenzaron a defenderla realizando publicaciones de investigaciones clínicas que aún son insuficientes, pues muchos de los fitomedicamentos que se comercializan adolecen de todos los estudios preclínicos establecidos (Marcia, 2007).

La presencia de plantas medicinales fue muy notoria en todas las farmacopeas del mundo hasta los años 40--50, después los medicamentos sintéticos sobrepujaban fuertemente a las plantas medicinales en la terapéutica médica, sin embargo, hoy en día el 80% de la población mundial no tiene acceso al sistema moderno de salud, lo que ha conllevado a que las plantas medicinales se constituyan como una de las fuentes principales de tratamiento de enfermedades (Farnsworth, 1985).

La OMS considera esencial separar el mito de la realidad, que están estrechamente relacionados en medicina tradicional, ser capaces de distinguir las prácticas y los remedios válidos de los ineficaces o peligrosos, promoviendo esta actividad mediante métodos adecuados que garanticen los principios de seguridad, eficacia y calidad. Si bien es cierto que la extracción, el aislamiento e identificación de los constituyentes químicos de origen vegetal, se ha efectuado en años relativamente recientes, el propósito para el cual estas sustancias medicinales se emplean hoy es el mismo que le dieron nuestros antecesores en su momento histórico: salvo que ya se está en condiciones de aprovechar el acelerado desarrollo de la fitoquímica para sustentar científicamente las

investigaciones en plantas, para velar por la seguridad de los preparados medicinales se establecen regulaciones internacionales, que exigen amplias investigaciones fármaco-toxicológicas en animales de experimentación antes de iniciar su aplicación en seres humanos (Pérez, 2007).

La implementación de la fitoterapia en nuestra sociedad debe realizarse teniendo en cuenta determinadas pautas para llegar a producir los efectos deseados: la mejoría del síntoma sin efectos secundarios, la medicina vegetal o terapia con hierbas medicinales, comprende el uso de plantas o partes de plantas en su estado natural (sin procesamiento químico). Los remedios vegetales pueden incluir el uso de las hojas, raíces, cortezas, frutos, etcétera o también se puede utilizar la planta entera. Los productos naturales y en particular las plantas medicinales, siguen constituyendo una fuente importante de nuevas moléculas de gran complejidad y especificidad, esto es demostrado por el hecho de que gran parte del arsenal terapéutico internacional tiene su origen en ellas (Villaescusa, 2000).

El Perú, considerado el tercer país más mega diverso del planeta, ha efectuado importantes aportes de especies y variedades para el mundo gracias a los diversos pisos ecológicos y microclimas que presenta, contando con 84 zonas de vida de las 103 conocidas donde habría 50 mil especies vegetales (20% de las existentes en la Tierra) de las que 2,000 han sido utilizadas con fines curativos. Actualmente, esta riqueza de promisorios agentes terapéuticos vegetales aunada al conocimiento ancestral de su uso etnofarmacológico, constituye un valioso recurso por explotar adecuadamente mediante el desarrollo sostenible en beneficio de la humanidad y, especialmente, de las comunidades nativas que han preservado estos recursos hasta nuestros días (Li, 2010).

La organización Mundial de la salud (OMS) estima que cada año 12 millones de personas en todo el mundo mueren a causa de enfermedades cardiovasculares, la mayoría de ellos debido a las exigencias del mundo en desarrollo. 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 (Kmietowicz, 2002).

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, flavanonoles, isoflavonas, neoflavonas, catequinas, antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, diflavonas, entre otras, según 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 y Son compuestos que presentan propiedades antioxidantes in vitro (Asad, 2006).

La hoja de coca (*Erythroxylum coca* spp.) es una planta nativa de América del Sur, considerada sagrada en las ceremonias incas. Es utilizada tradicionalmente desde la época precolombina por su significado religioso y medicinal. Estudios realizados por Duke y Plowman revelan que la hoja de coca contiene nutrientes, como proteínas, carbohidratos, fibra, calcio, hierro, fósforo, vitamina A y riboflavina, que satisfarían los requerimientos dietéticos del ser humano (Penny, 2009; Duke, 1975)). Además, Collazos y col. y Duke J y col.

señalan concentraciones de aproximadamente 7 mg de hierro y 6,47 mg de vitamina C por cada 100 g de hoja de coca (Duke, 1975; Collazos, 1975).

Por lo expuesto, la presente investigación Tiene por objetivo de obtener el extracto Metanólico que contiene compuestos fenólicos y flavonoides de las hojas de *Erythroxylum coca*, para luego determinar su eficacia antiinflamatoria sobre el edema subplantar y auricular en ratas inducida con carragenina y xylol respectivamente.

1.3. PROBLEMA

Por todas estas razones nos planteamos el problema si: ¿El extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* tendrá efecto antiinflamatorio al administrarlo por vía oral en ratas con inducción de inflamación en el nódulo subplantar con carragenina y lóbulo auricular con xylol?

1.4. CONCEPTUALIZACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

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).

En la base de datos Index Kewensis Detailed Report (1998), aparece en el año 1759 el dato más antiguo de una especie de *Erythroxylum*. De este género se informan 235 especies en la familia *Erythroxylaceae* y 134 especies en la familia *Linaceae*; esto suma un total de 369 especies de *Erythroxylum* en el mundo. De

acuerdo al Chemicals Abstracts Data Base (1987-2002), Med-Line (1980-2003), NAPRALERT (1975-2003) y varios artículos originales consultados, se denota que es un género pocamente estudiado tanto química como farmacológicamente.

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).

Las plantas de estas especies se describen como árboles de pequeño tamaño que crecen en regiones tropicales del Sur de América, Africa, Sudeste de Asia y Australia, fundamentalmente en montes secos y suelos calizos (Prieto, 2002).

PROPIEDADES ETNOMÉDICAS

En la actualidad, gran parte de las investigaciones científicas encaminadas hacia la búsqueda de nuevos fármacos a partir de especies de la flora mundial se han apoyado en los conocimientos etnomédicos, ya sea por encuestas o a través de la experiencia de personas que se dedican a la cura de diversas enfermedades mediante el uso de las plantas. Por lo tanto, los conocimientos etnomédicos han representado un instrumento de información necesario para guiar los estudios científicos (Prieto, 2002).

Los usos del género *Erythroxylum* se han extendido a diversas regiones del mundo, donde se detalla la utilización etnomédica de al menos 15 especies del género, distribuidas en diversas regiones del mundo, que cubren 12 países. Las diferentes especies se han utilizado para el tratamiento de alrededor de 40 trastornos clínicos. Las principales propiedades etnomédicas atribuidas a este género son: estimulante (12,6%), para la inducción de euforia (10,8%) y contra

la fatiga (10,8%), el alivio de la sensación del hambre (10,8%), problemas estomacales (4,5%), cefaleas y dolor de garganta (3,6%). También las especies de este género se han utilizado contra la fiebre, los desórdenes hepáticos y renales, como anestésico local, afrodisíaco, antihemorrágico, antiinflamatorio, cicatrizante, entre otras. El uso etnomédico de este género se registra fundamentalmente para países de Sudamérica, lo que representa el 32% de la información total. La República de Perú se destaca por una mayor práctica etnomédica con un porcentaje de mención de 23,4% respecto al total de los registros de la literatura; le siguen Ecuador con un 10%, Colombia con un 8% y Brasil con un 7,2%. Los órganos vegetales más utilizados en la medicina tradicional son las hojas secas, que constituyen el 72% del total de lo que aparece registrado; las hojas frescas, que constituyen el 15 %; el conjunto de hojas y ramas (3%); las frutas frescas (2%); las raíces secas (2%) y en menor frecuencia, aparece registrado el uso de la madera del tronco y el material seco de la corteza, las ramas y los frutos. Por otro lado, existe mención del uso como alimento de algunas de estas especies (PRALERT, 2003)

Las especies que se han estudiado científicamente con mayor frecuencia son *Erythroxylum coca* (20%), *E. coca* var. *coca* (16%), *E. coca*, var. *ipadu* (14%), *E. novogratense* (15%) y *E. novogratense* var. *truxillensis* (11%). De manera general, se puede afirmar que el método de extracción más utilizado fue aquel que emplea el agua caliente, es decir, los métodos tradicionales de infusión y decocción (Prieto, 2002).

ACCIONES BIOLÓGICAS ESTUDIADAS

Según las bases de datos consultadas los extractos o fracciones de solo 15 especies del género *Erythroxylum* se han estudiado frente a 30 modelos de ensayos de bioactividad diferentes. Las acciones biológicas evaluadas con mayor frecuencia fueron el efecto citotóxico (26,6%), la actividad antibacteriana (20%) y la actividad antiviral (13,3%). Las especies *E. argentinum*, *E. monogynum*, *E. monii* y *E. coca* son las más estudiadas en este sentido: 31,2%, 13,4%, 12,7% y

7,6%, respectivamente, con relación al total. Resulta interesante considerar no sólo los valores absolutos respecto a la cantidad de ensayos realizados, sino también la proporción de ensayos que resultaron positivos. Dicho análisis permite valorar la potencialidad de las especies del género *Erythroxylum* en correspondencia con determinada acción biológica. Así, resulta que de 76 ensayos antibacterianos realizados, el 23,7% de ellos resultaron positivos. Para el caso de la actividad antifúngica, se han realizado 12 ensayos y el 58,3% del total resultaron ser positivos. Contra los virus, se recopilan 5 ensayos y el 60% mostraron resultados positivos. Por otra parte, de 10 extractos de diferentes especies, el 20% resultó ser citotóxico, lo que permite predecir que, en general, las especies de este género no representan un peligro para la destrucción de las células. Es importante destacar que el hecho de que la mayoría de las especies evaluadas en ensayos para una bioactividad determinada presente resultados positivos no determina necesariamente el mismo comportamiento para los ensayos realizados. Esto se debe a que una misma especie puede brindar resultados positivos en varios tipos de ensayos diferentes (a partir de diferentes partes útiles, distintas formas de extracción o particularidades específicas en la metodología de experimentación). De esta forma, el éxito de una sola de las pruebas determina que la especie se considere biológicamente activa, ya que posee los metabolitos secundarios responsables de ejercer la actividad en cuestión, aunque el resto de los ensayos realizados muestren resultados negativos. Estas diferencias resultan fundamentales a la hora de seleccionar el método de extracción, la parte de la planta y los modelos de bioactividad a evaluar con el propósito de alcanzar resultados que muestren, en su real dimensión, la potencialidad del género en estudio. Los órganos más estudiados de las especies del género fueron las partes aéreas secas, hojas secas, planta entera fresca, corteza seca y semillas (31,8%, 21,0%, 13,4%, 12,1% y 6,4% de menciones, respectivamente). Así, de 15 especies estudiadas, 9 de ellas presentan estudios de actividad antimicrobiana y del efecto citotóxico para las hojas. Por otra parte, extractos de la corteza del tronco se evaluaron para 5 especies y también se estudiaron las semillas de 3 especies. En relación al

estudio de la actividad antimicrobiana, es importante señalar que se ensayaron los extractos de seis especies del género frente a una batería de microorganismos, principalmente *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris* (12,24%, 8,16%, 8,16%, 5,10%, 4,08% y 4,08 %, respectivamente). El 25,5% de los ensayos realizados mostraron resultados positivos; el porcentaje de ensayos negativos fue del 73,5 % y el resto corresponde a resultados dudosos, lo que indica que, en general, las especies de este género no son fuertemente activas frente a bacterias y hongos (Chemicals Abstracts Data Base, 2002; Med-Line, 2003).

Si se agrupan los blancos antibacteriano, antifúngico y antiviral, se puede afirmar que de 15 especies estudiadas, 10 de ellas aparecen registradas en la literatura por haberse ensayado su posible actividad antimicrobiana. Dicho número representa más del 60% del total de especies que se han evaluado biológicamente. Los extractos polares obtenidos con el uso de metanol, agua y etanol fueron los más activos: 46,6%, 19% y 15,5%, respectivamente; la mayor cantidad de resultados positivos se obtuvo en ensayos frente a bacterias y hongos. De forma particular, la actividad antibacteriana y antifúngica son, por sí solas, las acciones biológicas más estudiadas en especies de *Erythroxylum*. En ambos casos, la mayoría de los ensayos realizados han ofrecido algún resultado positivo; sin embargo, la proporción que representan los resultados positivos respecto al total de ensayos realizados es considerablemente baja. Esto puede indicar que quizás muchas de las especies evaluadas poseen metabolitos secundarios activos contra estos microorganismos, pero que en todos los ensayos no se utiliza la parte de la planta adecuada o, que el método de extracción utilizado no fue el idóneo o, que las bacterias u hongos empleados no son susceptibles a los metabolitos secundarios presentes en el extracto (Chemicals Abstracts Data Base, 2002; Med-Line, 2003).

Para la realización de este tipo de análisis, resulta evidente la importancia capital que posee el registro de resultados negativos y equivocados que se han

obtenido, más allá de la mención única de los resultados positivos que se publican, lo que puede dar una idea errónea en cuanto al comportamiento bioactivo en otras especies del género. Así, un estudio que se inicia con la elección de un blanco farmacológico o clínico establecido puede servirse de este tipo de análisis para estimar la efectividad probable de un grupo de géneros y apoyarse en ello para realizar una selección más rigurosa. Los tipos de extractos más comúnmente utilizados para la realización de estos ensayos fueron aquellos obtenidos con los disolventes siguientes: metanol, agua, etanol y éter de petróleo, que representan el 37,6; 24,2; 14,6 y 8,9%, respectivamente. La evaluación del efecto tóxico y citotóxico se desarrolló en 9 especies de este género, de las cuales tres resultaron ser especies tóxicas al menos en los extractos ensayados, con la parte de la planta que se eligió para la realización del extracto. Es importante señalar que los extractos evaluados en estos ensayos se prepararon con agua, metanol y etanol, entre otros. En consecuencia, puede concluirse que, en general, las especies del género *Erythroxylum* no resultan. Por otro lado, extractos de varias de las plantas pertenecientes al género se evaluaron frente a 30 trastornos diferentes y el 37% de los ensayos resultaron positivos. De ellos, los órganos de la planta más empleados fueron hojas secas, corteza seca, planta entera y hoja fresca, con menciones del 31,0%, 22,4%, 15,5% y 12,0%, respectivamente. Se puede plantear que el género *Erythroxylum* se ha estudiado científicamente muy poco a nivel mundial; muestra de ello es la relativamente baja información reflejada en las bases de datos consultadas con relación al total de especies del género que existen en el mundo. Desde el punto de vista fitoquímico, se han mencionado los estudios sobre 56 especies, para las que se registra con mayor abundancia la presencia de alcaloides, terpenoides y flavonoides como grupos químicos fundamentales. Las bases de datos mencionan el uso etnomédico de 16 especies de este género, las que se han utilizado como estimulante y para producir euforia, aliviar la fatiga y los desórdenes estomacales. Con respecto a las acciones biológicas, se han estudiado 15 especies del género y las acciones biológicas evaluadas con mayor frecuencia fueron el efecto citotóxico, antibacteriano y antiviral. Existen 16

patentes enmarcadas en: EE.UU., Japón y Gran Bretaña, las cuales están referidas a su uso fundamentalmente como herbicida, antimicrobiano, contra el estrés oxidativo y para la anorexia. Finalmente, se debe mencionar que en el período de 1981- 2000 los artículos publicados de corte fitoquímico son más abundantes que aquellos de carácter etnomédico y biológico. (Chemicals Abstracts Data Base, 2002; Med-Line, 2003).

1.5. HIPÓTESIS

El extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* tiene efecto antiinflamatorio en ratas con inducción de inflamación en el nódulo pedal con carragenina y lóbulo auricular con xylol cuando es administrado por vía oral.

1.6. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* en ratas.

Objetivos Específicos:

- Inducir la inflamación en el nódulo subplantar de la rata por carragenina.
- Inducir la inflamación en el lóbulo auricular de la rata por xylol.
- Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* en la inflamación en el nódulo subplantar en ratas.
- Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* en la inflamación en el lóbulo auricular en ratas.

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:

GRUPOS	TRATAMIENTOS
I	Solución de suero fisiológico 2 mL/Kg
II	Diclofenaco 50 mg/kg
III	Dexametasona 4 mg/kg
IV	Extracto de coca (50 mg /kg).
V	Extracto de coca (250 mg /kg).
VI	Extracto de coca (500 mg /kg).

2.2. Población y muestra

Población:

- Ratas Albinas Cepa Holtzmann del biotério del INS Lima-Chorrillos

Muestra:

- Ratas Albinas Cepa Holtzmann: 30 unidades

2.2.1. Técnicas e instrumentos de investigación

2.2.1.1. Recolección de la planta, obtención y estudio fitoquímico del extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca*.

2.2.1.1.1. Colecta de la muestra vegetal

Las hojas de coca fueron adquiridas en la Empresa Nacional de la Coca Sociedad Anónima (ENACO). Lima-Perú.

2.2.1.1.2. Obtención del extracto (CYTED 1995).

Para la preparación del extracto alcohólico, las hojas de *Erythroxylum coca* 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 metanol 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, fue denominado extracto metanólico, el que 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 metanólico *Erythroxylum coca* se realizó en 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 Gelatina, tricloruro férrico, Dragendorff, Molisch, NaOH 10%, Vainillin sulfúrico, Liebermann, Shinoday Ninhidrina, Para determinar cualitativamente la presencia y cantidad de metabolitos secundarios presentes en el extracto, utilizando la siguiente codificación: Ausencia(-), Poca cantidad (+), Regular Cantidad (++) , Abundante cantidad (+++).

2.2.1.2. Determinación del efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca*

2.2.1.2.1. Inducción experimental de la inflamación.

Se utilizaron 30 ratas albinas cepa Holtzmann ente 175 ± 25 g de peso corporal. Las cuales procedieron del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Lima-Chorrillos), las cuales fueron aclimatadas 7 días antes de la experimentación y fueron alojadas en jaulas metálicas con alimento balanceado en pellets (ratonina) y agua a libertad a temperaturas 25 ± 1 °C, con 12 horas ciclo luz / oscuridad y humedad relativa aproximadamente 60%, luego fueron distribuidos aleatoriamente en 6 grupos de cinco ratas cada uno, donde todos recibieron carragenina 0.1 ml al 1% inyectada en la aponeurosis subplantar (Winter, 1962), además de xylol 20 µg aplicada vía tópica en el lóbulo auricular (CYTED, 1995), inmediatamente recibieron los tratamientos siguientes:

- El grupo 01 recibió SSF 2 mL/Kg
- El grupo 02 recibió Diclofenaco 50 mg/kg
- El grupo 03 recibió Dexametasona 4 mg/kg
- El grupo 04 recibió extracto de coca (50 mg /kg).
- El grupo 05 recibió extracto de coca (250 mg /kg).
- El grupo 06 recibió extracto de coca (500 mg /kg).

Para la evaluación del efecto antiinflamatorio se tomaron las medidas del volumen del nódulo subplantar de las ratas a 1, 3 y 6 horas, haciendo uso de un pletismómetro digital, mientras que para la evaluación del efecto antiinflamatorio en el lóbulo auricular se anestesió a las ratas haciendo uso de una cámara de vidrio conteniendo éter y se procedió a retirarles una porción circular del lóbulo auricular haciendo uso de un sacabocados, para luego ser pesadas en una balanza digital.

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. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Erythroxylum coca*.

Reacción de Identificación	Metabolito Secundario	Cantidad
Tricloruro férrico	Compuestos Fenólicos	+++
Dragendorff	Alcaloides	+++
Shinoda	Flavonoides	+++

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

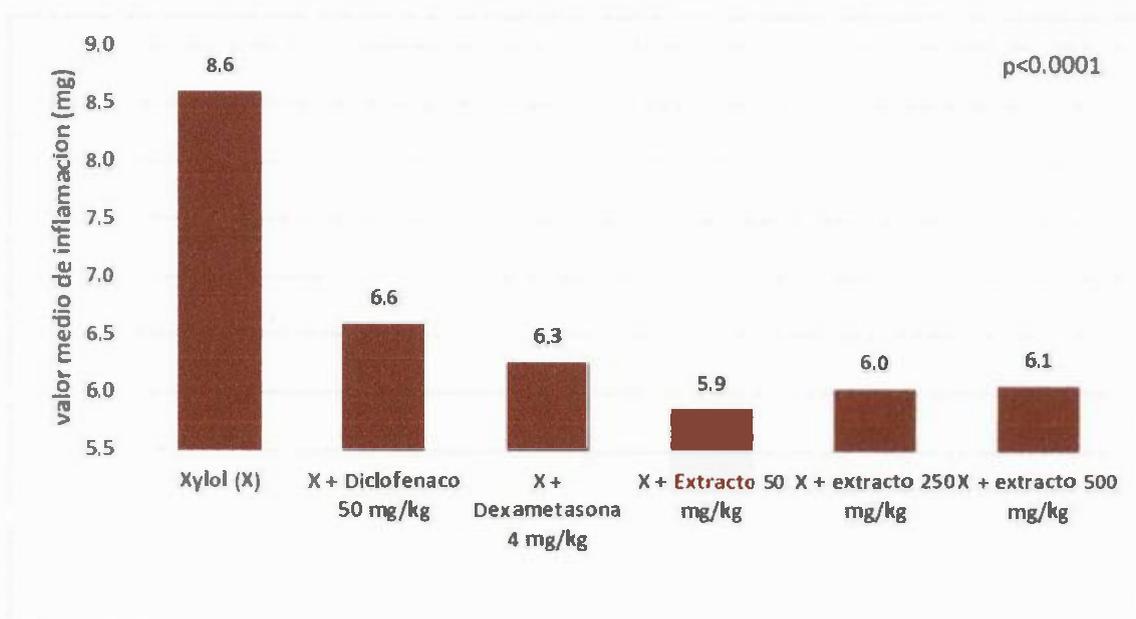


Figura N° 01. Valor medio de la masa de los discos auriculares al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de *Eritroxylon coca* sobre el edema auricular inducido por xylol en ratas.

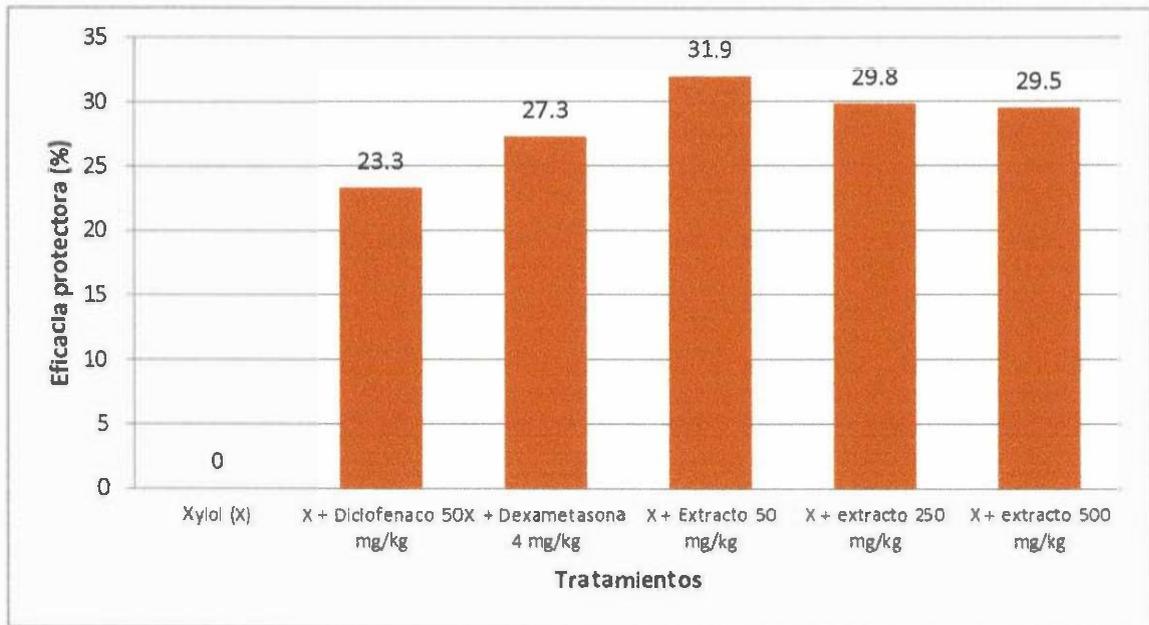


Figura N° 02. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto metanólico de *Erythroxylon coca* sobre el edema auricular inducido por xylol en ratas.

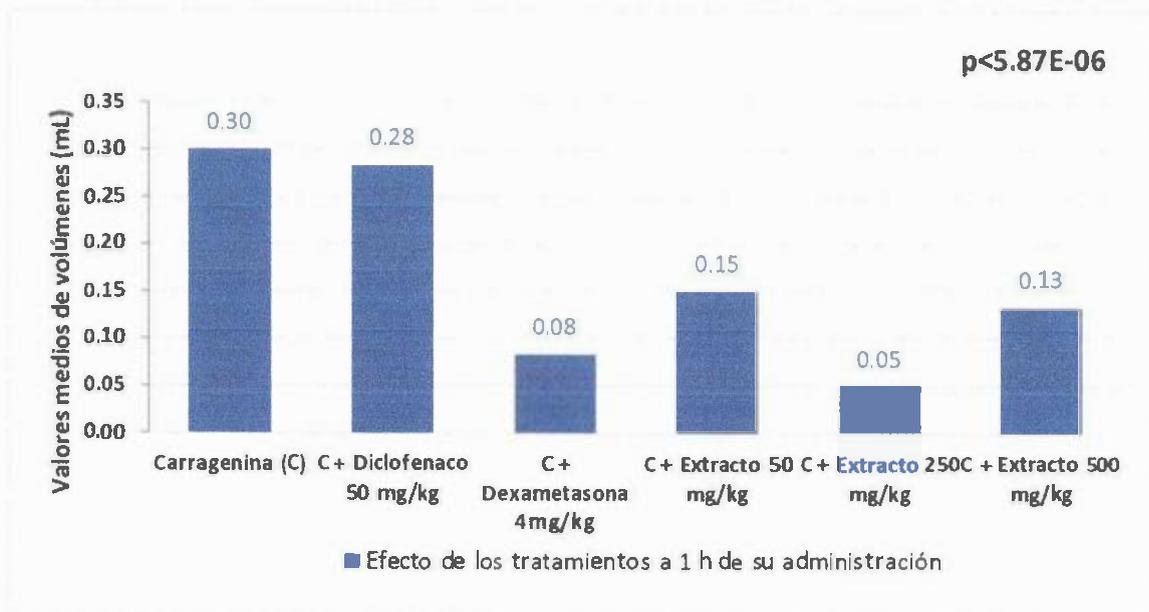


Figura N° 03. Valores medios de los volúmenes (mL.) del nódulo subplantar de las ratas al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de *Erythroxylon coca*, después de 1 h de tratamiento.

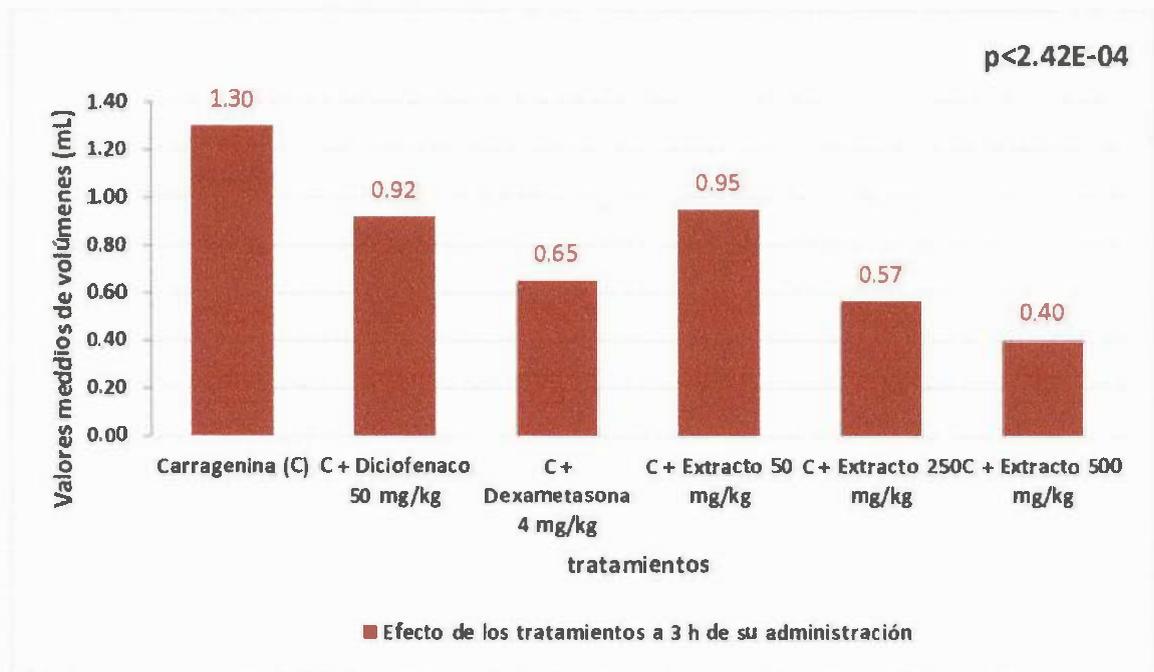


Figura N° 04. Valores medios de los volúmenes (mL) del nódulo subplantar de las ratas al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de *Erythroxylon coca*, después de 3 h de tratamiento.

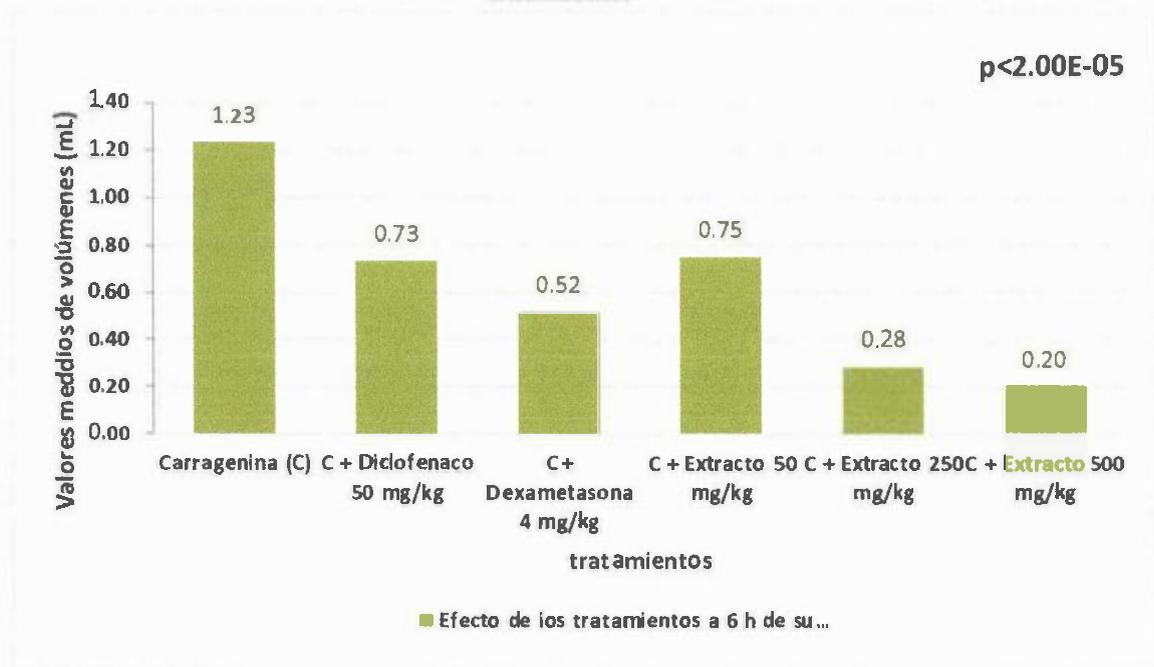


Figura N° 05. Valores medios de los volúmenes (mL) del nódulo subplantar de las ratas al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de *Erythroxylon coca*, después de 6 h de tratamiento.

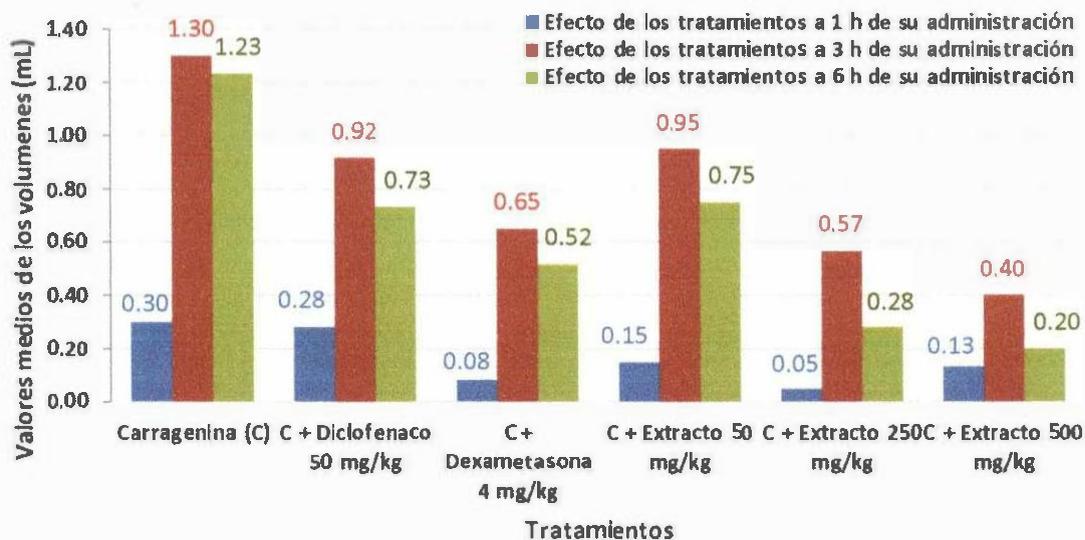


Figura N° 06. Gráfico comparativo de los valores medios de los volúmenes (mL) del nódulo subplantar de las ratas al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de *Erythroxylon coca*, después de 1 h, 3 h y 6 h de tratamientos.

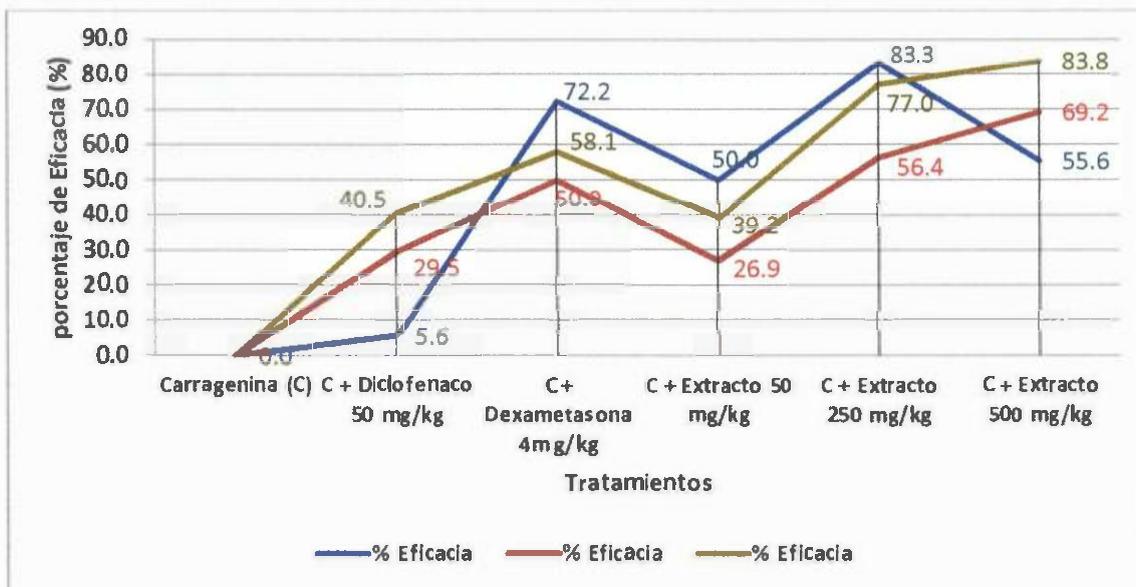


Figura N° 07. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria del extracto metanólico de *Eritroxylon coca* sobre el edema subplantar inducido por carragenina en ratas.

IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se muestran los resultados del estudio fitoquímico del extracto metanólico de las hojas de coca evidenció contener una gran cantidad de alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides (Tabla 01). 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 pivotales (Kim, 2004; Sakata, 2003).

Al evaluar el efecto antiinflamatorio por el método del lóbulo auricular inducido por xylol evidencia que existe un efecto protector del extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca* a dosis de 50 mg/Kg frente al agente flogógeno xylol (Figura 01), lo que representa un 31.9% de eficacia antiinflamatoria (Figura 02).

Al evaluar el efecto antiinflamatorio por el método del nódulo subplantar inducido por carragenina, se observa que las tres primeras horas posterior a su administración, produce un comportamiento bifásico, en la primera hora (primera fase), registra un incremento gradual del edema (Figura 03, 04 y 05), así mismo durante las tres primeras horas (segunda fase), se caracteriza por un incremento abrupto del edema a partir de los 90 minutos (Vinegar, 1969). Además de observarse mayor efecto antiinflamatorio del extracto de las hojas de coca con un porcentaje de eficacia de 83.3% (250 mg/kg) durante la primera hora, 83.8% (500 mg/kg) durante la tercera hora y 69.2% (500 mg/Kg) durante la sexta hora (Figura 06 y 07).

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 polihidroxilados actúan preferentemente por la vía de 5-lipooxigenasa, mientras que los menos hidroxilados 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 (PLA2) 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 y nódulo subplantar en ratas se fundamenta a la posible presencia de las flavonas, *chrysin* y apigenina en el extracto metanólico de coca, además de la presencia de flavonoles e isoflavonas (Kim, 2008).

V. CONCLUSIONES

En condiciones experimentales se ha demostrado que el extracto metanólico de las hojas de *Erythroxylum coca*, posee efecto antiinflamatorio inducido por carragenina y xylol en ratas.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar estudios de seguridad, que permitan aplicar este producto natural en investigaciones de tipo clínico.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aherne, S., O'Brien, N. (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*. 18:75-81.
- Asad, S., Singh, S., Ahmad, A., Hadi, S. (2006). Flavonoids: antioxidants in diet and potential anticancer agents. *Medical Science*.
- 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.
- Board of Trustees University of Illinois NAPRALERT (SM) (1975-2003) Database: Programme for Collaborative Research in the Pharmaceutical Sciences, Chicago, EE.UU.
- 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
- Chemical Abstracts Database (until 2002) on CD and printed version, American Chemical Society, USA.
- Collazos, C., Urquieta, R., Alvistur, E. (1975). Nutrición y coqueo. *Rev Viernes Médico*. 16(1):4.

- Corns, C.M. (2003). Herbal remedies and clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem.* 40:489– 507.
- Cronquist, A. (1988). *The evolution and classification of flowering plants.* New York: *The New York Botanical Garden*, 555.
- 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
- De Groot, H., Raven, C. (1998). Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol*, 12:249-55.
- Duke, J., Aulik, D., Plowman, T. (1975). Nutritional value of coca. *Bot Mus Leaflet Harv Univ.* (24):113-9.
- Falcon, M., (1993). *Plantas medicinales y sus aplicaciones.* Fondo editorial. Lima Biblioteca Nacional del Perú
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., Guo, Z. (1985). *Medicinal Plants in Therapy.* Bull. Of the World Health Organization. 63(6):965 - 981.
- 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 Ginebra" *Rev Cubana Invest Biomed*, 21(3):214-6.
- 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.
- Haysteen, B. (1983). Flavonoids. A class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol*, 32:1141-8.

- Index Kewensis Detailed Report (1998) Base de Datos en CD-ROM, Gran Bretaña.
- 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.
- Kuskoski, M., Asuero, A., García, C., Troncosom A. (2004). *Actividad Antioxidante de pigmentos antociánicos. En Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 24 (4): 691 – 693.
- Kmietowicz, P. (2002). La OMS advierte de la amenaza de enfermedad cardiaca al mundo en desarrollo. *BMJ*, 325:853. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12386021>
- Li E. (2010). El Futuro de las Plantas Medicinales del Altiplano y los Valles Centrales de los Andes. 2005. Citado el 09 noviembre del 2010. Disponible en http://www.unido.org/fileadmin/import/69934PERU_Informe_final_plantas_medicinales_2vf.pdf
- 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.
- Manthey, J., Grohmann, K., Guthrie, N. (2001). *Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. Curr Med Chem.* 8:135-53.

- Marcia, A., Jerome, P., Kassirer, D. (2008). Medicina alternativa. Los riesgos de remedios no probados, no regulados. Consultado el 18 de agosto del 2008. N Engl J Med. 2007 Ago; 12(2): Disponible en: <http://www.homowebensis.com/archivos/editorial/>
- 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.
- 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.
- Pelzer, L. E., Guardia, T., Juárez, A. O., Guerreiro, E. (1988). Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. 53: 421-424.
- Penny, M., Zavaleta, A., Lemay, M., Liria, M., Huaylinas, M., Alming, M., et al. (2009). Can coca leaves contribute to improving the nutritional status of the Andean population? *Food Nutrit Bull*. 30(3):205-16. 16.
- Pérez, M., Cid, M., Méndez, R., Rodríguez, M., Arboléiz, M. (2007). *Proposal of guideline for clinical trial protocols with herbal drugs. J Biomed*, citado 1 Ene 2007, Disponible en: <http://biomed.uninet.edu/2007/n1/perez.html>
- Prieto, S., G. Garrido, J.A. González & J. Molina (2002). *Revista CNIC. Ciencias Biológicas* 33: 99-116.
- 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.

- Raj, K., Sripal, M., Chauluvadi, M., Krishna, D. (2001). Bioflavoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian Journal of Pharmacology*. 33:2-16.
- Ródenas, J., Mitjavila, M.T., Carbonell, T. (1995). Simultaneous generation of nitric oxide and superoxide by inflammatory cells in rats. *Free Rad Biol Med*. 18(5):869-75.
- Roig T. J. (1965) "*Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba*". Ed. Ciencia y Técnica, Instituto del Libro, La Habana. págs. 54-56.
- 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.
- Salama, A.M., J.E. Calderson & M. Sanchez (1994). *Rev. Colomb. Cienc. Quim.-Farm*. 22: 27-30.
- 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.
- Tosi, J. (1990) Zonas de vida natural del Perú. Folleto editado por Instituto Interamericano de ciencias agrícolas. OEA Zona Andina. Biblioteca Nacional del Perú.
- US National Library of Medicine (2003) MEDLINE (en línea). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi> (consulta: junio, 2003).
- Villar, M., Villavicencio, O. (2001). Manual de fitoterapia. EsSalud. OPS. Lima. p.153-156.
- Villaescusa, C. (2000) La adormidera. Una fuente de alcaloides de extraordinario interés. *AFT*. 4(4):252-9.

Vinegar, H. (1969). Biphasic development of carrageen in edema in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 166(1):99-103.

Winter, C.A., E.A. Risley & C.W. Nuss. (1962). Carrageenan-induced oedema in hind paw of rats-an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of Society Experimental Biology Medicine*. 111: 544 - 547.

VIII. ANEXOS Y APÉNDICES

Anexo 01. Datos obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* por el método del edema auricular inducido por xylol en ratas.

Nº	Tratamientos	mg	Normal	Código	Peso Inf(mg)	DifInf-Norm
1	SSF	4.1	4.1	0	4.1	0
2	SSF	5.1	5.1	0	5.1	0
3	SSF	4.2	4.2	0	4.2	0
4	SSF	4.5	4.5	0	4.5	0
5	SSF	4.3	4.3	0	4.3	0
6	SSF	4.1	4.1	0	4.1	0
7	SSF	5.1	5.1	0	5.1	0
8	SSF	4.2	4.2	0	4.2	0
9	SSF	4.5	4.5	0	4.5	0
10	SSF	4.3	4.3	0	4.3	0
11	Xylol (X)	8.2	4.1	1	8.2	4.1
12	Xylol (X)	8.7	5.1	1	8.7	3.6
13	Xylol (X)	7.2	4.2	1	7.2	3
14	Xylol (X)	8.9	4.5	1	8.9	4.4
15	Xylol (X)	9.2	4.3	1	9.2	4.9
16	Xylol(X)	9.8	4.1	1	9.8	5.7
17	Xylol (X)	7.7	5.1	1	7.7	2.6
18	Xylol (X)	9	4.2	1	9	4.8
19	Xylol (X)	8.6	4.5	1	8.6	4.1
20	Xylol (X)	8.8	4.3	1	8.8	4.5
21	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	10	4.1	2	10	5.9
22	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	6.7	5.1	2	6.7	1.6
23	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	6.2	4.2	2	6.2	2
24	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	6.9	4.5	2	6.9	2.4
25	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	5.1	4.3	2	5.1	0.8
26	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	6	4.1	2	6	1.9
27	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	5.8	5.1	2	5.8	0.7
28	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	7	4.2	2	7	2.8
29	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	5.7	4.5	2	5.7	1.2
30	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	6.6	4.3	2	6.6	2.3
31	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	4.7	4.1	3	4.7	0.6
32	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	5	5.1	3	5	-0.1
33	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	4.4	4.2	3	4.4	0.2

34	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	7.8	4.5	3	7.8	3.3
35	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	6.8	4.3	3	6.8	2.5
36	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	6.8	4.1	3	6.8	2.7
37	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	6.8	5.1	3	6.8	1.7
38	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	7.8	4.2	3	7.8	3.6
39	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	5.5	4.5	3	5.5	1
40	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	7	4.3	3	7	2.7
41	Extracto 50 mg/kg	6.2	4.1	4	6.2	2.1
42	Extracto 50 mg/kg	5.6	5.1	4	5.6	0.5
43	Extracto 50 mg/kg	6.1	4.2	4	6.1	1.9
44	Extracto 50 mg/kg	5.8	4.5	4	5.8	1.3
45	Extracto 50 mg/kg	6.1	4.3	4	6.1	1.8
46	Extracto 50 mg/kg	7	4.1	4	7	2.9
47	Extracto 50 mg/kg	4.4	5.1	4	4.4	-0.7
48	Extracto 50 mg/kg	6	4.2	4	6	1.8
49	Extracto 50 mg/kg	5.8	4.5	4	5.8	1.3
50	Extracto 50 mg/kg	5.6	4.3	4	5.6	1.3
51	Extracto 250 mg/kg	4.9	4.1	5	4.9	0.8
52	Extracto 250 mg/kg	6.2	5.1	5	6.2	1.1
53	Extracto 250 mg/kg	6.9	4.2	5	6.9	2.7
54	Extracto 250 mg/kg	5.9	4.5	5	5.9	1.4
55	Extracto 250 mg/kg	6	4.3	5	6	1.7
56	Extracto 250 mg/kg	5.4	4.1	5	5.4	1.3
57	Extracto 250 mg/kg	6.8	5.1	5	6.8	1.7
58	Extracto 250 mg/kg	6.7	4.2	5	6.7	2.5
59	Extracto 250 mg/kg	5.8	4.5	5	5.8	1.3
60	Extracto 250 mg/kg	5.8	4.3	5	5.8	1.5
61	Extracto 500 mg/kg	6.5	4.1	6	6.5	2.4
62	Extracto 500 mg/kg	5.2	5.1	6	5.2	0.1
63	Extracto 500 mg/kg	5.9	4.2	6	5.9	1.7
64	Extracto 500 mg/kg	6.4	4.5	6	6.4	1.9
65	Extracto 500 mg/kg	5.7	4.3	6	5.7	1.4
66	Extracto 500 mg/kg	7.2	4.1	6	7.2	3.1
67	Extracto 500 mg/kg	6.5	5.1	6	6.5	1.4
68	Extracto 500 mg/kg	6.6	4.2	6	6.6	2.4
69	Extracto 500 mg/kg	6.8	4.5	6	6.8	2.3
70	Extracto 500 mg/kg	5.6	4.3	6	5.6	1.3

Anexo 02. Estadística descriptiva de los datos obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* por el método del edema auricular inducido por xylol en ratas.

Tratamiento	Valor medio (mg)	Error estándar	Intervalo confianza 95%		Mínimo	Máximo
			Inferior	Superior		
Xylol (X)	8.6	±0.2	8.1	9.1	7.2	9.8
X + Diclofenaco 50 mg/kg	6.6	±0.4	5.6	7.6	5.1	10.0
X + Dexametasona 4 mg/kg	6.3	±0.4	5.4	7.2	4.4	7.8
X + Extracto 50 mg/kg	5.9	±0.2	5.4	6.3	4.4	7.0
X + extracto 250 mg/kg	6.0	±0.2	5.6	6.5	4.9	6.9
X + extracto 500 mg/kg	6.1	±0.2	5.5	6.6	4.6	7.2

Anexo 03. Análisis de varianza (ANOVA) de los datos obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* por el método del edema auricular inducido por xylol en ratas.

Tratamiento	Suma cuadrados	df	Media cuadrados	F	Sig.
Between Groups	52.9	5.0	10.6	11.8	0.00010
Within Groups	48.3	54.0	0.9		

Anexo 04. Análisis de múltiples comparaciones de los datos obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* por el método del edema auricular inducido por xylol en ratas..

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Carragenina (C)	C + Diclofenaco 50 mg/kg	2.0	0.4	0.00001526	1.2	2.9
Carragenina (C)	C + Dexametasona 4 mg/kg	2.4	0.4	0.00000087	1.5	3.2
Carragenina (C)	C + Extracto 50 mg/kg	2.8	0.4	0.00000003	1.9	3.6
Carragenina (C)	C + extracto 250 mg/kg	2.6	0.4	0.00000013	1.7	3.4
Carragenina (C)	C + extracto 500 mg/kg	2.5	0.4	0.00000017	1.7	3.4

* The mean difference is significant at the .05 level.

Anexo 05. Datos obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* por el método del nódulo subplantar inducido por carragenina en ratas.

N°	Tratamientos	Carragenina				Diferencia de las medidas		
		Vol basal	Vol1h	Vol3	Vol6	Delta1	Delta3	Delta3
1	Carragenina (C)	1.1	1.3	2.6	2.4	0.2	1.5	1.3
2	Carragenina (C)	1.4	1.6	2.2	2.2	0.2	0.8	0.8
3	Carragenina (C)	1.5	1.7	2.8	2.8	0.2	1.3	1.3
4	Carragenina (C)	1.5	1.9	2.7	2.5	0.4	1.2	1
5	Carragenina (C)	1.4	1.8	2.9	2.9	0.4	1.5	1.5
6	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	1.4	1.6	2.1	2	0.2	0.7	0.6
7	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	1.2	1.5	1.8	1.6	0.3	0.6	0.4
8	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	1.2	1.6	1.7	1.5	0.4	0.5	0.3
9	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	1.3	1.5	2.4	2.2	0.2	1.1	0.9
10	Diclofenaco 50 mg/kg (D)	1.3	1.6	2.6	2.4	0.3	1.3	1.1
11	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	1.3	1.4	1.7	1.5	0.1	0.4	0.2
12	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	1.3	1.3	1.6	1.4	0	0.3	0.1
13	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	1.2	1.3	2.2	2.2	0.1	1	1
14	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	1.3	1.4	2.5	2.5	0.1	1.2	1.2
15	Dexametasona 4 mg/kg (DE)	1.5	1.6	2	1.8	0.1	0.5	0.3
16	Extracto 50 mg/kg	1.2	1.5	2.5	2.3	0.3	1.3	1.1
17	Extracto 50 mg/kg	1.9	2	2.5	2.3	0.1	0.6	0.4
18	Extracto 50 mg/kg	1.5	1.7	2.2	2	0.2	0.7	0.5
19	Extracto 50 mg/kg	1.3	1.4	2.2	2	0.1	0.9	0.7
20	Extracto 50 mg/kg	1.3	1.4	2.4	2.2	0.1	1.1	0.9
21	Extracto 250 mg/kg	1.5	1.6	1.9	1.7	0.1	0.4	0.2
22	Extracto 250 mg/kg	1.5	1.5	1.9	1.7	0	0.4	0.2
23	Extracto 250 mg/kg	1.7	1.7	1.9	1.7	0	0.2	0
24	Extracto 250 mg/kg	1.5	1.5	2.7	2	0	1.2	0.5
25	Extracto 250 mg/kg	1.9	2	2.5	2.3	0.1	0.6	0.4
26	Extracto 500 mg/kg	1.3	1.5	1.7	1.5	0.2	0.4	0.2
27	Extracto 500 mg/kg	1.7	1.7	2.3	2.1	0	0.6	0.4
28	Extracto 500 mg/kg	1.2	1.3	1.7	1.5	0.1	0.5	0.3
29	Extracto 500 mg/kg	1.5	1.6	2	1.8	0.1	0.5	0.3
30	Extracto 500 mg/kg	1.7	1.9	1.9	1.7	0.2	0.2	0

Anexo 06. Estadística descriptiva de los datos obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* por el método del nódulo subplantar inducido por carragenina en ratas.

Diferencia de pata inflamada - basal	Tratamiento	N	Valor medio	Error estándar	Intervalo confianza 95%		Mínimo	Máximo
					Inferior	Superior		
Diferencia 1 h	Carragenina (C)	6	0.3	0.04	0.2	0.4	0.2	0.4
	C + Diclofenaco 50 mg/kg	6	0.3	0.03	0.2	0.4	0.2	0.4
	C + Dexametasona 4 mg/kg	6	0.1	0.02	0.0	0.1	0.0	0.1
	C + Extracto 50 mg/kg	6	0.2	0.03	0.1	0.2	0.1	0.3
	C + Extracto 250 mg/kg	6	0.1	0.02	0.0	0.1	0.0	0.1
	C + Extracto 500 mg/kg	6	0.1	0.03	0.0	0.2	0.0	0.2
	Diferencia 3 hrs	Carragenina (C)	6	1.3	0.11	1.0	1.6	0.8
C + Diclofenaco 50 mg/kg		6	0.9	0.15	0.5	1.3	0.5	1.3
C + Dexametasona 4 mg/kg		6	0.7	0.15	0.3	1.0	0.3	1.2
C + Extracto 50 mg/kg		6	1.0	0.11	0.7	1.2	0.6	1.3
C + Extracto 250 mg/kg		6	0.6	0.14	0.2	0.9	0.2	1.2
C + Extracto 500 mg/kg		6	0.4	0.07	0.2	0.6	0.2	0.6
Diferencia 6 hrs		Carragenina (C)	6	1.2	0.11	0.9	1.5	0.8
	C + Diclofenaco 50 mg/kg	6	0.7	0.14	0.4	1.1	0.3	1.1
	C + Dexametasona 4 mg/kg	6	0.5	0.19	0.0	1.0	0.1	1.2
	C + Extracto 50 mg/kg	6	0.8	0.11	0.5	1.0	0.4	1.1
	C + Extracto 250 mg/kg	6	0.3	0.07	0.1	0.5	0.0	0.5
	C + Extracto 500 mg/kg	6	0.2	0.07	0.0	0.4	0.0	0.4

Anexo 07. Análisis de varianza (ANOVA) de los datos obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* por el método del nódulo subplantar inducido por carragenina en ratas.

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Diferencia 1 h	Between Groups	0.32	5	0.064	10.6666667	5.87E-06
	Within Groups	0.18	30	0.006		
	Total	0.5	35			
Diferencia 3 hrs	Between Groups	3.13805556	5	0.62761111	6.79314492	2.42E-04
	Within Groups	2.77166667	30	0.09238889		
	Total	5.90972222	35			
Diferencia 6 hrs	Between Groups	4.23805556	5	0.84761111	9.28606208	2.00E-05
	Within Groups	2.73833333	30	0.09127778		
	Total	6.97638889	35			

Anexo 08. Análisis de múltiples comparaciones de los datos obtenidos al evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *Erithroxylon coca* por el método del nódulo subplantar inducido por carragenina en ratas.

Dependent Variable	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Difer 1 h	Carragenina (C)	C + Dexam 4 mg/kg	0.22	0.04	0.0000	0.13	0.31
Difer 1 h	Carragenina (C)	C + Extr 50 mg/kg	0.15	0.04	0.0022	0.06	0.24
Difer 1 h	Carragenina (C)	C + Extr 250 mg/kg	0.25	0.04	0.0000	0.16	0.34
Difer 1 h	Carragenina (C)	C + Extr 500 mg/kg	0.17	0.04	0.0008	0.08	0.26
Difer 1 h	C + Diclof 50 mg/kg	C + Dexam 4 mg/kg	0.20	0.04	0.0001	0.11	0.29
Difer 1 h	C + Diclof 50 mg/kg	C + Extr 50 mg/kg	0.13	0.04	0.0056	0.04	0.22
Difer 1 h	C + Diclof 50 mg/kg	C + Extr 250 mg/kg	0.23	0.04	0.0000	0.14	0.32
Difer 1 h	C + Diclof 50 mg/kg	C + Extr 500 mg/kg	0.15	0.04	0.0022	0.06	0.24
Difer 1 h	C + Dexam 4 mg/kg	Carragenina (C)	-0.22	0.04	0.0000	-0.31	-0.13
Difer 1 h	C + Dexam 4 mg/kg	C + Diclof 50 mg/kg	-0.20	0.04	0.0001	-0.29	-0.11
Difer 1 h	C + Extr 50 mg/kg	Carragenina (C)	-0.15	0.04	0.0022	-0.24	-0.06
Difer 1 h	C + Extr 50 mg/kg	C + Diclof 50 mg/kg	-0.13	0.04	0.0056	-0.22	-0.04
Difer 1 h	C + Extr 50 mg/kg	C + Extr 250 mg/kg	0.10	0.04	0.0329	0.01	0.19
Difer 1 h	C + Extr 250 mg/kg	Carragenina (C)	-0.25	0.04	0.0000	-0.34	-0.16
Difer 1 h	C + Extr 250 mg/kg	C + Diclof 50 mg/kg	-0.23	0.04	0.0000	-0.32	-0.14
Difer 1 h	C + Extr 250 mg/kg	C + Extr 50 mg/kg	-0.10	0.04	0.0329	-0.19	-0.01
Difer 1 h	C + Extr 500 mg/kg	Carragenina (C)	-0.17	0.04	0.0008	-0.26	-0.08
Difer 1 h	C + Extr 500 mg/kg	C + Diclof 50 mg/kg	-0.15	0.04	0.0022	-0.24	-0.06
Difer 3 hrs	Carragenina (C)	C + Diclof 50 mg/kg	0.38	0.18	0.0369	0.02	0.74
Difer 3 hrs	Carragenina (C)	C + Dexam 4 mg/kg	0.65	0.18	0.0009	0.29	1.01
Difer 3 hrs	Carragenina (C)	C + Extr 250 mg/kg	0.73	0.18	0.0002	0.37	1.09
Difer 3 hrs	Carragenina (C)	C + Extr 500 mg/kg	0.90	0.18	0.0000	0.54	1.26
Difer 3 hrs	C + Diclof 50 mg/kg	Carragenina (C)	-0.38	0.18	0.0369	-0.74	-0.02
Difer 3 hrs	C + Diclof 50 mg/kg	C + Extr 500 mg/kg	0.52	0.18	0.0062	0.16	0.88
Difer 3 hrs	C + Dexam 4 mg/kg	Carragenina (C)	-0.65	0.18	0.0009	-1.01	-0.29
Difer 3 hrs	C + Extr 50 mg/kg	C + Extr 500 mg/kg	0.55	0.18	0.0038	0.19	0.91
Difer 3 hrs	C + Extr 250 mg/kg	Carragenina (C)	-0.73	0.18	0.0002	-1.09	-0.37
Difer 3 hrs	C + Extr 500 mg/kg	Carragenina (C)	-0.90	0.18	0.0000	-1.26	-0.54
Difer 3 hrs	C + Extr 500 mg/kg	C + Diclof 50 mg/kg	-0.52	0.18	0.0062	-0.88	-0.16
Difer 3 hrs	C + Extr 500 mg/kg	C + Extr 50 mg/kg	-0.55	0.18	0.0038	-0.91	-0.19
Difer 6 hrs	Carragenina (C)	C + Diclof 50 mg/kg	0.50	0.17	0.0075	0.14	0.86
Difer 6 hrs	Carragenina (C)	C + Dexam 4 mg/kg	0.72	0.17	0.0003	0.36	1.07
Difer 6 hrs	Carragenina (C)	C + Extr 50 mg/kg	0.48	0.17	0.0095	0.13	0.84

Difer 6 hrs	Carragenina (C)	C + Extr 250 mg/kg	0.95	0.17	0.0000	0.59	1.31
Difer 6 hrs	Carragenina (C)	C + Extr 500 mg/kg	1.03	0.17	0.0000	0.68	1.39
Difer 6 hrs	C + Diclof 50 mg/kg	Carragenina (C)	-0.50	0.17	0.0075	-0.86	-0.14
Difer 6 hrs	C + Diclof 50 mg/kg	C + Extr 250 mg/kg	0.45	0.17	0.0150	0.09	0.81
Difer 6 hrs	C + Diclof 50 mg/kg	C + Extr 500 mg/kg	0.53	0.17	0.0047	0.18	0.89
Difer 6 hrs	C + Dexam 4 mg/kg	Carragenina (C)	-0.72	0.17	0.0003	-1.07	-0.36
Difer 6 hrs	C + Extr 50 mg/kg	Carragenina (C)	-0.48	0.17	0.0095	-0.84	-0.13
Difer 6 hrs	C + Extr 50 mg/kg	C + Extr 250 mg/kg	0.47	0.17	0.0120	0.11	0.82
Difer 6 hrs	C + Extr 50 mg/kg	C + Extr 500 mg/kg	0.55	0.17	0.0037	0.19	0.91
Difer 6 hrs	C + Extr 250 mg/kg	Carragenina (C)	-0.95	0.17	0.0000	-1.31	-0.59
Difer 6 hrs	C + Extr 250 mg/kg	C + Diclof 50 mg/kg	-0.45	0.17	0.0150	-0.81	-0.09
Difer 6 hrs	C + Extr 250 mg/kg	C + Extr 50 mg/kg	-0.47	0.17	0.0120	-0.82	-0.11
Difer 6 hrs	C + Extr 500 mg/kg	Carragenina (C)	-1.03	0.17	0.0000	-1.39	-0.68
Difer 6 hrs	C + Extr 500 mg/kg	C + Diclof 50 mg/kg	-0.53	0.17	0.0047	-0.89	-0.18
Difer 6 hrs	C + Extr 500 mg/kg	C + Extr 50 mg/kg	-0.55	0.17	0.0037	-0.91	-0.19

* The mean difference is significant at the .05 level.