

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotechnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO TÓPICO DE UNA
CREMA A BASE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Azorella compacta* (Yareta)
EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. AREQUIPA-2019**

Tesis presentada por la Bachiller:

Huamaní Huamaní, Luz Marina

Para optar el Título Profesional de:

Químico- Farmacéutico

Asesor:

Q.F Torres Vela, Fernando

Arequipa – Perú

2020

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL

DE: HUAMANI HUAMANI, Luz Marina

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

"EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO TOPICO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE LA Azorella compacta (Yareta) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION. AREQUIPA-2019"

DICTAMINADORES: 1) Mgter. Angélica Corzo Salas 2) Mgter. Maria Elena Guillen Núñez

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por la recurrente, se ha procedido a la revisión del trabajo de investigación y hechas las observaciones y sugerencias correspondientes, consideramos que se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad
Atentamente

Firmas :

Fecha 26/11/2019

ASESOR: Q. F. Fernando Torres Vela

DICTAMEN DE ASESOR:

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación se ha asesorado el presente Trabajo de Investigación y después de efectuadas las observaciones, considero que el título debe cambiar a: "EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO TOPICO DE UNA CREMA A BASE DEL EXTRACTO ETANOLICO DE Azorella compacta (Yareta) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION AREQUIPA-2019". Luego de verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes considero se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.

Atentamente
Firma

Fecha 10-07-2020

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) Dr. José Villanueva Salas 3) Mgter. Angélica Corzo Salas
2) Mgter. María Elena Guillen Núñez

DICTAMEN DE BORRADOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, habiéndose revisado el presente Borrador de Tesis presentado por la recurrente y realizadas las correcciones indicadas; consideramos que el trabajo de Investigación se encuentra APTO para continuar con el trámite correspondiente, en conformidad al Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.
Atentamente.

Firma

Fecha 25/8/2020

JURADOS: Presidente
Vocal
Secretario

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha:

Hora:

Local: C- 402 (SUM)

DECANO

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi fuerza para seguir adelante en la vida, y mantenerme con salud y haberme permitido conocer a grandes compañeros durante mi preparación profesional.

A mis padres Sabina y Ambrosio por todo el apoyo y cariño, por haberme enseñado a salir adelante a pesar de los obstáculos y conseguir las metas propuestas.

A mi compañero y esposo: German por ser mi apoyo en los buenos y malos momentos y en especial a mi amado hijo Gabriel Jesús mi motivo de vida.

A mis hermanos por todo el cariño, consejos y su apoyo moral que siempre me brindaron cuando lo requerí.

Especial agradecimiento a Caty, Percy, Aida, mi segunda familia brindada por Dios Por todo el apoyo y cariño brindado.

Luz Marina

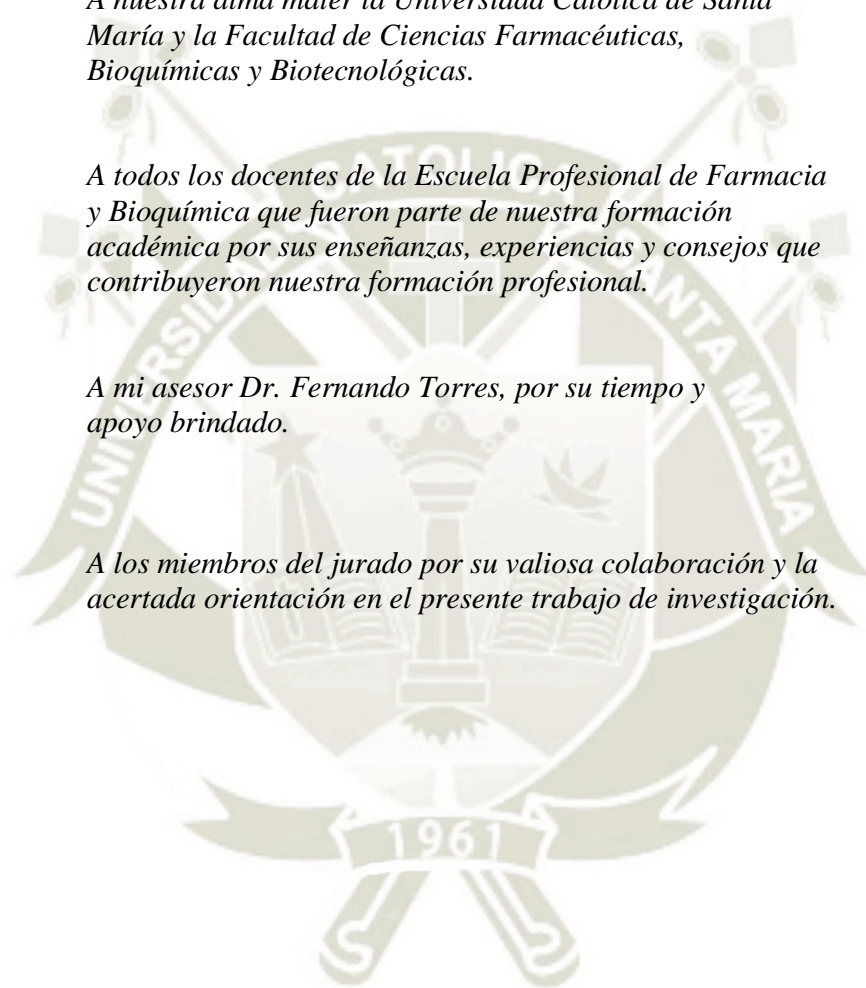
AGRADECIMIENTOS

A nuestra alma mater la Universidad Católica de Santa María y la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas.

A todos los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que fueron parte de nuestra formación académica por sus enseñanzas, experiencias y consejos que contribuyeron nuestra formación profesional.

A mi asesor Dr. Fernando Torres, por su tiempo y apoyo brindado.

A los miembros del jurado por su valiosa colaboración y la acertada orientación en el presente trabajo de investigación.



RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal determinar el efecto antiinflamatorio tópico de una crema a base del extracto etanólico obtenido de la planta *Azorella compacta* “yareta” en animales de experimentación, el trabajo se desarrolló en las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María (laboratorio F-303, H-202 y bioterio). *Azorella compacta* fue recolectada en la comunidad de La Paracza distrito Yanaquihua Provincia de Condesuyos. Se obtuvo el extracto etanólico de *Azorella compacta* “yareta”, mediante el método Soxhlet.

Se identificaron los principales grupos de metabolitos secundarios, por el método de cromatografía en capa fina, obteniendo la presencia de terpenos, flavonoides y ausencia de taninos y alcaloides. Luego se elaboró una crema al 10%. 20% y 30% con el extracto obtenido para comprobar cuál de estos tres provocaría un mejor pronóstico antiinflamatorio.

La inducción inflamatoria se realizó mediante la administración de carragenina como agente flogógeno, las evaluaciones se realizaron a la 1ra, 2da, 3ra y 4ta horas después de la inducción. Se utilizaron 24 ratas de experimentación distribuyéndolos en 6 tratamientos de 4 animales cada uno. Los grupos fueron: crema con extracto al 10%; crema con extracto al 20%; crema con extracto al 30%; diclofenaco gel 1%; crema base y carragenina. El procedimiento consistió en medir los volúmenes inflamatorios de la pata de cada animal con un pletismómetro digital, el experimento se ajusta a un diseño al azar y los datos se procesaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y el Test de Tukey.

Los volúmenes de inflamación medidos en mililitros, fueron convertidos a porcentajes de inflamación y disminución de la inflamación, este último valor permitió obtener las áreas bajo la curva de cada grupo experimental lo que posteriormente permitió realizar una comparación estadística adecuada.

El análisis de Test de Tukey para realizar comparaciones entre los grupos, nos permitió concluir que el grupo con mayor eficacia fue la crema con extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 30% ya que mantiene similitudes estadísticamente significativas con el grupo control positivo, no obstante, esta eficacia no es absoluta ya que también muestra similitudes con el tratamiento con eficacia intermedia, esto es, el grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 20%, por otra parte el grupo tratado con crema más extracto al 10% no tendría eficacia ya que presenta similitudes con el grupo control negativo.

Palabras claves: *Azorella compacta*, antiinflamatorio, yareta, inflamación, edema plantar, carragenina.



ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the topical anti-inflammatory effect of a cream based on the ethanolic extract obtained from the *Azorella compact* plant "yareta" in experimental animals. The work was carried out at the facilities of the Catholic University of Santa María (laboratory F-303, H-202, and bioterium). The *Azorella compacta* were collected in the community of La Paracza, Yanaquihua district, Condesuyos province. The ethanolic extract of *Azorella compact* "yareta", was obtained by the Soxhlet method.

The main groups of secondary metabolites were identified by the thin layer chromatography method, obtaining the presence of terpenes, flavonoids, and the absence of tannins and alkaloids. Then a cream was made with the extract at concentrations of 10%, 20%, and 30% each, in order to check which of these three would cause a better anti-inflammatory prognosis.

Inflammatory induction was carried out by administering carrageenan as a phylogenic agent, evaluations were made at the 1st, 2nd, 3rd, and 4th hours after induction. There were used 24 experimental rats, distributing them in 6 treatments of 4 animals each. The groups were: cream with 10% extract; cream with 20% extract; cream with 30% extract; diclofenac gel 1%; base cream and carrageenan. The procedure consisted of measuring the inflammatory volumes of the paws of each animal with a digital plethysmometer, the experiment has a randomized design, and the data were processed by analysis of variance (ANOVA) and the Tukey Test.

The volumes of inflammation measured in milliliters were converted to percentages of inflammation and decrease in inflammation, this last value allowed obtaining the areas under the curve of each experimental group, which subsequently allowed for an adequate statistical comparison.

The analysis of Tukey's test to make comparisons between the groups allowed us to conclude that the group with the highest efficacy was the cream with extract of *Azorella compacta* (yareta) at 30% since it maintains statistically significant similarities with the positive control group, however, this efficacy is not absolute since it also shows similarities with the treatment with intermediate efficacy, that is, the group treated with cream plus 20% *Azorella* (yareta) extract, on the other hand, the group treated with cream plus 10% extract it would not have efficacy since it presents similarities with the negative control group.

Keywords: *Azorella compacta*, anti-inflammatory, yareta, inflammation, plantar edema, carrageenan.

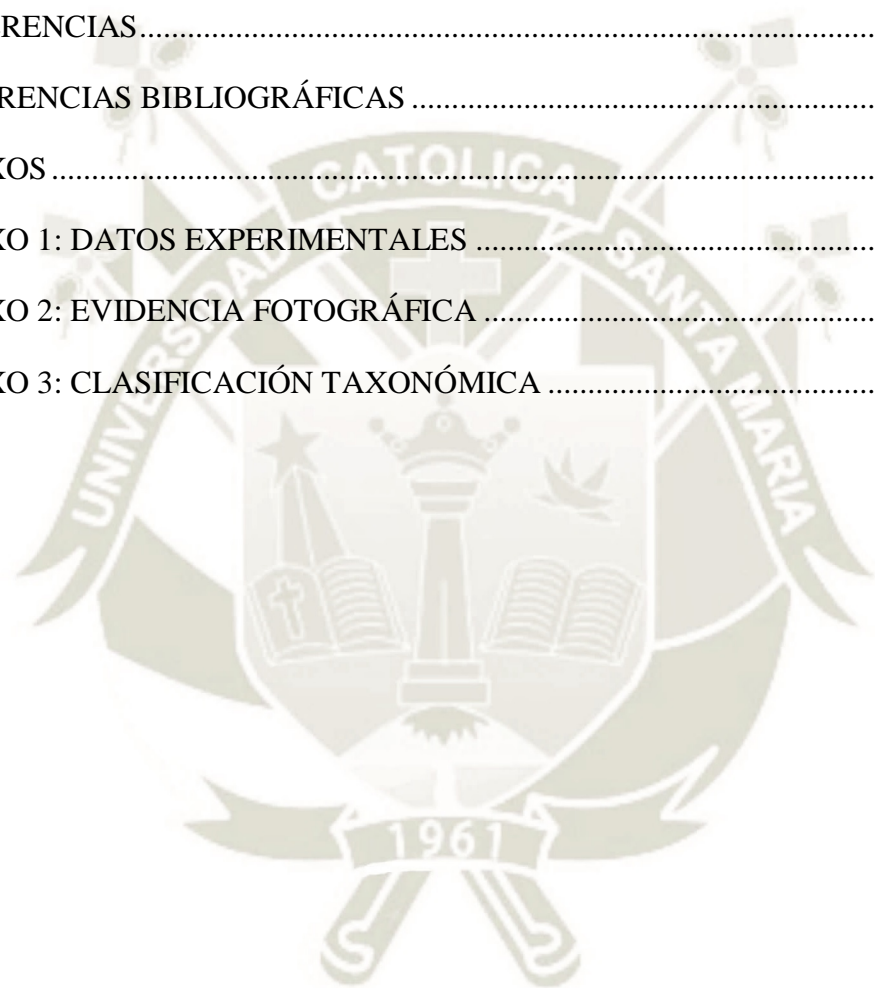


ÍNDICE

RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	
HIPÓTESIS	
OBJETIVOS	
OBJETIVO GENERAL	
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	
CAPÍTULO I.....	1
1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. ESPÉCIE DE ESTUDIO.....	1
1.1.1. Descripción.....	1
1.1.2. Ubicación taxonómica.....	2
1.1.3. Nombres comunes.....	2
1.1.4. Distribución.....	2
1.1.5. Composición química.....	4
1.1.6. Usos medicinales.....	5
1.2. INFLAMACIÓN.....	6
1.2.1. Introducción.....	6
1.2.2. Alteraciones principales de la inflamación.....	9
1.2.3. Clases de Inflamación.....	10
1.2.4. Mediadores Químicos de la Inflamación.....	11
1.2.5. Prueba del Edema Plantar en Rata Inducido por carregenina.....	13
1.2.6. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES).....	13
Diclofenaco.....	14
1.3. CREMAS.....	15
1.3.1. Composición de las cremas.....	15
1.3.2. Clasificación.....	16
CAPÍTULO II.....	17
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17

2.1.	LUGAR DE LA INVESTIGACION.....	17
2.2.	MATERIALES	17
2.2.1.	MATERIAL BOTANICO	17
2.2.2.	MATERIAL BIOLÓGICO.....	17
2.2.3.	MATERIAL DE LABORATORIO.....	17
2.3.	MATERIAL FARMACOLÓGICO	19
2.4.	DISEÑO EXPERIMENTAL	19
2.5.	MÉTODOS.....	22
2.5.1.	TRATAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL	22
2.5.2.	MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS Azorella compacta.....	22
2.5.3.	DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN	25
2.6.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR.....	25
2.6.1.	MÉTODO CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.....	25
2.6.2.	PREPARACIÓN DE LA FASE MÓVIL.....	27
2.6.3.	PREPARACIÓN DE PLACA CROMATOGRÁFICA	27
2.7.	PREPARACIÓN DE LA CREMA	28
2.8.	PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN CONDUCTORA.....	29
2.9.	INDUCCIÓN DEL EDEMA PLANTAR POR CARRAGENINA.....	30
2.10.	MEDICIÓN DEL EDEMA PLANTAR.....	30
2.11.	MÉTODO PARA LA EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA	31
2.11.1.	ESTANDARIZACIÓN DE LOS ANIMALES	31
2.11.2.	MEDICIÓN DE VALORES BASALES Y EXPERIMENTALES	31
2.12.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	31
2.12.1.	ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA).....	32
2.12.2.	PRUEBA TUKEY	32
	CAPÍTULO III	33
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
3.1.	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO.....	33
3.2.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR.....	34
3.2.1.	IDENTIFICACIÓN GENERAL	34
3.2.2.	TERPENOS	35
3.2.3.	FLAVONOIDES	36

3.3. ELABORACION DE LA CREMA.....	37
3.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO	37
3.4.1. Inducción del proceso inflamatorio	37
3.4.2. Evaluación de los tratamientos experimentales.....	40
DISCUSIÓN.....	50
CONCLUSIONES.....	51
SUGERENCIAS.....	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
ANEXOS	58
ANEXO 1: DATOS EXPERIMENTALES	58
ANEXO 2: EVIDENCIA FOTOGRÁFICA	64
ANEXO 3: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	66



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Azorella compacta</i> Phil.: a) Hábitad; b) Hojas; c) Flores y Frutos	3
Figura 2. Diterpenos del tipo mulinano y azorellano	4
Figura 3. Diterpenos del tipo mulinano	4
Figura 4. Escenarios de actuación de la inflamación.....	7
Figura 5. Vía inflamatoria genérica incluye, secuencialmente, inductores, sensores, mediadores y efectores.	8
Figura 6. Diseño experimental de medición de la respuesta antiinflamatoria de la crema a base de extracto de <i>Azorella compacta</i> en animales de experimentación.	21
Figura 7. Descripción del proceso	23
Figura 8. Obtención del extracto	24
Figura 9. Eliminación del disolvente.....	24
Figura 10. Inducción del edema	30
Figura 11. Identificación general.....	35
Figura 12. Identificación de terpenos	35
Figura 13. Identificación de flavonoides	36
Figura 14. Presentación de la crema.....	37
Figura 15. Efecto inflamatorio.....	38
Figura 16. Porcentajes de inflamación a las 3 horas de cada grupo experimental	38
Figura 17. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 10%	41
Figura 18. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 20%	42
Figura 19. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 30%	43
Figura 20. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con gel de diclofenaco al 1%	44
Figura 21. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con la base de la crema.....	45
Figura 22. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo control negativo.....	46
Figura 23. Áreas bajo la curva de los porcentajes de disminución de la inflamación de todos los grupos experimentales.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fases móviles y reveladores usados en las pruebas cromatográficas.	28
Tabla 2. Formulación de la crema tópica	29
Tabla 3. Concentración del extracto método Soxhlet.....	33
Tabla 4. Cromatografía en capa fina. Resultados del extracto etanólico de Azorella compacta "Yareta"	34
Tabla 5. Análisis descriptivo de los porcentajes de inflamación a las 3 horas luego de la administración de carragenina.	38
Tabla 6. Análisis de varianza a los porcentajes de inflamación a las 3 horas luego de la administración de carragenina.....	39
Tabla 7. Test de Tukey de los porcentajes de inflamación a las 3 horas luego de la administración de carragenina.....	39
Tabla 8. Porcentaje de disminución de la inflamación para el grupo tratado con crema más extracto de yareta al 10%.....	41
Tabla 9. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 20%.....	42
Tabla 10. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 30%.....	43
Tabla 11. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo tratado con gel de diclofenaco al 1%	44
Tabla 12. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo tratado con la base de la crema	45
Tabla 13. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo control negativo.....	46
Tabla 14: Análisis descriptivo de las Áreas bajo la curva de los porcentajes de disminución de la inflamación.	47
Tabla 15. Análisis de varianza de las Áreas bajo la curva de los porcentajes de disminución de la inflamación	48
Tabla 16. Test de Tukey de las Áreas bajo la curva de los porcentajes de disminución de la inflamación.....	49

INTRODUCCIÓN

El hombre siempre ha buscado y encontrado en el reino vegetal los remedios contra las enfermedades de la especie humana. Descubrió que algunas plantas son buenas como alimentos y otras tiene propiedades curativas. Este fue el primer paso en un largo proceso de selección y de separación de especies medicinales de las tóxicas (1).

Las plantas han constituido desde la antigüedad un recurso inapreciable para cuidar y preservar la salud. La organización mundial de la salud ha considerado que aproximadamente el 80% de la población mundial utiliza la medicina tradicional para su atención primaria de salud y con frecuencia subestimada. El consumo de plantas ha aumentado a nivel mundial en las últimas 2 décadas, los estudios científicos de plantas nos muestran desde hace más de 50 años, que los extractos vegetales contiene una gran variedad de compuestos químicos (2).

La yareta pertenece a la familia Apiaceae (*Azorella compacta*) es una planta arbustiva amarillo verdosa muy compacta y resinosa que crece sobre los 4000 m.s.n.m. en la alta cordillera altiplánica del norte de Chile, en las regiones limítrofes con Bolivia y el sur andino del Perú (3).

La importancia etnobotánica radica en las propiedades y usos que le atribuyen en la etnomedicina, para el tratamiento de la diabetes, el asma, bronquitis y enfermedades renales a través de infusiones preparadas con las raíces de sabor muy amargo para el reumatismo y contusiones de la piel a través del uso de la resina como emplastos o como combustible para la cocina y para fundición de minerales (4).

Otros estudios realizados en la región señalan el uso medicinal para aliviar el dolor y bajar la hinchazón de la espalda; en las fracturas, y además que es tóxico para el ganado. *Azorella compacta* tiene como principios activos lactonas sesquiterpénicas, que poseen diferentes actividades farmacológicas: antiinflamatorias, analgésicas entre otros (4).

ABREVIATURA

AINES: Antiinflamatorios No Esteroides

ANOVA: Análisis de Varianza

CCF: Cromatografía en Capa Fina

ECF-A: Factor quiomiotáctico del eosinófilo

G-CSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos

H1: Histamina 1

H2: Histamina 2

IL: Interleucinas

LTB4: Leucotrieno

NCF: Factor quimiotáctico del neutrófilo

NK: Natural Killer

PAF: Factor activador de plaquetas

PGE 1: Prostaglandina E1

PGE2: Prostaglandina E2

PGF 2: Prostaglandina F2 α

PMN: Neutrófilos polimorfonucleares

TEA: Trietanolamina

TH-AS: Área de vida Tundra húmeda Alpino Subtropical

TNF: Factor de necrosis tumoral

UCSM: Universidad Católica de Santa María de la ciudad de Arequipa.

UV: Ultravioleta

HIPÓTESIS

Dado que, la medicina tradicional le atribuye ciertas propiedades medicinales a *Azorella compacta* conocida como “yareta” es probable que la crema a base del extracto etanólico con dicha planta presente efecto antiinflamatorio tópico luego de ser aplicados en animales de experimentación.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto antiinflamatorio tópico de la crema a base del extracto de *Azorella compacta* “yareta” en animales de experimentación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Obtener el extracto etanólico de la *Azorella compacta* (yareta), y preparar una crema tópica con el extracto obtenido.
2. Identificar grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Azorella compacta* , mediante el análisis de cromatografía en capa fina (CCF).
3. Evaluar el efecto antiinflamatorio de la crema tópica a base del extracto de *Azorella compacta* en animales de experimentación mediante el método de edema plantar inducido por carragenina.
4. Comparar la eficacia antiinflamatoria de la crema elaborada con una especialidad farmacéutica tópica en forma de gel que contenga un principio activo antiinflamatorio.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Espécie de Estúdio

1.1.1. Descripción

Azorella compacta es un género que está constituido por setenta especies. La mayor parte de sus especies se conocen normalmente como “Yareta” (5, 3, 6).

Características morfológicas

Tiene forma de arbusto que se desarrolla en formas de almohadillas macizas y contiene mucha resina, de coloración amarillenta verdosa que está supeditado de la temporada anual (7).

Se desarrolla a partir de los 4,000 m.s.n.m. hasta los 4,800 m.s.n.m., conformando cojines macizos que alcanzan a medir 1.2 m de altura hasta 2.5 m cubriendo nuestro país. Progresa en primavera y verano, en terrenos que poseen mucha humedad y frialdad. Contiene mucha resina, que se desarrolla en situaciones de temperatura rigurosas y habitualmente se localiza más arriba de los 4,000 m.s.n.m., en la Cordillera del Altiplano del sur peruano hasta el norte chileno y las zonas que limitan con el país boliviano.

La relevancia etnobotánica se basa en las cualidades y aplicaciones que le adjudican en la medicina tradicional, para tratar la hiperglucemia, el asma, inflamación de los bronquios y afecciones de los riñones por medio de infusiones elaboradas a base de las raíces de sabores demasiadamente amargos (8), para los reumas y lesiones de la epidermis por medio de la utilización de la secreción orgánica de las plantas a manera de emplasto (9), o como carburante para cocinar y para fundir los metales (10).

1.1.2. Ubicación taxonómica

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsidae*

Subclase: *Asteridae*

Orden: *Apiales*

Familia: *Apiaceae*

Subfamilia: *Azorelloideae*

Género: *Azorella*

Especie: *Azorella compacta* (11).

1.1.3. Nombres comunes

Nombres vulgares: yarita, yareta, ch'ampa, llareta

Los nombres tienen orígenes cunza. Con el nombre común de yareta son conocidas diferentes especies como, *Azorella madreporica*, *Azorella lycopodioides*, *Azorella reniformis*, *Azorella pulvinata*, *Azorella multifida*, *Azorella diapsioides*, *Azorella biloba*, *Azorella corymbosa*, *Azorella crenata* y *Laretia acualis* que se desarrollan a manera de arbustos cespitosos muy densos en las áreas altas de los Andes (12).

Sinonimia

Azorella columnaris H.Wolff, *Azorella prismatoclada* Domin, *Azorella yareta* Hauman, *Laretia compacta* (Philippi) Reiche (4).

1.1.4. Distribución

Hábitat

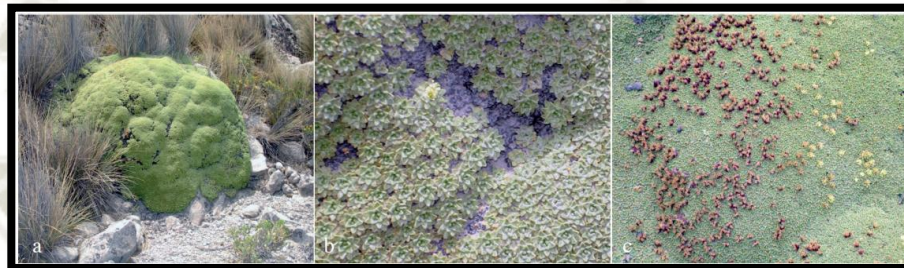
Tiene diversas especies en nuestro país como *Azorella compacta* Phil que se desarrolla en la Cordillera de los Andes peruanos, argentinos, bolivianos y chilenos.

En nuestro país se desarrolla conformando extensas comunidades en terrenos que presentan arenosidad, arcillosidad, pedregosidad e inclinaciones con pendientes de mucha rocosidad (13). Señalan que son subarbustos de los Andes, que se desarrollan en praderas y arboledas a partir de los 4,000 m.s.n.m. hasta los 4,500 m.s.n.m. En la Reserva Nacional de Salinas y Aguada Blanca se le haya conformado poblaciones desde de los 4,000 m.s.n.m. hasta los 4,800

m.s.n.m., en los extremos altitudinales superiores del área natural protegida (9,14,15).

En diferentes países como el chileno, boliviano o argentino se desarrolla en pendientes y pequeños collados de altas cordilleras, en canteras de piedras y roquedales hasta los 5,200 m.s.n.m.(16), en la Figura N° 1 podemos observar el hábitad, las hojas, flores y frutos de *Azorella compacta*.

Figura 1. *Azorella compacta* Phil.: a) Hábitad; b) Hojas; c) Flores y Frutos



Fuente: Cáceres F, Poma I, Spadaro V, (2012)

La distribución de la *Azorella compacta* se da a partir de los 3,000 m.s.n.m. hasta los 5,300 m.s.n.m., siendo una especie leñosa que alcanzan superiores altitudes a nivel global (17). En nuestro país su distribución se da por el sur a partir de los 3,800 m.s.n.m. hasta los 4,500 m.s.n.m., que se registra para las regiones arequipeña, puneña, huanuqueña, ayacuchana, moqueguana y tacneña.

En la región arequipeña, se ha registrado para las localidades de Caylloma, Chuquibamba y Castilla alta, en el interior de la Reserva Nacional de Salinas y Aguada Blanca, su distribución se da por las comunidades de Patapampa, Talamolle, El Simbral y Pillone. Conforman la Comunidad de “yaretales” (15), en el área de vida Tundra húmeda Alpino Subtropical (th-AS) que va desde los 4,300 m.s.n.m. hasta los 5,000 m.s.n.m. con temperaturas promedios anuales que fluctúan entre los 1.5°C a los 3°C, con precipitaciones promedios anuales que varían entre los 125 mm y 250 mm y con una topografía con presencia de accidentes geográficos hasta tener muchas colinas, con alternación de zonas prácticamente suaves (18).

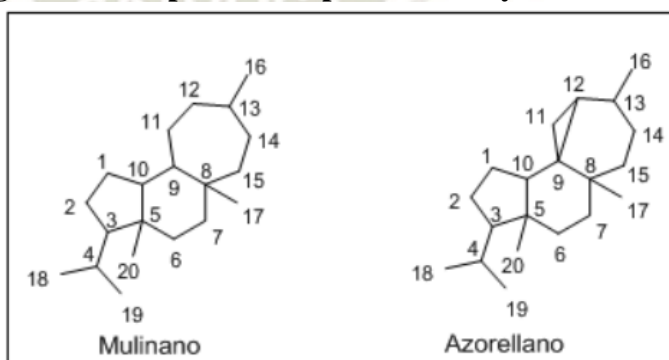
1.1.5. Composición química

Estudios fitoquímicos y farmacológicos

El género *Azorella* se le conoce muy bien por poseer un elevado nivel de metabolitos secundarios como diterpenoides, triterpenoides y flavonoides que están en diversas especies del género *Azorella*.

Los resultados obtenidos de diferentes estudios del género *Azorella*, han demostrado que son principalmente fuente exclusiva de diterpenos del tipo mulinano y azorellano (Figura N°2) (19).

Figura 2. Diterpenos del tipo mulinano y azorellano

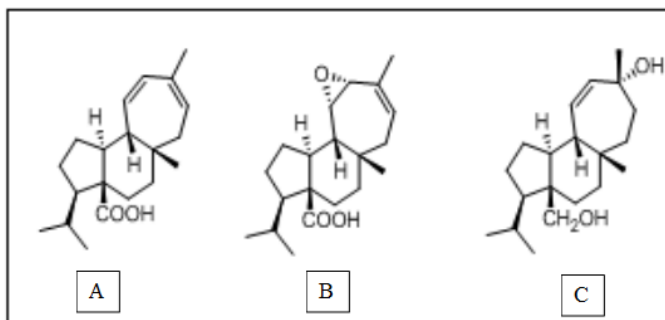


Fuente: Abad D, (2015)

Azorella compacta posee como principios activos lactonas sesquiterpénicas, que tienen distintas actividades farmacológicas como son: de antiinflamación, analgésicas, etc. (19).

Del extracto de éter de petróleo de *Azorella compacta* fueron aislados tres diterpenoides del tipo mulinano, el ácido 11,13-dien-mulin-20-oico (A), el ácido 11,12-epoximulin-13-en-20-oico (B) y mulinol (C), tal como se observa en la Figura N°3.

Figura 3. Diterpenos del tipo mulinano



Fuente: Abad D, (2015)

Se ha realizado el aislamiento de 6 diterpenoides como el ác. mulinico; el ác. mulinólico; el ác 11,13-dien-mulin-20-oico; mulinol, yaretol y 7-acetil-yaretol, estas estructuras fueron comparadas espectroscópicamente con el ácido mulinolico (20).

Fue evaluada la acción del 7-acetylyaretol sobre la función testicular de ratones, no modificándose su actividad espermatogénica y esteroideogénica, demostrándose su inocuidad a nivel del sistema reproductor de un mamífero, como un parámetro de gran valor en su desarrollo farmacológico como espermicida químico (21).

7-acetil yaretol y ácido 11,13-dien-mulin-20-oico tienen una relevante función biológica antiparasitaria tanto a niveles de tripanosomátidos como tripomastigotes y dieron muestra de un resultado tripanocida alto comparándolo con las formas amastigotes de la cepa Tulahuen de *Trypanozoma cruzi* (22).

Se ha realizado la demostración que 7-acetylyaretol tiene una alta actividad leishmanicida in vitro comparándolo con promastigotes de *Leishmania braziliensis* y *Leishmania major* (23).

1.1.6. Usos medicinales

Etnomedicina y etnofarmacología

En nuestro país *Azorella compacta* es empleada como antiinflamatorio usando la resina a manera de parche en las lesiones e impactos en la epidermis, no obstante, esta resina es empleada asimismo para aliviar los dolores de muelas al masticar por un periodo de cinco minutos (24).

Para dolor reumático se toma las infusiones de hojas en 6 g/L, tres veces diariamente, a lo largo de quince días; también para la desinflamación de la próstata, se realiza el tomado de las infusiones de hojas dos veces diariamente a lo largo de 7 días. Se señala asimismo que es recomendable para reducir el nivel de azúcar en la sangre empleando las infusiones de hojas y flores en 12 g/L tres veces diariamente a lo largo de 30 días aproximadamente (24).

En Pochi (Región Arequipa), la utilizan para la curación de las afecciones de la próstata usando pequeños trozos de tallos en infusiones tres veces diariamente a lo largo de quince días y para la curación de la neumonía en los infantes se realiza

la preparación de infusiones de hojas, flores o tallos. Igualmente, es eficaz para la terapia en mayores de edad para luchar contra el resfriado y en enfermedades de los bronquios (25).

En la actualidad se toma en consideración que los vegetales en almohadilla son esenciales ingenieros ecosistémicos, en la preservación de la variedad botánica, en las poblaciones de las zonas más elevadas de cordillera, es una especie que vive muchos años y de lento desarrollo.

1.2. Inflamación

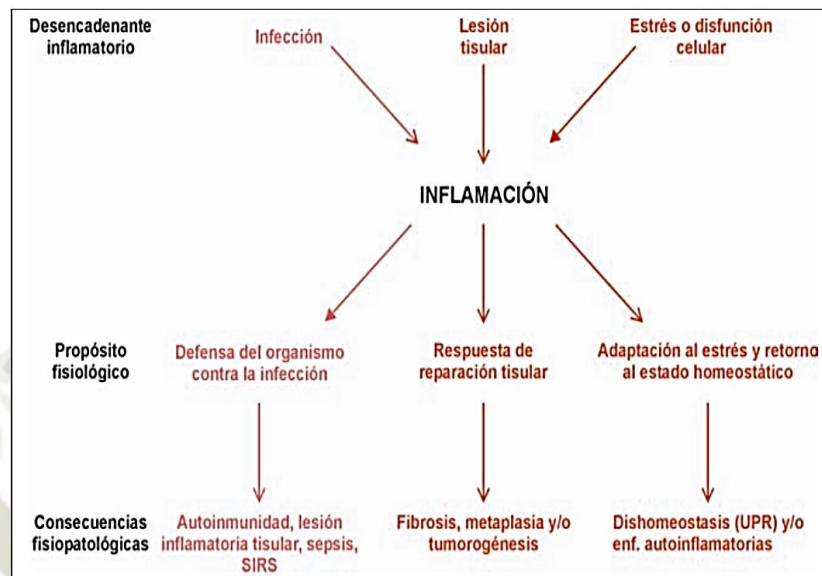
1.2.1. Introducción

La inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es, normalmente, una respuesta reparadora; un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa como artritis, arteriosclerosis o, incluso, cáncer (26).

La inflamación, aunque en principio representa un proceso universal e inespecífico encaminado a restaurar la homeostasis disturbada, puede elegir, según la causa desencadenante, diferentes escenarios de actuación para conseguir resultados determinados como se observa en la Figura N°4 (26).

Típicamente la inflamación ha sido agrupada por los cuatro signos clásicos de Celso: calor, rubor, tumor y dolor. La acaloración y ruboración se da debido a las modificaciones vasculares que fijan una aglomeración de la sangre en el origen. El quiste es producido por el abultamiento y acumulación de células inmunes, en tanto que los dolores son provocados por el comportamiento de ciertos intermediadores en las terminaciones nerviosas del dolor (27).

Figura 4. Escenarios de actuación de la inflamación



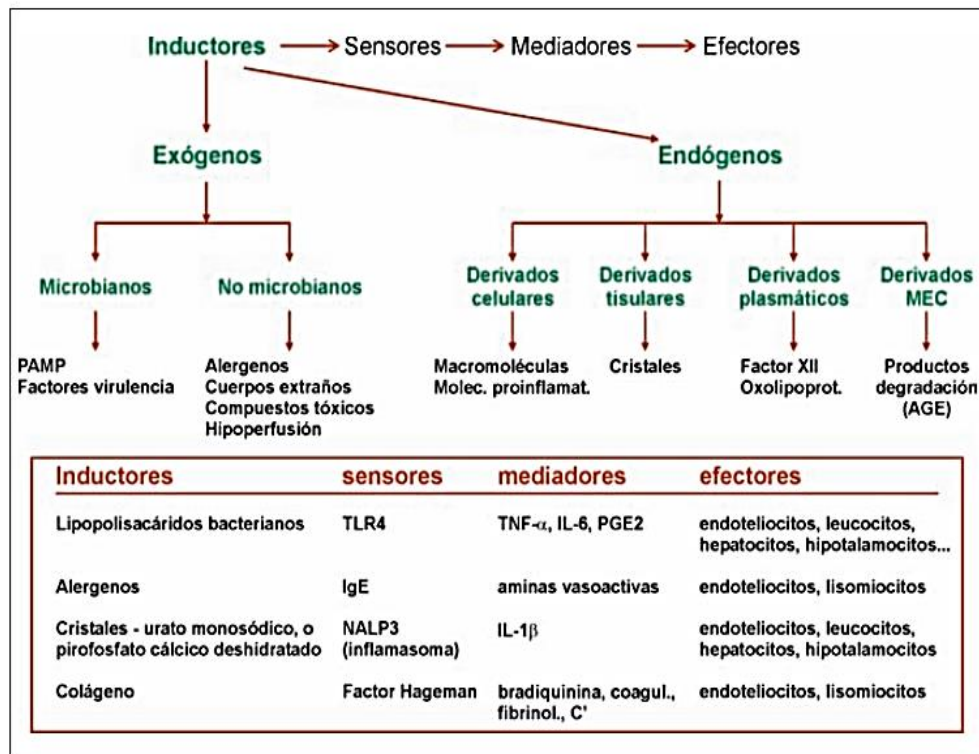
Fuente: García P, (2008)

La inflamación representa una respuesta sistémica, específica y tisular, está caracterizada porque produce mediadores de inflamación y traslado de fluidos y glóbulos blancos a partir de la sangre hacia los tejidos que se encuentran fuera de los vasos. Esta reacción hallada realiza la eliminación de células que se alteran, corpúsculos extraños, organismos microscópicos, antígenos y realiza la preparación de la ruta para el regreso de la regularidad de estructuras y de funciones (27).

En toda ocasión, la respuesta de inflamación está organizada por abundantes instrumentos de intermediadores que está organizado en múltiples estructuras de regulación. Es de mucha utilidad aglomerar a los indicadores en niveles funcionales y hacer la distinción entre inductores e intermediadores de las respuestas de inflamación (26).

Los inductores son índices que comienzan el procedimiento; realizan la activación de cada sensor especializado que promueve la elaboración de lotes específicos de intermediadores. Los cuales, a su vez, modifican las situaciones funcionales celulares, tisulares y orgánicas que son los efectores inflamatorios, de forma tal que faciliten su adaptabilidad primero y reparación posterior, de los daños hechos por los inductores (Figura N° 5).

Figura 5. Vía inflamatoria genérica incluye, secuencialmente, inductores, sensores, mediadores y efectores.



Fuente: García P, (2008)

- **Fases de la Inflamación**

De manera ordenada se puede hacer la división en 5 fases:

- Liberación de mediadores.** Son estructuras moleculares, la mayoría de estas, tienen estructuras fundamentales que pasan por una liberación o sintetización por la célula cebada bajo el actuar de ciertos incentivos.
- Efecto de los mediadores.** Cuando han atravesado por una liberación, aquellas estructuras moleculares han producido alteración en los vasos y resultados quimiotácticos que facilitan el arribo de estructuras moleculares y células inmunes a los focos de inflamación.
- Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.** Proviene en su mayoría de la sangre, pero asimismo de las áreas que circundan a los focos.
- Regulación del proceso inflamatorio.** Como la mayoría de las reacciones inmunes, los fenómenos de inflamación asimismo conforman una secuencia de instrumentos que inhiben, inclinándose a culminar o dar equilibrio a este procedimiento.

e) **Reparación.** Etapa conformada por todo fenómeno que establecerá el reparo en su totalidad o en parte de cada tejido deteriorado por el elemento causante de agresión o por la misma reacción de inflamación (27).

1.2.2. Alteraciones principales de la inflamación

Los eventos vasculares, así como otros, no ocurren paso por paso, sino que se desarrollan colocándose uno sobre otro, prácticamente de manera simultánea. Sin embargo, continúan manifestándose de manera secuencial. Estos son:

1. Vasodilatación arteriolar y capilar, que provoca la apertura de capilares y vénulas, inducida por la acción de diferentes mediadores sobre el músculo liso vascular, principalmente histamina y óxido nítrico.
2. Aumento del flujo sanguíneo (hiperemia) por las arteriolas, que es la causa de la aparición de eritema (rubor) en el sitio de la inflamación.
3. Aumento de la permeabilidad de la microvasculatura, salida de un exudado inflamatorio hacia los tejidos extravasculares y aparición de edema inflamatorio.
4. Acumulación anormal y excesiva de sangre, la salida de líquido provoca un aumento de la viscosidad de la sangre, lo cual aumenta la concentración de los glóbulos rojos (congestión venosa).
5. Disminución de la velocidad de la sangre en pequeños vasos (estasis sanguínea).
6. Acumulación periférica de los leucocitos, marginación y pavimentación leucocitaria.
7. Al mismo tiempo, las células endoteliales son activadas por los mediadores de la inflamación, expresando moléculas en sus membranas que favorecen la adhesión de los leucocitos, fundamentalmente los neutrófilos polimorfonucleares (PMN).
8. Paso de leucocitos (PMN en primer lugar, seguidos por los macrófagos) desde los vasos al intersticio: migración celular, con formación del infiltrado inflamatorio (28).

1.2.3. Clases de Inflamación

A. Inflamación Aguda:

La inflamación aguda: Está definida como pasajera y de primera respuesta a una contusión. En otras palabras, es de comienzo raudo y de periodo reducido, que tiene una duración de pocas horas o de pocos días. Se distingue por liberar abundantes mediadores químicos, y dirige a la secreción de proteínas y de plasma (abultamiento) y el desplazamiento de glóbulos blancos, preponderantemente glóbulos blancos de tipo granulocito. La inflamación aguda tiene distintos motivos como los siguientes: tipo de infección como la bacteriana, viral, fúngica, parasitaria, toxinas microorgánicas, muerte de tejidos de variadas razones, reducción del flujo de la sangre, contusiones, lesión física y química). La perseverancia inflamatoria aguda puede ocasionar un procedimiento de inflamación crónico (29).

B. Inflamación crónica

Características Generales

Está caracterizado por la existencia de:

- Glóbulos blancos
- Células de plasma (creación de anticuerpos)
- Macrófagos (fagocitosis).

Tiene un periodo extenso en el cual sucede a la vez la inflamación dinámica, las lesiones tisulares y la solución (30).

Presenta estas cualidades:

- Penetración por células que presentan un solo núcleo, como macrófagos, glóbulos blancos y plasmocitos.
- Destrozo tisular.
- Reparación que incluye la multiplicación de recientes vasos y fibrosis.
- Penetración de un solo núcleo: macrófagos.
- Tipo de leucocitos mononucleares y el Sistema Fagocítico de un solo núcleo.
- Tareas de todo macrófago.
- Accionamiento de cada macrófago: Base molecular.
- Diferentes células como: Leucocitos B, T y NK, plasmocitos (30).

Toda inflamación grave, persevera la aglomeración de todo macrófago, que se media por:

- a) Incorporación constante de todo monocito proveniente del tránsito sanguíneo, debido a la manifestación mantenida molecular de adherencia y de los elementos quimiotácticos.
- b) Multiplicación específica de todo macrófago después de su traslado a partir del flujo de sangre.
- c) Detención de todo macrófago en el área inflamada (30).

Las células T y B se trasladan hasta el origen de la inflamación utilizando unos de los pares moleculares de adhesión quimioquinas que incorporan a monocitos. Las células T poseen una vinculación mutua con todo macrófago en las inflamaciones graves: primero son activadas por interrelación con todo macrófago que tiene trozos de antígenos que se procesan en su extensión. Luego, las células que activadas ponen en liberación diferentes mediadores, como el Interferón, para activar todo monocito y macrófago. Cada macrófago que se activó, también, anaboliza citoquinas, como: interleucina 1 (IL) y el factor de necrosis tumoral (TNF), colaboran a la activación, en mayor proporción a los glóbulos blancos y asimismo a diferentes células. El efecto último es un foco de inflamación en el cual todo macrófago y célula T se incitan constantemente entre ellos, hasta disipar los antígenos que desencadenan. Los plasmocitos son los resultados de la distinción última de células B activadas; puede generar inmunoglobulinas que se dirigen hacia cada antígeno existente en la zona inflamada que ha sufrido alteración (30).

1.2.4. Mediadores Químicos de la Inflamación

Mediadores preformados

- **Histamina.** Es un mediador ampliamente distribuido por el organismo, aunque se detecta principalmente en el mastocito y basófilo. Deriva, por descarboxilación, del aminoácido histidina. Actuando sobre los receptores H1 (histamina 1) de los vasos produce vasodilatación e incremento de la permeabilidad, cuando la histamina actúa sobre receptores H2 (histamina 2) produce efectos inhibidores o reguladores de la inflamación (31).

Enzimas proteolíticas. De las distintas enzimas proteolíticas liberadas por el mastocito, quizás la más interesante sea la kininogenasa que actúa sobre las proteínas procedentes de la sangre y denominadas kininógenos, produciendo su ruptura en péptidos más pequeños denominados kininas. Las kininas inducen vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y estimulan las terminaciones nerviosas del dolor (31).

- **Factores quimiotácticos.** El ECF-A (factor quimiotáctico del eosinófilo) incluye dos tetrapéptidos de alrededor 500 dalton de peso molecular que atraen eosinófilos al foco inflamatorio, induciendo simultáneamente la activación de estas células. El NCF (factor quimiotáctico del neutrófilo) es una proteína de un peso molecular superior a 750.000 dalton con capacidad de atraer y activar al neutrófilo (32).
- **Heparina.** Al inhibir la coagulación, favorece la llegada al foco inflamatorio desde la sangre de moléculas y células por lo tanto es un factor regulador (27).

Mediadores sintetizados de novo

- **PGE₂.** Es la prostaglandina más importante en el proceso inflamatorio. Produce vasodilatación y dolor. En coordinación con el factor C5a y LTB₄ aumenta la permeabilidad vascular.
- **LTB₄.** (Leucotrieno). Es un factor quimiotáctico para eosinófilos, neutrófilos, mastocitos y macrófagos (27).

Factor activador de plaquetas (PAF): Este factor tiene varias propiedades. Activa las plaquetas determinando su agregación, con la liberación de mediadores por parte de estos cuerpos e inicio de los procesos de coagulación. Produce, además, vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Es por otra parte, un potente factor quimiotáctico y activador de neutrófilos (27).

Los mediadores químicos pueden originarse:

- **De Plasma:**
 - Sistema de Kininas
 - Sistema de coagulación - fibrinólisis
 - Sistema de complemento
- **De las células**

- Aminas vasoactivas
- Metabolitos del ácido araquidónico
- Citocinas
- Factor activante de plaquetas (29).

1.2.5. Prueba del edema plantar en rata inducido por carragenina

Fundamento del método: El método del edema plantar inducido por carragenina consiste en la administración subcutánea de una solución de carragenina (un mucopolisacarido sulfatado extraído del alga marina (*Chondus crispus*) a nivel de la aponeurosis plantar de rata, provocando una inflamación de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autocoides (histamina, serotonina, bradicidina, prostaglandinas), además diversos factores del complemento que estén implicados en la amplificación de la respuesta (33).

El ensayo del edema plantar por carragenina es una prueba pre-clínica estandarizada y sugerida para las finalidades explícitas (34).

Una hora después de la administración de la sustancia problema, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. Aproximadamente de una hora y media a dos y media horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase esta mediada por prostaglandinas (PGE 1 y PGE 2, PGF 2), la respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la administración de carragenina y coincide con la fase mediada por las prostaglandinas (34).

Se producirá el edema administrando 0.1 mL de carragenina al 1% en suero fisiológico en la almohadilla plantar de la pata trasera derecha. La inflamación se cuantificará midiendo el volumen de las patas con el pletismómetro (34).

1.2.6. Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES)

Los AINES son un grupo de agentes de estructura química diferente que tienen como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas a través de la inhibición de la enzima COX. Los AINES son sustancias capaces de suprimir los signos y síntomas de la inflamación, algunos también ejercen acciones antipiréticas y analgésicas (35).

Diclofenaco

Propiedades farmacológicas

Derivado del ácido fenilacético con propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas que parecen estar relacionadas con su capacidad para bloquear la biosíntesis de prostaglandinas, acción que depende de la inhibición de la ciclooxigenasa; su potencia es sustancialmente mayor que la observada en otros agentes antiinflamatorios no esteroideos. También inhibe la emigración leucocitaria y altera los procesos celulares e inmunológicos en los tejidos mesenquimatoso y conectivo, lo cual puede contribuir a aumentar sus efectos antiinflamatorios y a explicar su utilidad en los procesos reumáticos (36).

Indicaciones

Artritis reumatoide, espondiloartritis anquilosante, artrosis, espondiloartrosis, tratamiento local de afecciones localizadas.

Contraindicaciones y precauciones

Contraindicado en casos de hipersensibilidad al diclofenaco, en pacientes hipersensibles a otros antiinflamatorios no esteroideos, trastornos de la coagulación, enfermedad cardiovascular, antecedentes de hemorragia gastrointestinal, úlcera péptica, durante la administración de anticoagulantes cumarínicos, durante el embarazo y la lactancia. Ha de suspenderse el tratamiento si se presentan manifestaciones de úlcera péptica o sangrado gastrointestinal. Se realizarán biometrías hemáticas antes y periódicamente durante el tratamiento. La vía intramuscular sólo debe emplearse para el tratamiento del dolor agudo (36).

Reacciones adversas.

- Frecuentes: náusea, vómito, dolor abdominal, eructos, pirosis, erupción cutánea.
- Poco frecuentes: anorexia, diarrea, ulceración gastrointestinal, edema de las extremidades, zumbido de oídos, cefalea, nerviosismo, visión borrosa.

- Raras: sangrado gastrointestinal, dificultad urinaria, hematuria, confusión mental, depresión mental, discrasias sanguíneas, disfunción hepática (36).

Vía de administración y dosis

Adultos:

Vía oral. 100 mg al día en una dosis o fraccionados en dos tomas de 50 mg. La dosis de mantenimiento deberá ajustarse a cada paciente y pueden ser necesarios 300 a 400 mg al día. Una vez que se tenga una respuesta satisfactoria, redúzcase al mínimo la dosis de mantenimiento.

Intramuscular. 75 mg cada 12 a 24 h; continuar con tratamiento oral a la brevedad posible.

Tópica en la piel. Dosis inicial de 2 a 4 g del gel de 2 a 3 veces al día (36).

1.3. Cremas

Son formas farmacéuticas constituidas por dos fases, una lipofílica y otra acuosa o hidrofílica. Estas pueden ser preparaciones líquidas o semisólidas que contiene el o los principios activos y aditivos necesarios para obtener una emulsión generalmente aceite en agua con un contenido de agua superior al 20%, tienen consistencia blanda y flujo pseudoplástico por su alto contenido acuoso (37).

Estos son utilizados masivamente no solo para el cuidado de la piel o para aliviar dolores, inflamaciones sino también como cicatrizante de heridas, entre muchas otras aplicaciones. Todos los preparados de consistencia semisólida están, englobados en la definición genérica de “pomadas” pero a menudo se utilizan otras denominaciones más específicas, relacionadas con sus características fisicoquímicas y su consistencia más o menos blanda. Las cremas están destinadas a ser aplicadas sobre la piel o sobre mucosas con el fin de ejercer una acción local o dar lugar a la penetración cutánea de los medicamentos que contienen (37).

1.3.1. Composición de las cremas

— Fase acuosa. — Fase oleosa. — Sistema emulgente.

Características: Las características que posee una crema son:

- Buena tolerancia (no irritación, o sensibilización).

- Inercia frente al principio activo (compatibilidad física y química), así como frente al material de acondicionamiento.
- Estabilidad frente a factores ambientales para garantizar su conservación.
- Consistencia conveniente para que su extensión sobre la piel sea fácil y puedan dispensarse en tubos.
- Caracteres organolépticos agradables.
- Capacidad para incorporar sustancias solubles en agua y en aceite.
- Capacidad para actuar en piel grasa o seca.
- Facilidad para transferir rápidamente a la piel las sustancias activas.
- No deshidratar, ni desengrasar la piel (38).

1.3.2. Clasificación

A. Cremas Hidrófilas:

- Contienen bases miscibles en agua.
- La fase externa es acuosa debido a emulgentes tipo O/W como jabones sódicos, trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados.
- Desaparecen con facilidad.
- Se mezclan con secreciones serosas.
- Es lavable.
- Cosméticamente aceptable.
- Vehículo para sustancias hidrosolubles (38).

B. Cremas Hidrófobas:

- Son habitualmente anhidras y absorben solo pequeñas cantidades de agua.
- Fase externa oleosas: W/O.
- Actúan como los aceites (contribuyen a la hidratación de la piel).
- No es lavable.
- Pueden aplicarse sobre aéreas pilosas.
- Son vehículos de sustancias liposolubles (38).

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACION

El siguiente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación del Proyecto MERCURIO (H-202) y en el (H-103) de la Universidad Católica de Santa María de la ciudad de Arequipa.

2.2. MATERIALES

2.2.1. MATERIAL BOTANICO

Partes aéreas de *Azorella compacta* “Yareta”: Para el presente trabajo de investigación se utilizó 100 g de partes aéreas secas de *Azorella compacta*, procedente de la provincia de Condesuyos-Región Arequipa.

2.2.2. MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas macho raza: *wistar novergicus*, con un peso entre 200 y 260 g de tres meses y medio edad, procedentes del bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

2.2.3. MATERIAL DE LABORATORIO

Instrumental de vidrio

- Baguetas
- Capilares sin heparina
- Pipetas graduadas de 1mL, 5mL y 10mL
- Probeta graduada de: 50mLy 100mL
- Vasos de precipitado: 100mL, 250mL
- Termómetro de laboratorio
- Tubos de ensayo
- Cubas cromatográficas.
- Fiolas de 25mL, 100mL, 1000mL
- Lunas de vidrio
- Balón de destilación de 500mL
- Matraz Erlenmeyer de 100mL, 250mL
- Varillas (38).

Equipos de laboratorio

- Equipo de baño maría
- Balanza analítica Denver Instrument XP-1500
- Equipo de Soxhlet NORMAX
- Equipo Rotavapor SCILOGEX RE-100-Pro
- Estufa de desecación MEMMERT 854 Shwabach- Germany
- Pletismómetro Digital LE7500
- Lámpara de luz UV (CAMAG UV 250-366nm)
- Mechero bunsen (38).

Reactivos.

- Agua destilada
- Carragenina 1% Q.P. (MERCK)
- Diclofenaco gel 1%
- Etanol 96° CH₃-CH₂-OH
- N-hexano Q.P. (MERCK)
- Acetona ACS (MERCK)
- Acetato de etilo Q.P. (J.T. BAKER)
- Tolueno ACS (J.T. BAKER)
- Metanol CH₃-OH Q.P. (MERCK)
- Reactivo Dragendorff (elaborado U.C.S.M.)
- Reactivo Liebermann Burchard (elaborado U.C.S.M.)
- Ácido sulfúrico ACS (MERCK)
- Vainillina
- Propilenglicol Q.P. (MERCK)
- Alcohol cetílico Q.P. (MERCK)
- Metilparabeno Q.P. (MERCK)
- Ácido esteárico Q.P. (MERCK)
- Glicerina Q.P. (MERCK)
- Trietanolamina Q.P. (MERCK)
- Tritón X-100 (38).

Otros

- Algodón estéril
- Papel Kraft
- Jeringas de tuberculina
- Mascarilla
- Placas de sílica gel
- Pinzas
- Cocina eléctrica
- Espátulas
- Frascos de vidrio color ámbar 120mL
- Guantes quirúrgicos (38).

2.3. MATERIAL FARMACOLOGICO

Como material farmacológico se utilizó una especialidad farmacéutica denominado Diclofenaco al 1% presentación gel, su descripción es la siguiente:

Nombre comercial: Voltaren gel

- DCI: Diclofenaco dietilamonio
- Número de lote: WX260
- Fecha de vencimiento: 10-2020
- Registro Sanitario: EE-02091
- Concentración: 1%
- Forma farmacéutica: gel
- Laboratorio fabricante: Novartis Pharma (38).

2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente estudio es de tipo experimental. Es prospectivo, que se caracterizan porque su metodología lleva implícito la “intervención en el curso normal de los acontecimientos, y prospectivo la recolección de datos y seguimiento se desplaza por el eje longitudinal del tiempo hacia el futuro (39).

Se utilizaron 24 ratas las cuales fueron distribuidas al azar en 6 grupos, a todos los grupos se les hizo una medición inicial del volumen de la pata posterior derecha de las ratas (sin inducción de edema) usando el pletismómetro, el cual nos brindó la

medida basal, seguidamente se realizó la inducción del edema plantar con carragenina al 1 % (Figura N° 6).

a) Tratamientos:

- G1: crema base
- G2: crema con extracto al 10%
- G3: crema con extracto al 20%
- G4: crema con extracto al 30%
- G5: grupo control negativo carragenina
- G6: diclofenaco al 1%

b) Repeticiones: 4 ratas para cada grupo

c) Unidad experimental:

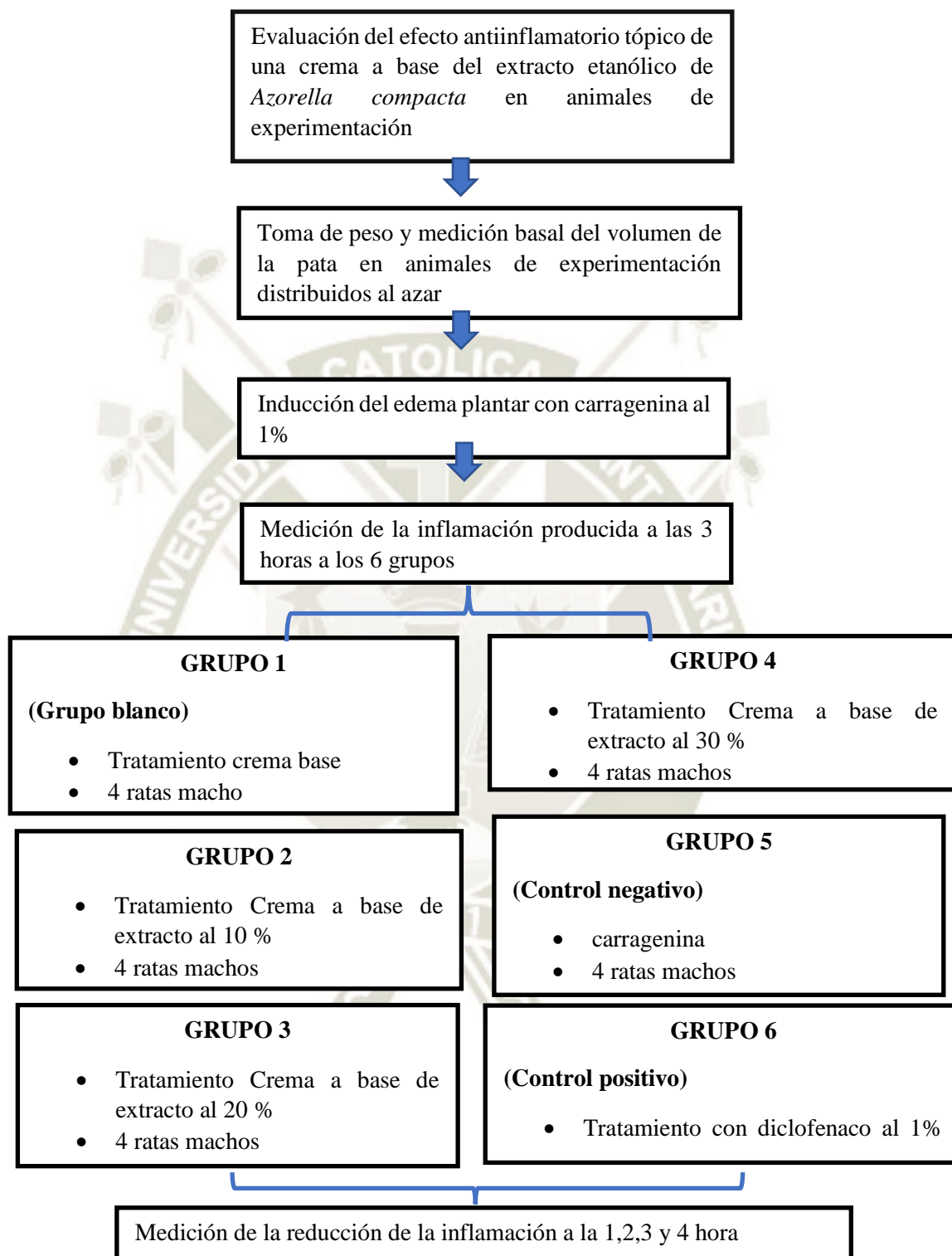
- Raza: *wistar novergicus*
- Edad: tres meses y medio
- Peso: entre 200 y 260 g.
- Sexo: macho
- Alimentación: se les acondicionó con horario, alimentación y temperatura adecuada de laboratorio listos para la experimentación.

d) Total de unidades: 24 ratas

e) Evaluaciones

- Valor basal del volumen de inflamación
- Volumen de inflamación a las 3 horas
- Volumen de reducción de la inflamación después de 1 hora, 2 horas, 3 horas y 4 horas de aplicado el tratamiento (38).

Figura 6. Diseño experimental de medición de la respuesta antiinflamatoria de la crema a base de extracto de *Azorella compacta* en animales de experimentación.



Fuente: Elaboración propia

2.5. MÉTODOS.

2.5.1. TRATAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

RECOLECCIÓN

Se recolectaron especies de *Azorella compacta* conocida comúnmente como “yareta”, específicamente obtenido del lugar la Paracza, distrito de Yanaquihua, provincia de Condesuyos-Región Arequipa. Para su transporte se colocaron en sacos de yute.

TRATAMIENTO DE LAS HOJAS RECOLECTADAS

Se seleccionaron las partes aéreas tallos y hojas de buen aspecto, sin marcas o manchas extrañas. Posteriormente fueron introducidas en la estufa de desecación a una temperatura de 60°C durante 4 días. El procedimiento final de tratamiento de la planta recolectada fue la trituración, se realizó con la finalidad de aumentar la superficie de contacto droga disolvente. Esta trituración se llevó a cabo en mortero de porcelana por lo que la trituración fue manual (38).

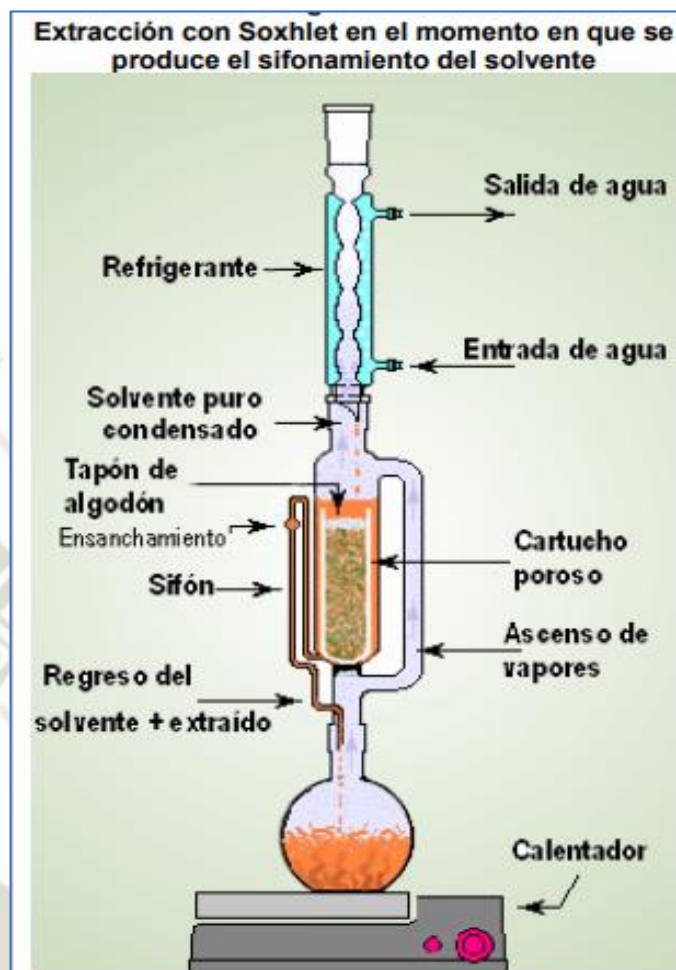
2.5.2. MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS *Azorella compacta*

METODO DE EXTRACCION: EQUIPO SOXHLET

Fundamento

La extracción Soxhlet se fundamenta en las siguientes etapas: 1) colocación del solvente en un balón. 2) ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo. 3) el condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior. 4) ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo que vuelve el solvente con el material extraído al balón. 5) Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesaria para que la muestra quede agotada. Lo extraído se va concentrando en el balón del solvente (Figura N°7) (40).

Figura 7. Descripción del proceso



Fuente: Eduardo C, (2008)

Procedimiento

La extracción con el Soxhlet se realizó utilizando como disolvente etanol, previamente la muestra se colocó en papel filtro, con la ayuda de pabilo se aseguró la muestra con el papel, este se colocó en el tubo de extracción.

En el matraz del equipo se colocó 170 mL de disolvente, luego se armó el equipo, encima en el cuerpo principal se colocó el material vegetal y finalmente en el condensador, se conectaron las mangueras de látex al grifo de agua, finalmente se encendió el mechero y se procedió con la extracción hasta agotamiento de la droga. Siendo la duración de la extracción de 6 ciclos (Figura N° 8) (38).

Figura 8. Obtención del extracto



Fuente: Elaboración propia

Eliminación del disolvente

Una vez terminada la extracción por Soxhlet se procedió a la eliminación del solvente por medio del rotavapor (Figura N° 9) y luego a baño maría, hasta obtener una sustancia líquida de color de la *Azorella compacta*.

Figura 9. Eliminación del disolvente



Fuente: Elaboración propia

2.5.3. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN

METODO GRAVIMÉTRICO: EQUIPO DE ROTAVAPOR

Fundamento

El porcentaje de rendimiento de extracción (%RE) se fundamenta en el método gravimétrico por la diferencia de peso del extracto, es decir, a partir de la separación del solvente del principio activo donde se obtiene un extracto concentrado se usó rotavapor con una temperatura adecuada hasta evaporación del solvente, donde se obtiene en el fondo del recipiente el principio activo concentrado (41).

Fórmula para hallar el porcentaje de rendimiento

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Peso extracto (g)}}{\text{Peso planta seca (g)}} \times 100$$

2.6. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

2.6.1. MÉTODO CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

Para realizar el análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico obtenido mediante extracción por Soxhlet, se utilizó la cromatografía en capa fina.

Fundamento

La Cromatografía en Capa Fina (CCF) es una técnica altamente versátil y económica para ensayos analíticos y preparativos. Ampliamente utilizada en numerosos campos científicos, CCF es particularmente popular para el monitoreo de reacciones, la purificación de muestras y la identificación de compuestos y contaminantes en mezclas (42).

El método se basa en la remoción selectiva de los componentes de una fase a medida que esta fase fluye a través de una segunda fase estacionaria. La separación se debe a que los componentes de la mezcla son atraídos con distinta fuerza por la fase estacionaria a medida que fluye a través de ella. Aquel componente que es atraído con mayor fuerza por la fase estacionaria va quedándose atrás mientras que el componente atraído con menor fuerza va más adelante que los demás a medida que van fluyendo a través de la fase estacionaria (43).

La capacidad de lograr diferenciar la migración (ej., resolución o separaciones) entre los componentes de la mezcla es el resultado de la selectividad, la eficiencia y la capacidad del sistema cromatográfico (el sistema cromatográfico se define como la combinación de la capa, la fase móvil, y los solutos).

El flujo de la fase móvil no es selectivo ya que afecta a todos los solutos no sorbidos por igual. Sin embargo, como parte del sistema cromatográfico, la fase móvil es selectiva (en líquida, pero no en cromatografía de gases) porque ayuda a determinar la solvencia relativa de los solutos.

La acción resistiva de la capa (es decir, adsorción, partición, exclusión de tamaño, intercambio de iones, o una combinación) es también una fuerza selectiva. Dicho de otra manera, todos los componentes o solutos eluidos o no sorbidos pasan el mismo tiempo en la fase móvil. Si hay migración diferencial a lo largo de la capa, es porque los solutos pasan diferentes cantidades de tiempo en el sorbente, según lo determinado por las interacciones del sistema cromatográfico (44).

Polaridad de los compuestos orgánicos en orden creciente:

hidrocarburos < olefinas < flúor < cloro < nitro < aldehído
aldehído < éster < alcohol < cetonas < aminas < ácidos < amida.

Ventajas de la cromatografía en capa fina.

- El utillaje que precisa es más simple.
- El tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor y la separación es generalmente mejor.
- Pueden usarse reveladores corrosivos, que sobre papel destruirían el cromatograma.
- El método es simple y los resultados son fácilmente reproducibles, lo que hace que sea un método adecuado para fines analíticos (45).

Elección del eluyente

Dependerá lógicamente del componente que se va a separar y del material en que la separación se lleva a cabo (45).

Principales eluyentes en orden creciente de polaridad:

- Éter de petróleo
- Éter dietílico
- Ciclohexano
- Acetato de etilo
- Tetracloruro de carbono
- Piridina
- Benceno
- Etanol
- Cloroformo
- Metanol
- Diclorometano
- Agua-Ácido acético (46).

2.6.2. PREPARACIÓN DE LA FASE MÓVIL

Se mezclaron los solventes elegidos en la cuba cromatográfica de tal forma que el volumen de la mezcla no sobrepasó la línea de sembrado de la fase estacionaria, la cual fue 10 mL.

Seguidamente se tapó la cuba cromatográfica y luego se dejó en reposo para que se sature el medio aproximadamente de 7 a 10 minutos (46).

2.6.3. PREPARACIÓN DE PLACA CROMATOGRÁFICA

Para el análisis fitoquímico preliminar se prepararon las placas cromatográficas, realizando cortes de 10 x 2 cm. Luego se procedió a trazar las líneas de sembrado y límite del disolvente. Se preparó las fases móviles y reveladores adecuados, se sembró diez veces dejando secar entre siembra y siembra con la ayuda de un capilar, una vez realizada la siembra del extracto se colocó en las cubas cromatográficas que contenían las fases móviles o mezclas de disolventes 10 minutos antes para que se sature el medio y se procedió al desarrollo del análisis. Terminado este proceso se realizó el revelado (44).

A continuación, en la Tabla N° 1 se muestran las fases móviles y reveladores utilizados (46).

Tabla 1. Fases móviles y reveladores usados en las pruebas cromatográficas.

Metabolitos	Fase Móvil	Revelador
Flavonoide	Acetato de etilo: Etanol:Agua (7:2:1)	Cloruro de aluminio 1 % en etanol
Taninos	Metanol:Agua (7:3) Acetato de Etilo:Metanol (8:2)	Cloruro férrico 5 % en etanol
Alcaloides	Ácido acético: Metanol: Agua (7:1:2)	Reactivo de Dragendorff
Terpenos	Tolueno: Acetato de etilo (9.5:0.5)	Reactivo de Liebermann
General	Hexano:Acetona (8:2)	Reactivo de Vainillina – Ácido sulfúrico

Fuente. Carbajal C y Ramirez I, (2018)

2.7. PREPARACIÓN DE LA CREMA

Para la elaboración de crema se incorporara parabenos como preservantes antimicrobianos y unas gotas de trietanolamina (TEA) para regular el pH a 6.5 – 7. Primeramente, se verificó la limpieza y sequedad de los materiales a utilizar, luego se pesaron los componentes involucrados para la preparación de la crema y se procedió a darle una forma farmacéutica (38).

Para el procedimiento de elaboración específico de la crema a base del extracto en primer lugar se tomó un beaker (vaso A) y se disolvió completamente el metilparabeno en agua destilada hasta disolver completamente, luego se añadió el propilenglicol hasta homogenizar, seguidamente se agrega la glicerina hasta homogenizar, se añade luego el extracto y se homogeniza, luego se agrega la TEA y se midió el pH con cinta indicadora cuyo pH debe estar entre 6.5 - 7, toda la mezcla se llevó a baño maría aproximadamente entre 60° a 90°C. En otro segundo beaker (vaso B), se colocó el beaker en baño maría aproximadamente a 60°C con reactivo alcohol cetílico y ácido esteárico hasta completa fusión (agitando lentamente con una bagueta).

Como tercer paso, se mezcló poco a poco, añadiendo el vaso A sobre el vaso B, agitando lentamente con una bagueta por un lapso de 5 min. Y luego se retiró del baño maría, se siguió agitando hasta que enfríe (aprox 40°C), luego se procedió al envasado, la formulación utilizada en la preparación de la crema tópica la podemos observar en la Tabla N° 2.

Tabla 2. Formulación de la crema tópica

Propilenglicol 5 mL.	Agente humectante. emulsionante
Alcohol cetílico 9 g.	Confiere estabilidad, textura y aumenta su consistencia
Metilparabeno 0.1 g	Preservante
Extracto blando de <i>Azorella compacta</i> al 10,20,30% (10,20,30 g)	Complejo Activo
Glicerina 5mL	Hidratación, humectación
Acido esteárico 9 g	Hidratación, emulgente
Trietanolamina 1 mL	Base neutralizante, emulsionante
Agua destilada c.s,p 100 g de crema	Vehículo

Fuente. Elaboración propia

2.8. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN CONDUCTORA

Para medir la inflamación en el equipo de pletismómetro se procedió a pesar 1 g de cloruro de sodio en 1000 mL de agua destilada, con el fin de evitar la formación del menisco en las paredes del depósito a esta solución se le agregó 15 gotas de tritón X-100 (tensioactivo no iónico) y se agitó continuamente hasta obtener una disolución total y homogénea, esta solución se colocó en el envase reservorio, ubicado en la parte superior del soporte, luego, se prendió el pletismómetro verificándose que la pantalla del mismo indique 0.00. Se abrió la llave que conecta el envase reservorio con los dos depósitos, el cual permitió la entrada de la solución conductora hasta la marca de la vasija volumétrica. Se observó que el *check solution* midió 92 el cual se centraba dentro del rango (40- 160) luego, se presionó el botón “zero” para indicar un volumen de inicio de 0 mL., seguidamente, se calibró el equipo introduciendo la pesa habitual dando un volumen de 3 mL en la vasija volumétrica y se presionó el botón “*calibration*” se retiró el patrón (pesa) y se comprobó que el instrumento indique 0.00. Efectuado este proceso, el pletismómetro estuvo listo para medir las

variaciones de volumen del edema plantar en la pata de los animales de experimentación (46).

2.9. INDUCCIÓN DEL EDEMA PLANTAR POR CARRAGENINA

La solución de carragenina al 1%, disuelta en suero fisiológico fue inyectada en la superficie plantar de la pata de las ratas, induciendo a una inflamación aguda de la pata, la cual llegó a su máximo nivel 3 horas después de la inyección. Este modelo se ha utilizado durante mucho tiempo para evaluar las propiedades antiinflamatorias de diferentes extractos de plantas que exhiben propiedades antiinflamatorias.

El procedimiento utilizado para inducir el edema plantar por carragenina, consistió en una limpieza de la zona plantar de la pata posterior derecha de la rata. Posteriormente se utilizó una jeringa de tuberculina (capacidad de 1 mL) y se administró por vía subcutánea 0.1 mL de la solución al 1% de carragenina en agua destilada (Figura N° 10) (46).

Figura 10. Inducción del edema



Fuente. Elaboración propia

2.10. MEDICIÓN DEL EDEMA PLANTAR

La medición del edema plantar se realizó utilizando un pletismómetro digital el cual es un instrumento que permitió medir los cambios en el volumen plantar (mL). La pata del animal de experimentación se sumerge en la solución conductora de la vasija volumétrica, provocándose un cambio en su volumen, lo que induce a una alteración de la conductancia entre los dos electrodos de platino. El pletismómetro presenta un detector que reconoce este cambio de conductividad y genera una señal de salida a la pantalla digital que indica el desplazamiento de volumen con una resolución de 0.01 mL. Por lo tanto, de acuerdo al principio de Arquímedes, el volumen de un cuerpo sumergido (pata del animal) es igual al volumen de fluido desplazado, teniéndose en

cuenta que a mayor inflamación (evidenciada por la formación del edema) mayor será el volumen desplazado (46).

2.11. MÉTODO PARA LA EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA

2.11.1. ESTANDARIZACIÓN DE LOS ANIMALES

Los animales de experimentación que se utilizaron en número de 24 fueron previamente sometidos a un procedimiento de estandarización que consiste en tener las mismas condiciones de vida en cautiverio, en cuanto a la alimentación, bebida y ambiente, hasta seis horas antes de la experimentación. Esta fase también incluye el pesado de los animales para verificar que se ubican dentro del mismo rango de peso corporal. Luego de ello se identificó a cada animal generándole pintas en su pelambre, una vez identificados fueron asignados al azar a los grupos experimentales de la intervención final (44).

2.11.2. MEDICIÓN DE VALORES BASALES Y EXPERIMENTALES

Los animales de experimentación en particular los volúmenes de las patas a ser inflamadas fueron previamente medidas, para obtener la medición basal. Este valor es importante como referencia inicial de la pata sana. Esta medición y las demás se realizaron con el pletismómetro digital (44).

PROCEDIMIENTO.

La medición del volumen basal y experimental consistió en introducir la pata previamente marcada del animal en cada cubeta volumétrica y registrar el cambio de volumen que se observaba en el panel del instrumento. Por cada cinco mediciones se calibraba el pletismómetro con una pesa estandarizada de tres mL (44).

2.12. ANALISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron procesados mediante el software SPSS 20.0, para lo cual se realizó las siguientes pruebas estadísticas:

ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN RECOLECTADA

La actividad antiinflamatoria se expresa como el porcentaje de reducción del edema en las ratas tratadas con los tratamientos con respecto al volumen a la tercera hora luego de administración de la carragenina aplicando la siguiente fórmula (44).

Fórmula para hallar el porcentaje de reducción del edema

$$\% \text{ Reducción} = \frac{V3 - VEx}{VEx} \times 100$$

Donde V3 es el volumen de la pata medida a la tercera hora luego de administrada la carragenina y VEx es el volumen experimental de la pata medido después de la inyección del agente antiinflamatorio y el tratamiento (38).

2.12.1. ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA)

El ANOVA de un factor nos sirve para comparar varios grupos en la variable cuantitativa. Se aplica para contrastar la igualdad de medias de tres o más poblaciones. En una tabla de ANOVA, se ofrece el estadístico F con su nivel de significación. Si el nivel de significación p es menor o igual que 0.05, se asume que existen diferencias significativas entre los tratamientos y se rechaza la hipótesis de igualdad de medias, si p es mayor que 0.05 se acepta la igualdad de promedios en los tratamientos, es decir, no existen diferencias significativas entre los grupos. Los tratamientos que tengan promedios que difieran de forma significativa (<0,05) son los que demuestran diferencias significativas entre sí. Cuando se denotas diferencias lo que se debe hacer es determinar entre que grupos de tratamientos se establecen esas diferencias significativas (47).

2.12.2. PRUEBA TUKEY

La prueba de Tukey es un contraste que tiene la finalidad de establecer comparaciones por pares de las medias correspondientes de cada tratamiento a partir de los resultados del análisis de varianza en varios grupos experimentales sometidos a diferentes tratamientos. Este contraste nos permitirá hacer un discernimiento más claro sobre si los resultados de la investigación son difieren o no de forma significativa. La traducción de las siglas en inglés *Tukey's HSD test* es prueba de diferencia honestamente significativa de Tukey.

Cuando la diferencia entre dos pares de promedios excede al valor w que es el valor de comparación de Tukey, se puede concluir que los promedios son diferentes, pero si la diferencia resulta inferior a este valor, entonces se trata de dos grupos con valores promedio similares o idénticos. El valor w referido es conocido como índice HSD (Diferencia Honestamente Significativa) (48).

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

El extracto de *Azorella compacta* o “yareta” se obtuvo mediante el método de extracción por Soxhlet, este método fue desarrollado utilizando 20 gramos de droga para la obtención de un extracto blando al 20% de dicha planta y 170 mL de disolvente (alcohol etílico de 96°), el proceso de extracción se realizó hasta obtener la cantidad de extracto requerida.

Fórmula para hallar el porcentaje de rendimiento

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Peso extracto (g)}}{\text{Peso planta seca (g)}} \times 100$$

Tabla 3. Concentración del extracto método Soxhlet

Extracción	Peso de la planta (g)	Solvente (etanol 96°)	Peso inicial extracto (g)	Peso final extracto (g)	Rendimiento (%)
1	20.00	170.00	135.00	4.10	20.50
2	20.01	170.00	135.00	4.00	19.99
3	20.00	170.00	136.00	4.20	21.00
Promedio	20.00	170.00	135.33	4.10	20.50
D. Estándar	0.01	0.00	0.58	0.10	0.51

Fuente. Elaboración propia

La Tabla N° 3 muestra el rendimiento de la droga según el método de extracción que fue mediante Soxhlet, se observa que yareta presenta un buen rendimiento ya que en promedio 20 g de planta medicinal provee alrededor de 4 g de extracto blando, que en términos porcentuales equivale al 20%.

3.2. ANALISIS FIITOQUIMICO PRELIMINAR

La cromatografía en capa fina fue realizada con el extracto blando concentrado, los resultados del análisis fitoquímico por cromatografía en capa fina se detallan en la Tabla N° 4.

Tabla 4. Cromatografía en capa fina. Resultados del extracto etanólico de *Azorella compacta* "Yareta"

Metabolitos	Fase Móvil	Revelador
<i>Flavonoide</i>	Acetato de etilo:Etanol:Agua (7:2:1)	Cloruro de aluminio 1 % en etanol
<i>Resultado</i>	POSITIVO	
Taninos	Metanol:Agua (7:3) Acetato de Etilo:Metanol (8:2)	Cloruro férrico 5 % en etanol
<i>Resultado</i>	NEGATIVO	
Alcaloides	Ácido acético: Metanol: Agua (7:1:2)	Reactivo de Dragendorff
<i>Resultado</i>	NEGATIVO	
Terpenos	Tolueno: Acetato de etilo (9.5:0.5)	Reactivo de Liebermann
<i>Resultado</i>	POSITIVO	
General	Hexano:Acetona (8:2)	Reactivo de Vainillina – Ácido sulfúrico
<i>Resultado</i>	POSITIVO	

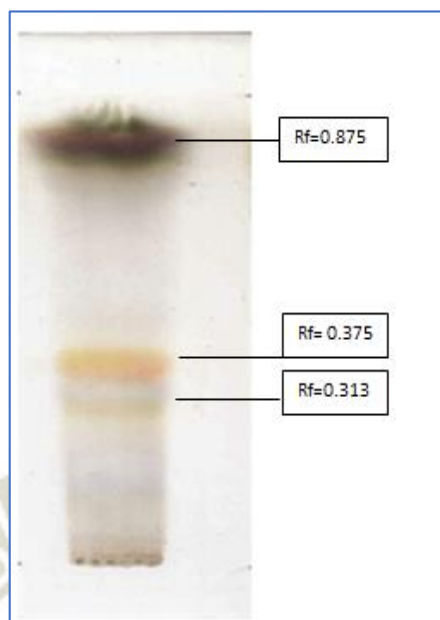
Fuente. Elaboración propia

3.2.1. IDENTIFICACIÓN GENERAL

La identificación general se realizó con la fase móvil n-hexano-acetona (8:2) El revelador utilizado fue de vainillina-ácido sulfúrico en solución etanólica.

La placa para la reacción general, muestra bandas de color verde, amarillo, anaranjado rojizo con factores de retención de 0.313, 0.375 y 0.875, los resultados obtenidos podrian tratarse de grupos de metabolitos secundarios como terpenos, diterpenos, saponinas terpenoidales y flavonoides, tal como se observa en la Figura N° 11.

Figura 11. Identificación general

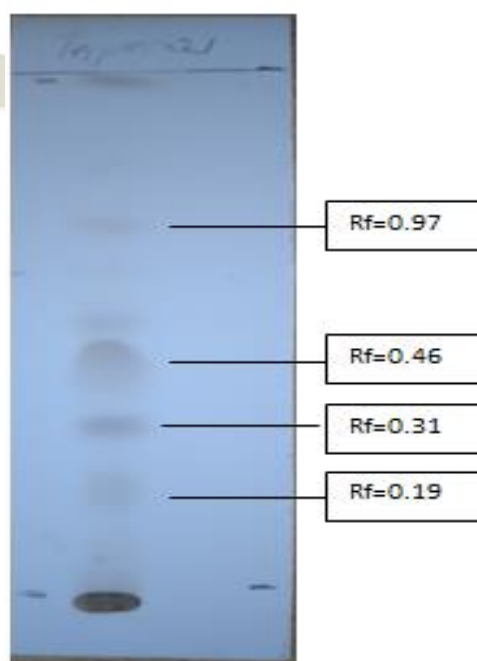


Fuente. Elaboración propia

3.2.2. TERPENOS

La fase móvil utilizada para este análisis fue tolueno-acetato de etilo (9,5:0.5). La identificación de compuestos de tipo terpenos se realizó con el reactivo de Liebermann Burchard.

Figura 12. Identificación de terpenos



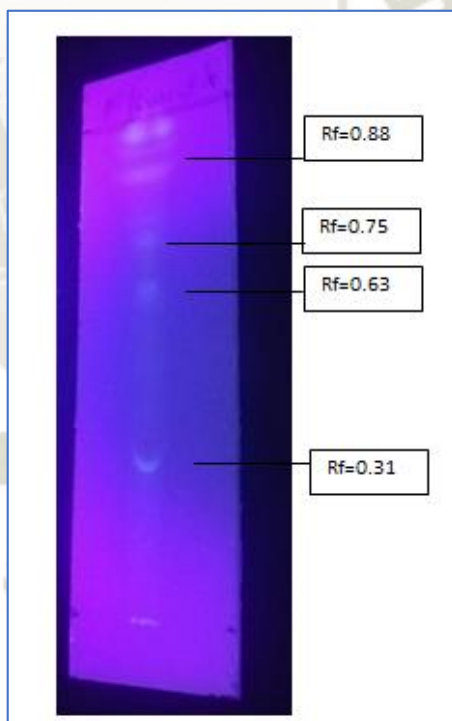
Fuente. Elaboración propia

La placa para compuestos terpénicos y su esquema representativo, muestra bandas de color verde, azul-moradas, rosas y amarillo verdosas en el espectro UV a 254 nm, con factores respectivos de 0.19, 0.31, 0.46, y 0.97, se observan en la Figura N° 12. Estas manchas corresponderían a compuestos tipo saponinas para las manchas rosas, terpenos y diterpenos amarillos -verdosos. El revelador utilizado fue el reactivo Liebermann-Burchard.

3.2.3. FLAVONOIDES

La fase móvil utilizado para este análisis fue acetato de etilo, etanol, agua (7:2:1). Para el revelado de compuestos de tipo flavonoides se realizó con una solución etanólica de cloruro de aluminio al 1%.

Figura 13. Identificación de flavonoides



Fuente. Elaboración propia

La placa para compuestos flavonoides y su esquema representativo, muestra manchas de color amarillo fluorescentes bajo el espectro UV a una longitud de onda de 365 nm, el valor del factor de retención respectivo es de 0.31, 0.63, 0.75 y 0.88, se observa en la Figura N° 13, Esta mancha correspondería a compuestos tipo flavonoides.

3.3. ELABORACION DE LA CREMA

Para la elaboración de la crema de *Azorella compacta* se aplicó la formulación de la tabla N° 2, se preparó a tres concentraciones de 10, 20 y 30% (Figura N° 14)

Figura 14. Presentación de la crema



Fuente. Elaboración propia

3.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

3.4.1. Inducción del proceso inflamatorio

Conforme se describe en el apartado de metodologías del capítulo antecedente, se procedió a inducir experimentalmente el proceso inflamatorio mediante la administración de una solución de carragenina vía SC, con el objetivo de generar edema local en la pata del animal, (Figura N° 15), pero previamente se midieron los volúmenes basales de cada una de las patas a inflamar, luego de 3 horas de administrada la carragenina se volvieron a medir los volúmenes correspondientes al volumen inflamatorio. Ello con la finalidad de verificar si ocurrió la inflamación y en qué medida, estos volúmenes inflamatorios se recogen en los anexos de esta investigación.

Posteriormente se calcularon los porcentajes de incremento de la inflamación según la fórmula porcentual descrita.

Figura 15. Efecto inflamatorio



Fuente. Elaboración propia

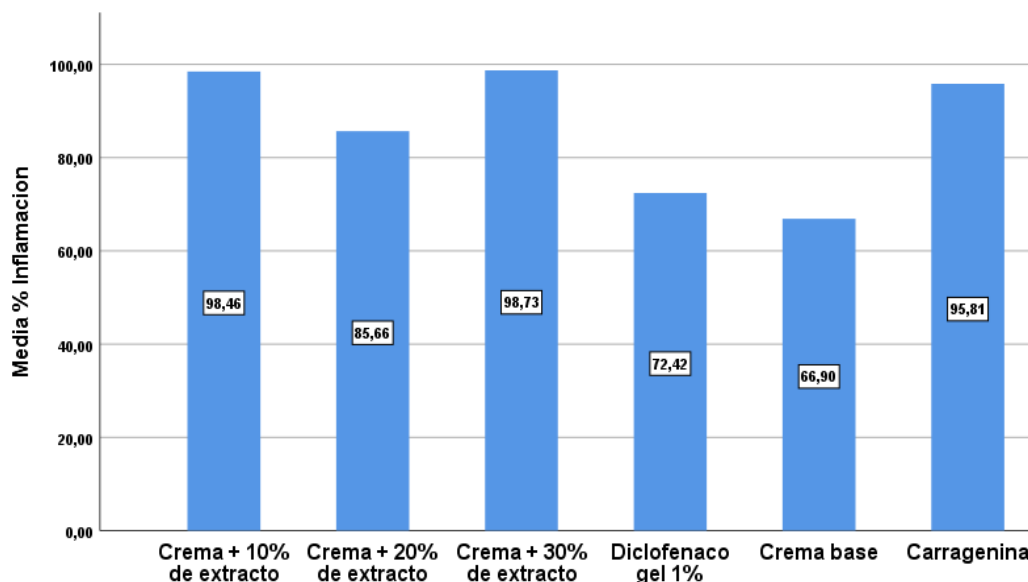
Tabla 5. Análisis descriptivo de los porcentajes de inflamación a las 3 horas luego de la administración de carragenina.

	N	Media	Desv. Desviación	Mínimo	Máximo
Crema con 10% de extracto	4	98.4550	11.44861	89.47	113.58
Crema con 20% de extracto	4	85.6550	13.88451	75.00	105.63
Crema con 30% de extracto	4	98.7300	24.56747	62.50	115.85
Diclofenaco gel 1%	4	72.4225	7.48889	63.51	81.82
Crema base	4	66.8950	20.58985	54.12	97.50
Carragenina	4	95.8125	18.67750	73.08	117.72

Fuente. Elaboración propia

Tal como se aprecia en la Tabla N° 5, los porcentajes de inflamación obtenidos para cada grupo experimental son muy diversos teniendo un valor promedio menor de 66.8% correspondiente al grupo tratado con crema base y un valor promedio mayor de 98.7% de inflamación correspondiente al grupo crema más 30% de extracto de *Azorella compacta* (yareta).

Figura 16. Porcentajes de inflamación a las 3 horas de cada grupo experimental



Fuente. Elaboración propia

Ante esta diversidad de resultados es importante realizar un análisis de varianza con la finalidad de comparar las medias de los grupos en cuanto a porcentajes de incremento de inflamación.

Tabla 6. Análisis de varianza a los porcentajes de inflamación a las 3 horas luego de la administración de carragenina

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3849,147	5	769,829	2,630	,059
Dentro de grupos	5268,855	18	292,714		
Total	9118,003	23			

Fuente. Elaboración propia

El análisis de varianza realizado en el programa estadístico SPSS, cuyo cuadro resultados se aprecia en la Tabla N° 6, indica o tiene como Sig.= 0.059, este valor es superior al nivel permitido al que se ha ejecutado este análisis que es del 0.05, por lo que se acepta la hipótesis nula de igualdad de medias, concluyendo que no existen diferencias estadísticas entre los porcentajes de incremento de la inflamación.

Tabla 7. Test de Tukey de los porcentajes de inflamación a las 3 horas luego de la administración de carragenina

Grupos Trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Crema base	4	66.8950
Diclofenaco gel 1%	4	72.4225
Crema con 20% de extracto	4	85.6550
Carragenina	4	95.8125
Crema con 10% de extracto	4	98.4550
Crema con 30% de extracto	4	98.7300
Sig.		,140

Fuente. Elaboración propia

El Test de Tukey realizado en el mismo programa junto al análisis de varianza confirma la igualdad de medias estadística, ya que todos los grupos experimentales conforman un solo subconjunto, por lo que concluimos que todos los grupos tienen porcentajes de incremento de la inflamación estadísticamente similares, lo que considero es apropiado ya que todos los animales de experimentación han experimentado procesos inflamatorios similares, considerando los valores mínimos y máximos descritos en la Tabla N° 7, es que todos tienen valores considerables de porcentajes de incremento de la inflamación tras tres horas de administrar la carragenina por vía subcutánea.

3.4.2. Evaluación de los tratamientos experimentales

Luego de la medición de los volúmenes inflamatorios, que fue a las tres horas de administrada la carragenina, se procedió a la aplicación de los tratamientos experimentales consistentes en cremas conteniendo extractos de *Azorella compacta* (yareta) al 10, 20 y 30 % respectivamente, además de la evaluación de los controles positivo y negativo.

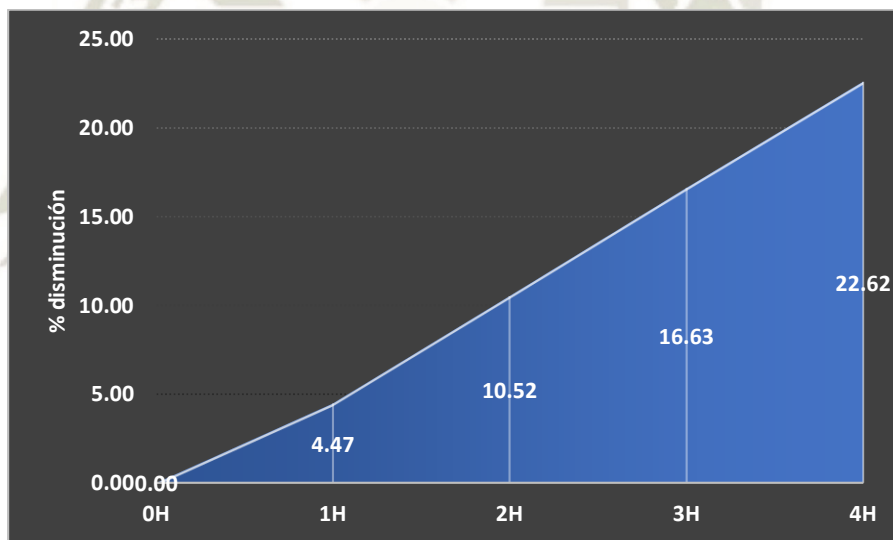
Con tal finalidad se realizaron mediciones luego de estas administraciones a las 1, 2, 3 y 4 horas, obteniéndose nuevas lecturas de mL de inflamación, a través del pletismómetro digital. Cada una de estas lecturas fue comparada con el volumen máximo de inflamación (de las tres horas luego de la carragenina), obteniéndose un porcentaje de decremento o disminución de la inflamación. Estos valores o hallazgos se exponen en la Tabla N° 8.

Tabla 8. Porcentaje de disminución de la inflamación para el grupo tratado con crema más extracto de yareta al 10%

N° Animal	% de disminución de la inflamación			
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	8.56	14.44	17.11	21.93
2	1.16	3.47	11.56	21.39
3	7.07	13.04	21.20	27.72
4	1.11	11.11	16.67	19.44
Promedio	4.47	10.52	16.63	22.62
AUC	2.24	7.49	13.57	19.63

Fuente. Elaboración propia

Figura 17. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 10%



Fuente. Elaboración propia

Como se observa en la Tabla N° 8, los porcentajes de disminución de la inflamación para el grupo tratado con crema más extracto de yareta al 10%, se representan en la Figura N° 17, se aprecia una curva ascendente de porcentaje de disminución de 4.47% a la primera hora, llegando a 22.62% a la cuarta hora, esta línea proyecta una área hacia abajo, de la que se calculó su área. Precisamente esta área bajo la curva hallada se describe en la última fila de la misma tabla, las áreas individuales de cada animal serán totalizadas para posteriormente comparar entre grupos experimentales todas las áreas, lo que permite tener una sola medición y no varias por cada hora, permitiendo tener una

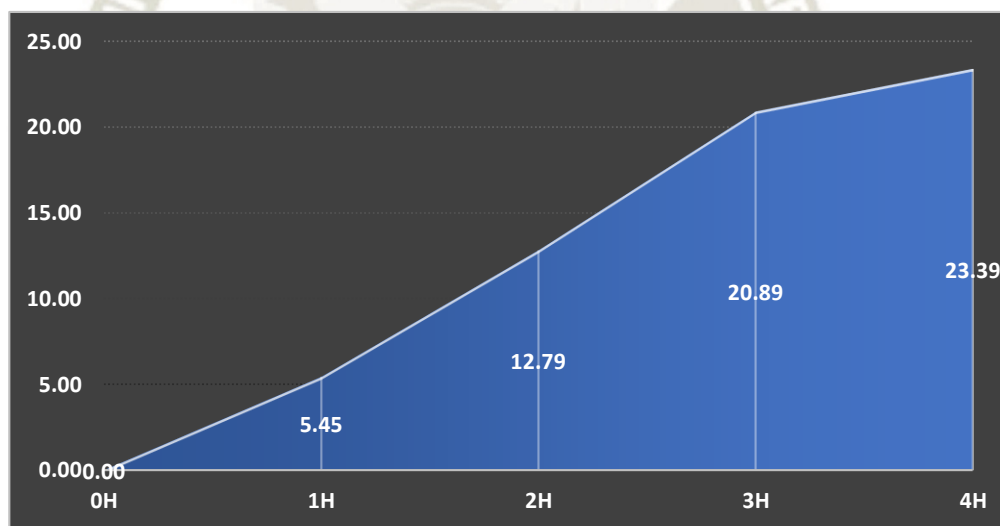
comprensión integral de todo el proceso experimental y su adecuada comparación.

Tabla 9. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 20%

N° Animal	% de disminución de la inflamación			
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	5.26	18.05	19.55	20.30
2	7.28	10.60	21.85	25.83
3	2.05	6.85	21.23	22.60
4	7.19	15.69	20.92	24.84
Promedio	5.45	12.79	20.89	23.39
AUC	2.72	9.12	16.84	22.14

Fuente. Elaboración propia

Figura 18. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 20%



Fuente. Elaboración propia

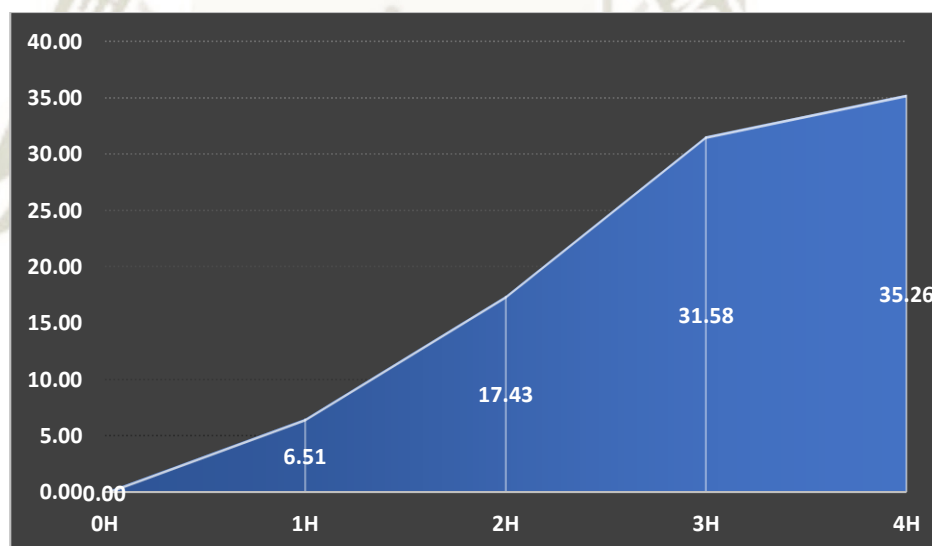
Como se observa en la Tabla N° 9, los porcentajes de disminución de la inflamación para el grupo tratado con crema más extracto de yareta al 20%, se representa en la Figura N° 18, se aprecia una curva ascendente de porcentaje de disminución de 5.45% a la primera hora, llegando a 23.39% a la cuarta hora, esta línea proyecta una área hacia abajo, de la que se calculó su área. Del mismo modo se calculó el área bajo la curva proyectada, cuyos resultados se encuentran en la última fila de la tabla en mención.

Tabla 10. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 30%

N° Animal	% de disminución de la inflamación			
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	2.82	16.38	33.90	34.46
2	9.04	18.07	33.73	38.55
3	7.14	23.08	32.42	34.07
4	7.05	12.18	26.28	33.97
Promedio	6.51	17.43	31.58	35.26
AUC	3.26	11.97	24.51	33.42

Fuente. Elaboración propia

Figura 19. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con crema más extracto de yareta al 30%



Fuente. Elaboración propia

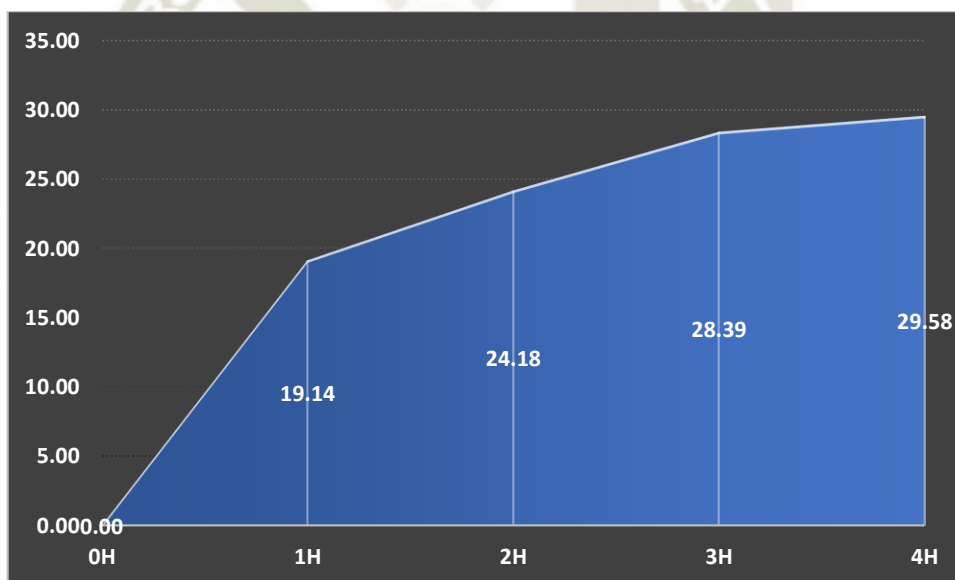
En la Tabla N° 10, se exponen los porcentajes de disminución de la inflamación para el grupo tratado con crema más extracto de yareta al 30%, representado en la Figura N° 19, el cual muestra una curva ascendente de porcentaje de disminución de 6.51% a la primera hora, llegando a 35.26% a la cuarta hora, esta línea proyecta una área hacia abajo, de la que se calculó su área. Del mismo modo se calculó el área bajo la curva proyectada, cuyos resultados se encuentran en la última fila de la tabla en mención.

Tabla 11. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo tratado con gel de diclofenaco al 1%

N° Animal	% de disminución de la inflamación			
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	14.05	19.01	19.83	20.66
2	24.14	25.52	28.97	30.34
3	19.62	25.32	32.28	33.54
4	18.75	26.88	32.50	33.75
Promedio	19.14	24.18	28.39	29.58
AUC	9.57	21.66	26.29	28.98

Fuente. Elaboración propia

Figura 20. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con gel de diclofenaco al 1%



Fuente. Elaboración propia

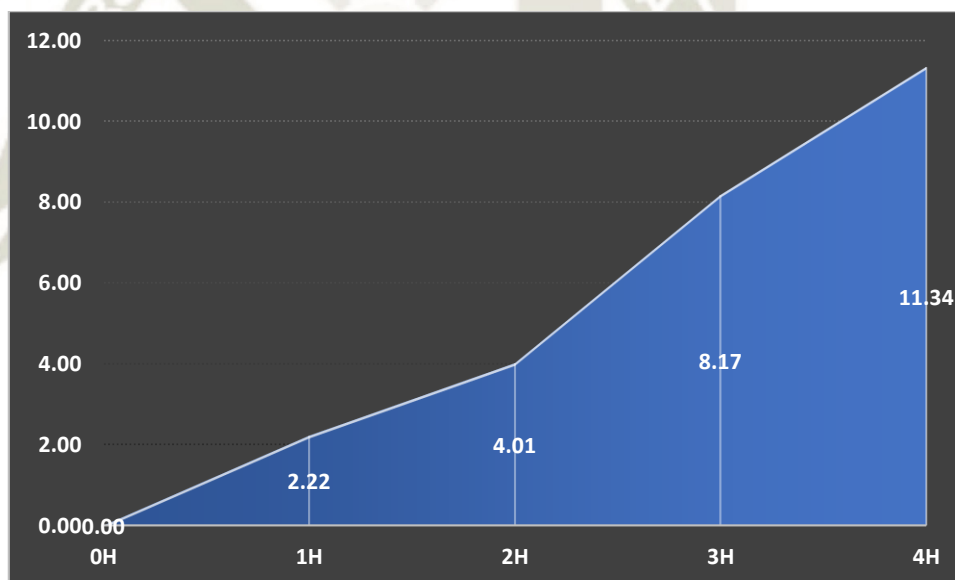
En la Tabla N° 11, se observan los porcentajes de disminución de la inflamación para el grupo tratado con diclofenaco en gel al 1%, cuyos datos están representados en la Figura N° 20, se aprecia una curva ascendente de porcentaje de disminución de 19.14% a la primera hora, llegando a 29.58% a la cuarta hora, esta línea proyecta una área hacia abajo, de la que se calculó su área. Del mismo modo se calculó el área bajo la curva proyectada, cuyos resultados se encuentran en la última fila de la tabla en mención.

Tabla 12. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo tratado con la base de la crema

N° Animal	% de disminución de la inflamación			
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	1.64	3.28	5.74	9.84
2	1.40	3.50	9.09	9.79
3	0.76	2.29	4.58	9.92
4	5.06	6.96	13.29	15.82
Promedio	2.22	4.01	8.17	11.34
AUC	1.11	3.11	6.09	9.76

Fuente. Elaboración propia

Figura 21. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo tratado con la base de la crema



Fuente. Elaboración propia

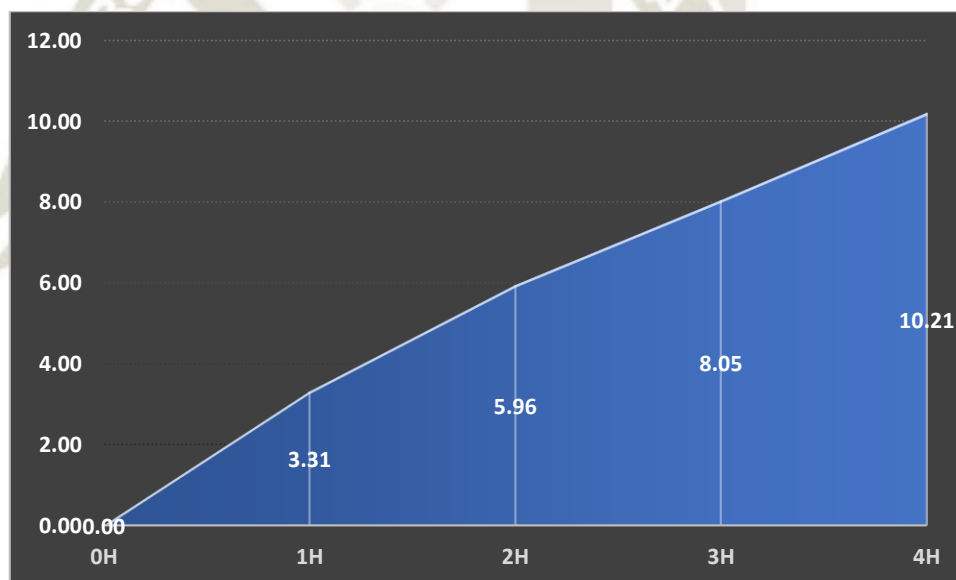
En la Tabla N° 12 se presentan los porcentajes de disminución de la inflamación para el grupo tratado con la crema base (sin extracto de *Azorella compacta*), dichos datos están representados en la Figura N° 21, se aprecia una curva ascendente de porcentaje de disminución de 2.22% a la primera hora, llegando a 11.34% a la cuarta hora, esta línea proyecta una área hacia abajo, de la que se calculó su área. Del mismo modo se calculó el área bajo la curva proyectada, cuyos resultados se encuentran en la última fila de la tabla en mención.

Tabla 13. Porcentaje de disminución de la inflamación del grupo control negativo

N° Animal	% de disminución de la inflamación			
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	4.79	7.19	9.58	13.17
2	1.74	6.40	7.56	10.47
3	1.48	3.70	5.93	7.41
4	5.23	6.54	9.15	9.80
Promedio	3.31	5.96	8.05	10.21
AUC	1.66	4.63	7.00	9.13

Fuente. Elaboración propia

Figura 22. Área bajo la curva para los porcentajes de disminución de la inflamación del grupo control negativo



Fuente. Elaboración propia

En la Tabla N° 13 se presentan los porcentajes de disminución de la inflamación para el grupo control negativo, grupo que no recibió tratamiento alguno también conocido como control negativo. Estos datos están representados en la Figura N° 22 se aprecia una curva ascendente de porcentaje de disminución de 3.31% a la primera hora, llegando a 10.3% a la cuarta hora, esta línea proyecta una área hacia abajo, de la que se calculó su área.

Del mismo modo se calculó el área bajo la curva proyectada, cuyos resultados se encuentran en la última fila de la tabla en mención.

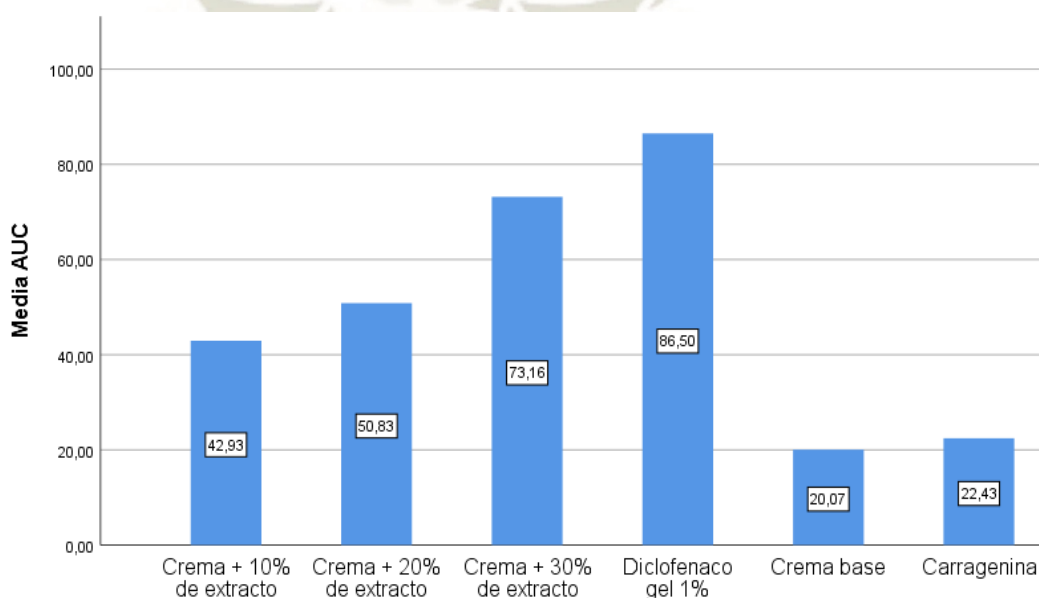
Tabla 14: Análisis descriptivo de las Áreas bajo la curva de los porcentajes de disminución de la inflamación.

	N	Media	Desv. Desviación	Mínimo	Máximo
Crema con 10% de extracto	4	42.9300	12.80752	26.88	55.16
Crema con 20% de extracto	4	50.8275	6.45965	41.44	56.21
Crema con 30% de extracto	4	73.1575	8.41447	62.50	80.12
Diclofenaco gel 1%	4	86.5000	15.52903	63.22	95.00
Crema base	4	20.0700	9.14062	12.60	33.23
Carragenina	4	22.4250	5.89945	14.81	28.14

Fuente. Elaboración propia

A continuación, se presenta en la Tabla N° 14 el análisis descriptivo de todas las áreas bajo la curva obtenidas de los porcentajes de disminución de la inflamación de todos los grupos experimentales.

Figura 23. Áreas bajo la curva de los porcentajes de disminución de la inflamación de todos los grupos experimentales.



Fuente. Elaboración propia

En la Figura representativa N° 23, ordena y permite mejor apreciar dichos resultados, se nota que los grupos con áreas más pequeñas corresponden a los grupos tratados con crema base y al grupo control negativo, para el resto de grupos existe áreas bajo la curva que van del menor valor correspondiente al grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 10%, luego el grupo que recibió crema con extracto al 20%, luego al 30%, y finalmente el grupo tratado con gel de diclofenaco al 1% con el mayor área bajo la curva con 86.5%.

Tabla 15. Análisis de varianza de las Áreas bajo la curva de los porcentajes de disminución de la inflamación

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	14290,348	5	2858,070	26,960	,000
Dentro de grupos	1908,204	18	106,011		
Total	16198,552	23			

Fuente. Elaboración propia

El análisis de varianza de las áreas bajo la curva que se obtuvieron a partir de los porcentajes de disminución de la inflamación, realizado en el programa estadístico SPSS, cuyo cuadro resultados se aprecia en la Tabla N° 15, presenta un valor Sig.= 0.000, este valor se encuentra por debajo del nivel permitido al que se ha ejecutado este análisis que es del 0.05, por lo que se rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias, concluyendo que si existen diferencias estadísticas entre las áreas bajo la curva de todos los grupos experimentales.

Tabla 16. Test de Tukey de las Áreas bajo la curva de los porcentajes de disminución de la inflamación

Grupos Trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Crema base	4	20.0700			
Carragenina	4	22.4250			
Crema + 10% de extracto	4	42.9300	42.9300		
Crema + 20% de extracto	4		50.8275	50.8275	
Crema + 30% de extracto	4			73.1575	73.1575
Diclofenaco gel 1%	4				86.5000
Sig.		,054	,881	,062	,471

Fuente. Elaboración propia

El Test de Tukey realizado al establecer comparaciones de todos los grupos en pares, establece específicamente las diferencias significativas, el cuadro resumen de estas comparaciones múltiples se muestra en la Tabla N° 16, en primer lugar se observa que los grupos sin eficacia son el grupo tratado con la crema base y el grupo control negativo (carragenina), ya que constituyen un subconjunto denominado “1”, y que se diferencia del resto de grupos, en cuanto al grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 10% constituye un grupo sin eficacia ya que tiene similitudes con el grupo de control negativo, referente al grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 20%, presenta una eficacia intermedia, ya que se diferencia del grupo control negativo y del grupo control positivo (diclofenaco en gel al 1%), finalmente el grupo tratado con extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 30% presenta una eficacia mayor al resto de grupos experimentales ya que mantiene similitudes estadísticamente significativas con el grupo control positivo, no obstante, esta eficacia no es absoluta ya que también muestra similitudes con el tratamiento con eficacia intermedia, esto es, el grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 20%.

DISCUSIÓN

En el trabajo de investigación se ha comprobado el efecto reductor en la inflamación que tiene la especie *Azorella compacta* “yareta” como lo demuestran nuestros hallazgos. El efecto antiinflamatorio más significativo observado en el tiempo que duró la experimentación, fue con la administración de crema con extracto al 30%, con un área bajo la curva similar al grupo control positivo que recibió diclofenaco en gel al 1%.

Respecto a la evaluación experimental en laboratorio de las propiedades antiinflamatorias de esta especie, debemos decir que existe muy poca o casi ninguna investigación referida específicamente a la comprobación del efecto reductor sobre el edema plantar producido por *Azorella compacta*, siendo nuestra investigación en ese sentido inédita, en muchos estudios solo se menciona de manera referencial el efecto antiinflamatorio de la yareta.

En el trabajo de investigación denominado, “Determinación del efecto antiinflamatorio, toxicidad dérmica aguda del extracto hidroalcohólico al 70 % de las raíces de *Azorella biloba* (Schltdl.) Wedd. “Tulluma” en animales de experimentación y elaboración de un gel tópico” se evaluó la eficacia del efecto antiinflamatorio dérmico de dicho extracto y gel, por el método del edema auricular en animales de experimentación dando como resultado que los extractos y gel tiene eficacia antiinflamatoria similar respecto al fármaco patrón indometacina (49).

Backhouse, N., y cols y Brack, A. confirman que *A. compacta* posee algunos principios activos como lactosas sesquiterpénicas, con diferente actividad farmacológica propiedad antiinflamatoria y analgésica (50,51).

Gutierrez P. hace referencia a un componente diterpeno derivado de yareta, llamado M2 (El Acido mulin-11,13-dien-20-oico), tal componente se extrajo de especies oriundas de la zona andina y algunas evaluaciones experimentales determinan a este componente con facultades antiinflamatorias, ya que inhibiría la acción del ácido araquidónico en alrededor de 56 %, lo cual se considera como muy elevada actividad contra la inflamación (52).

CONCLUSIONES

PRIMERA:

Se obtuvo el extracto etanólico de la especie *Azorella compacta* (yareta), con un porcentaje de rendimiento de extracción del 20.50 %, mediante el método Soxhlet y se preparó de una crema tópica con el extracto obtenido.

SEGUNDA:

Se identificó grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Azorella compacta*, mediante un análisis de cromatografía de capa fina, los compuestos identificados son: terpenos, diterpenos, saponinas terpenoidales y flavonoides

TERCERA:

Se evaluó el efecto antiinflamatorio tópico de las cremas con extracto de *Azorella compacta* “yareta” al 10, 20 y 30% respectivamente, en animales de experimentación, mediante el método de inducción de edema inflamatorio con carragenina., donde el tratamiento con mayor eficacia corresponde al grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 30%.

CUARTA:

Se comparó el efecto antiinflamatorio de la crema más extracto de *Azorella compacta* al 30% con un grupo control positivo que recibió como tratamiento diclofenaco gel tópico al 1%; se observó en el análisis estadístico a través del análisis de varianza y el test de Tukey, ejecutados a un nivel de confianza del 95%, correspondiente a una significancia del 0.05, en el programa estadístico SPSS, que la crema de mayor eficacia (con 30% de extracto) presenta un efecto estadísticamente similar al diclofenaco, no obstante esta semejanza no es absoluta ya que este tratamiento también presenta similitudes con el grupo que recibió como tratamiento a la crema más extracto de *Azorella compacta* al 20 %.

SUGERENCIAS

PRIMERO:

Realizar un estudio para determinar la seguridad y tolerancia cutánea de la crema a base del extracto etanólico de *Azorella compacta* en concentración al 30%.

SEGUNDA:

Realizar estudios clínicos mediante otros modelos experimentales, en otros animales de experimentación con el objetivo de confirmar la eficacia de la crema a base de extracto de *Azorella compacta* al 30%, como medicamento herbario con actividad antiinflamatoria tópica.

TERCERA:

Evaluar la actividad analgésica tópica de otras especies de *Azorella*, presentes en nuestra región, a través de diseños experimentales preclínicos y clínicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chavez, J. Plantas Medicinales en Atención Primaria de Salud, Agroindustria, Fotoquímica y Ecoturismo: Perspectivas de Desarrollo en la Región los Libertadores Wari. IICA; 284 p.1998.
2. Rivas C, Oranday MA, Verde MJ. Investigación en plantas de importancia médica. OmniaScience; 2016. 452 p.
3. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Plantas medicinales de uso en Chile: química y farmacología. [en línea]. Santiago de Chile: Editorial Universitaria; 2001.
4. Cáceres F, Poma I, Spadaro V. Evaluación etnobotánica de la Yareta (Azorella compacta) en Arequipa- Perú y sus posibles aplicaciones. *Quad. Bot.* 2012; 23:15-30
5. Andersson L, Kocsis M, Eriksson R. Relationships of the genus Azorella (Apiaceae) and other hydrocotyloids inferred from sequence variation in three plastid markers. *Taxon.* 2006; 55(2): 270-280.
6. Hernández J, Estades C, Faúndez L, Herreros J. Biodiversidad Terrestre de la Región de Arica y Patagonia [en línea]. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2014.
7. Lariushin B. Apiaceae Family. Vol. 2. USA; 2012.
8. Loyola L, Bórquez J, Morales G, San Martín A. Diterpenoids from Azorella compacta. *Phytochemistry*, 1997; 44: 649-651.
9. Cáceres F. Inventario y usos de Plantas etnomedicinales de la Región Arequipa. Libro de Resúmenes del II Congreso Internacional de Plantas Medicinales. Lima; 2003.
10. Soukup J. Vocabulario de los Nombres Vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de los Géneros. Lima: Editorial Salesiana; 1970.
11. Wickens, GE. Llareta (Azorella compacta , Umbelliferae): una revisión. Econ. Larva del moscardón. 1995; 49: 207-212.
12. Gunckel H. Fitonimia Atacameña especialmente cunza. *Revista Universitaria*, 1967; (52): 3-81.
13. Brako L. y Zarucchi J. Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Monogr. Syst. Bot. *Missouri Bot. Garden*, 1993; 45: 1-1286.
14. Linares E. Flora comprendida entre Yura y Chivay (2600-4800 m.s.n.m) – Arequipa, 1987-1990 [Tesis para optar el título profesional de Biólogo]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 1991.

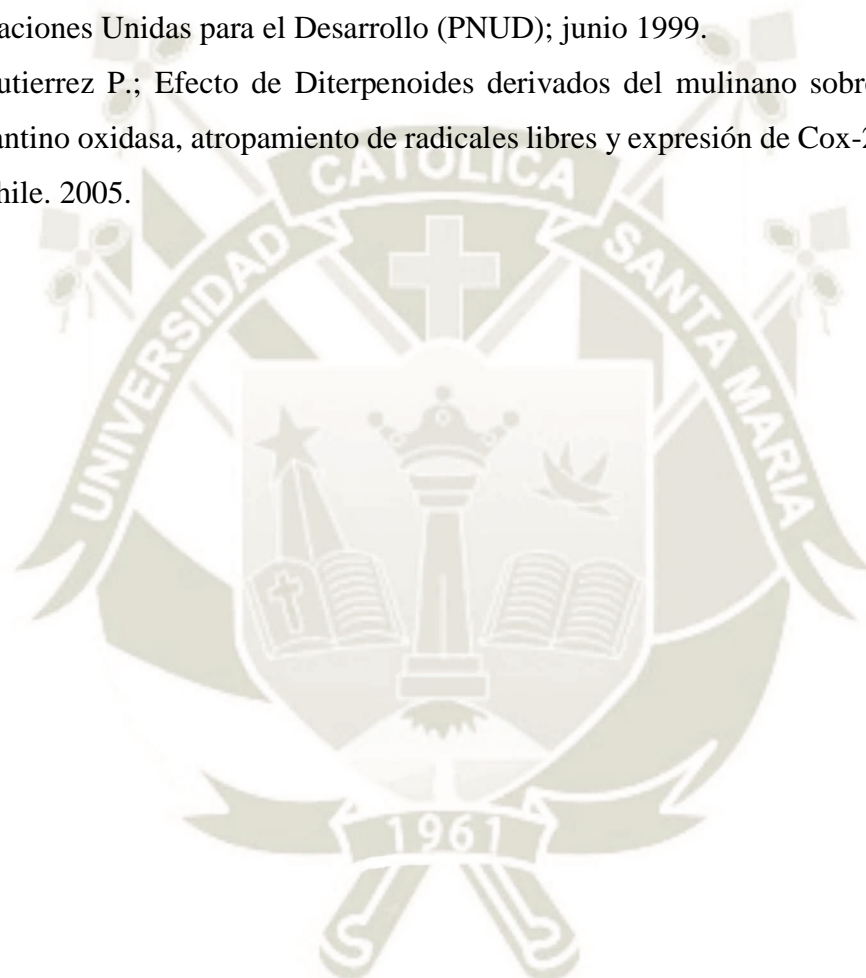
15. Urrunaga R. Conocimientos Tradicionales de Manejo y Uso de Recursos Naturales en la RNSAB. Proyecto Araucaria Valle del Colca. Arequipa: Agencia Española de Cooperación Internacional AECI; 2000.
16. Martínez S. El género *Azorella* (*Apiaceae-hidrocotyloideae*) en la Argentina - *Darwiniana*, 1989; 29 (1-4): 139 -178.
17. Halloy S R P. Variations in community structure and growth rates of high-Andean plants with climatic fluctuations. In: C. Corner & E Spehn, *Mountain Biodiversity: A Global Assessment*. London: pp. 227-239; 2002.
18. Linares E. Etnobotánica del transecto Yura-Chivay, departamento de Arequipa, Perú. Arequipa: Universidad San Agustín; 2000.
19. Abad D. Caracterización fitoquímica y actividad biológica de especies del género *Azorella*, presentes en la sierra sur ecuatoriana [Tesis para optar el Título de Biólogo con Mención en Ecología y Gestión]. Cuenca –Ecuador: Universidad del Azuay; 2015.
20. Borquez J., Loyola L., Morales G., Zúñiga E., Soto R. y San Martín A. Diterpenoides de *Azorella compacta*. En: Negrete, R. & al. (ed.) Actas III Simp. Internac. *Quim. Prod. Nat. Aplic.* 1996; 119-120.
21. Castillo C, Olivares A, Neira I, Bórquez J, Loyola A, Morales G, Sagua H. Evaluación del 7-acetylyaretol sobre la función testicular del ratón. En: Negrete, R. & al. (ed). Actas III Simp. Internac. *Química de Prod. Nat. Aplic.* 1996; 221-222.
22. Neira I, Poblete L, Porcille P, Silva P, Araya J, Bórquez J, Morales G, Loyola LA, Sagua H 1998. Activity of diterpenoids isolated from *Azorella compacta* (Llaretá) on *Trypanosoma cruzi* amastigotes. *Bol Chil Parasitol* 53: 9-13.
23. Sagua H, Neira I, Araya J, Loyola A, Borquez J, Morales G. 7-acetylyaretol. Evaluación de su actividad leishmanicida. En Negrete R. & al. (ed.) Actas III Simp. Internac. *Quim. Prod. Natu. Aplic.* 1996; 300-301.
24. Cabrera J. Plantas etnomedicinales de la comunidad campesina Salinas y Huito, Reserva Nacional de Salinas y Aguada Blanca [Tesis para optar el título profesional de Biólogo]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín; 2007. de Resúmenes del II Congreso Internacional de Plantas Medicinales. Lima; 2003.
25. Solórzano R. Plantas medicinales de los anexos de Piaca y Tuctumpaya del distrito de Pocsi, agosto 2000 – abril 2001, Arequipa-Perú [Tesis para optar el título profesional de Biólogo]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín; 2002.

26. García P. Inflamación. Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat. (Esp) [Publicación periódica en línea] 2008; 102(1): 91-159. Disponible en: <http://www.rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>
27. Bordés R, Martínez M, García E, Guisado R. El Proceso Inflamatorio 1994 [4 pp.]
28. León M, Álvarado A, de Armas J, Miranda L, Varens J, Cuesta del Sol J. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares: cifras alarmantes. *Rev Finlay*. marzo de 2015;5(1):47-62.
29. Ribeiro D, Freitas M, Lima J, Fernandes E. Proinflammatory Pathways: The Modulation by Flavonoids. *Medicinal Research Reviews*, 2015; 35(5): 877–936.
30. Kotzin BL, Falta MT, Crawford F, Rosloniec EF, Bill J, Marrack P, Kappler J. Use of soluble peptide–DR4 tetramers to detect synovial T cells specific for cartilage antigens in patients with rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci*, 2000; 97: 291-296.
31. Gallin J. Inflammation. En: Paul W. *Fundamental Immunology*. New York: Editorial Raven Press; 1989: 721-733.
32. Snyderman R, Pike MC. Chemoattractant receptors on phagocytic cells. *Annu. Rev. Immunol* 1984. (2): 257-81.
33. Whitely, P, Dalrymple, S. Models of inflammation: Carrageenan-induced paw edema in the rat, *Current Protocols in Pharmacology*, John Wiley & Sons, Somerset N.J; 1998: Unit 5.4.1.
34. Manteróla C, Quiroz G, Salazar P, García N. Metodología de los tipos y diseños de estudio más frecuentemente utilizados en investigación clínica. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 1 de enero de 2019;30(1):36-49.
35. Gómez H, Domingo J. Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales Boletín Latinoamericano y. 2011; 10(3): p. 182-217.
36. Diclofenaco: Analgésicos • Antiinflamatorios • Antiartríticos | Vademécum Académico de Medicamentos | AccessMedicina | McGraw-Hill Medical [Internet] Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552§ionid=90369360>.
37. Yambay P. “Elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) y Llantèn (*Plantago major*) y Comprobación de su actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones, Riobamba - Ecuador 2013 [tesis para optar el título profesional de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador: Escuela Superior Politecnica de Chimborazo;2013

38. Ramos S. “Efecto antiinflamatorio tópico del extracto etanólico de *Aloysia triphylla* (cedrón), en animales de experimentación” Arequipa- Perú [tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Universidad Católica de Santa María; 2013.
39. Manterola C, Quiroz G, Salazar P, García N. Metodología de los tipos y diseños de estudio más frecuentemente utilizados en investigación clínica. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 1 de enero de 2019;30(1):36-49.
40. Eduardo C. Extracciones con equipo Soxhlet. 2008 [Internet]. Disponible en: <http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>.
41. Lajo R. “Evaluación de efecto antiinflamatorio de los extractos y gel del rizoma de *Curcuma Longa Linn* (palillo), en ratas sometidas a inflamación subplantar con carragenina”. Arequipa Perú 2018. [tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Arequipa. Universidad Católica de Santa María; 2018
42. SiliCycle. Cromatografía en Capa Fina (TLC) [Internet]. Disponible en: <https://www.silicycle.com/es/cromatografia-en-capa-fina-tlc>
43. Garcia AM. Cromatografía de Capa Fina Fundamento Teórico. Disponible en: https://www.academia.edu/35192006/cromatografia_de_capa_fina_fundamento_teorico
44. Nina M. y Chara G. Evaluación del Efecto Antiinflamatorio Tópico del Extracto y Gel de las Hojas de *Grindelia Glutinosa* (Chiri – Chiri) en Animales de Experimentación [Tesis para optar el Título Profesional de Químico-Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2019.
45. Textos científicos.com. Cromatografía en capa fina [Internet]. 2007 [citado 28 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.textoscientificos.com/quimica/cromatografia/capa-fina>
46. Carbajal C y Ramirez I. Evaluación del efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto de *Culcitium canescens* (HUMB & BONPL) (Vira-Vira) en animales de experimentación [Tesis para optar el Título Profesional de Químico-Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2018.
47. Bakieva, M., González Such, J. y Jornet, J. SPSS: ANOVA de un Factor. Grupo de investigación educativa. Universidad de Valencia. Innova mide. 2018.
48. Pérez, R. Prueba de Tukey: en qué consiste, caso de ejemplo, ejercicio resuelto. Universidad Simón Bolívar Venezuela. Lifeder.com. 2015.
49. Huamán C. Determinación del efecto antiinflamatorio, toxicidad dérmica aguda del extracto hidroalcohólico al 70 % de las raíces de *Azorella biloba* (Schltdl.) Wedd.

“Tulluma” en animales de experimentación y elaboración de un gel tópico [Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico]. Cusco –Perú: Universidad Nacional San Antonio Abad; 2017.

50. Backhouse, N., Bórquez, J., Delporte, C., Loyola, L., Salinas, P. Y San-Martín, A. Pharmacotoxicological study of diterpenoids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11:1187-1190. 2003.
51. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Texas: Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD); junio 1999.
52. Gutierrez P.; Efecto de Diterpenoides derivados del mulinano sobre la actividad de xantino oxidasa, atrapamiento de radicales libres y expresión de Cox-2; Universidad de Chile. 2005.



ANEXOS

ANEXO 1: DATOS EXPERIMENTALES

Descripción de los animales de experimentación.

N°	Identificación	Peso (g)	Grupo
1	Cabeza	214	Crema + extracto de <i>Azorella compacta</i> al 10%
2	Dorso	218	
3	Cola	210	
4	Pata anterior derecha	217	
5	Pata posterior derecha	205	Crema + extracto de <i>Azorella compacta</i> al 20%
6	Pata anterior izquierda	203	
7	Pata posterior izquierda	221	
8	Pata lado derecho	208	
9	Patas lado izquierdo	229	Crema + extracto de <i>Azorella compacta</i> al 30%
10	Patas delanteras	207	
11	Patas posteriores	230	
12	Patas cruzadas	212	
13	4 patas	209	Diclofenaco en gel al 1% (control positivo)
14	Cabeza-dorso	217	
15	Dorso-cola	233	
16	Cabeza-dorso-cola	227	
17	Cabeza pata anterior derecha	215	Base de la crema
18	Cabeza pata posterior derecha	222	
19	Cabeza pata anterior izquierda	230	
20	Cabeza pata posterior izquierda	213	
21	Dorso pata anterior derecha	260	Carragenina (control negativo)
22	Dorso pata posterior derecha	220	
23	Dorso pata anterior izquierda	208	
24	Dorso pata posterior izquierda	210	

Fuente: Elaboración propia.

Volumen de inflamación en mL para el grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 10%

N° Animal	Volumen mL mediante pletismómetro digital					
	Basal	Inf. Max	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.93	1.87	1.71	1.60	1.55	1.46
2	0.81	1.73	1.71	1.67	1.53	1.36
3	0.97	1.84	1.71	1.60	1.45	1.33
4	0.95	1.80	1.78	1.60	1.50	1.45

Fuente: Elaboración propia.

Volumen de inflamación en mL para el grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 20%

N° Animal	Volumen mL mediante pletismómetro digital					
	Basal	Inf. Max	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.76	1.33	1.26	1.09	1.07	1.06
2	0.85	1.51	1.40	1.35	1.18	1.12
3	0.71	1.46	1.43	1.36	1.15	1.13
4	0.83	1.53	1.42	1.29	1.21	1.15

Fuente: Elaboración propia.

Volumen de inflamación en mL para el grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 30%

N° Animal	Volumen mL mediante pletismómetro digital					
	Basal	Inf. Max	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.82	1.77	1.72	1.48	1.17	1.16
2	0.81	1.66	1.51	1.36	1.10	1.02
3	0.86	1.82	1.69	1.40	1.23	1.20
4	0.96	1.56	1.45	1.37	1.15	1.03

Fuente: Elaboración propia.

Volumen de inflamación en mL para el grupo tratado con diclofenaco en gel tópico al 1%

N° Animal	Volumen mL mediante pletismómetro digital					
	Basal	Inf. Max	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.74	1.21	1.04	0.98	0.97	0.96
2	0.84	1.45	1.10	1.08	1.03	1.01
3	0.92	1.58	1.27	1.18	1.07	1.05
4	0.88	1.60	1.30	1.17	1.08	1.06

Fuente: Elaboración propia.

Volumen de inflamación en mL para el grupo tratado con la base de la crema

N° Animal	Volumen mL mediante pletismómetro digital					
	Basal	Inf. Max	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.76	1.22	1.20	1.18	1.15	1.10
2	0.92	1.43	1.41	1.38	1.30	1.29
3	0.85	1.31	1.30	1.28	1.25	1.18
4	0.80	1.58	1.50	1.47	1.37	1.33

Fuente: Elaboración propia.

Volumen de inflamación en mL para el grupo tratado con la base de la crema

N° Animal	Volumen mL mediante pletismómetro digital					
	Basal	Inf. Max	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas
1	0.83	1.67	1.59	1.55	1.51	1.45
2	0.79	1.72	1.69	1.61	1.59	1.54
3	0.78	1.35	1.33	1.30	1.27	1.25
4	0.80	1.53	1.45	1.43	1.39	1.38

Fuente: Elaboración propia.

Área bajo la curva para el grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 10%

N° Animal	AUC del % de disminución de la inflamación				Σ
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	
1	4.28	11.50	15.78	19.52	51.07
2	0.58	2.31	7.51	16.47	26.88
3	3.53	10.05	17.12	24.46	55.16
4	0.56	6.11	13.89	18.06	38.61
Promedio	2.24	7.49	13.57	19.63	42.93

Área bajo la curva para el grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 20%

N° Animal	AUC del % de disminución de la inflamación				Σ
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	
1	2.63	11.65	18.80	19.92	53.01
2	3.64	8.94	16.23	23.84	52.65
3	1.03	4.45	14.04	21.92	41.44
4	3.59	11.44	18.30	22.88	56.21
Promedio	2.72	9.12	16.84	22.14	50.83

Área bajo la curva para el grupo tratado con crema más extracto de *Azorella compacta* (yareta) al 30%

N° Animal	AUC del % de disminución de la inflamación				Σ
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	
1	1.41	9.60	25.14	34.18	70.34
2	4.52	13.55	25.90	36.14	80.12
3	3.57	15.11	27.75	33.24	79.67
4	3.53	9.62	19.23	30.13	62.50
Promedio	3.26	11.97	24.51	33.42	73.16

Área bajo la curva para el grupo tratado con crema más diclofenaco en gel tópico al 1%

N° Animal	AUC del % de disminución de la inflamación				Σ
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	
1	7.02	16.53	19.42	20.25	63.22
2	12.07	24.83	27.24	29.66	93.79
3	9.81	22.47	28.80	32.91	93.99
4	9.38	22.81	29.69	33.13	95.00
Promedio	9.57	21.66	26.29	28.98	86.50

Área bajo la curva para el grupo tratado con la base de la crema

N° Animal	AUC del % de disminución de la inflamación				Σ
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	
1	0.82	2.46	4.51	7.79	15.57
2	0.70	2.45	6.29	9.44	18.88
3	0.38	1.53	3.44	7.25	12.60
4	2.53	6.01	10.13	14.56	33.23
Promedio	1.11	3.11	6.09	9.76	20.07

Área bajo la curva para el grupo tratado con carragenina (control negativo).

N° Animal	AUC del % de disminución de la inflamación				Σ
	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	
1	2.40	5.99	8.38	11.38	28.14
2	0.87	4.07	6.98	9.01	20.93
3	0.74	2.59	4.81	6.67	14.81
4	2.61	5.88	7.84	9.48	25.82
Promedio	1.66	4.63	7.00	9.13	22.43

ANEXO 2: EVIDENCIA FOTOGRÁFICA

Recolección de *Azorella compacta* “yareta”



Selección



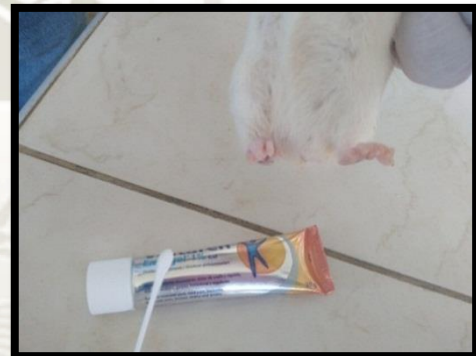
Dsecación



Partes aéreas de yareta triturada



Foto 1: Administración de la crema



ANEXO 3: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA N° 96-2019-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra seca del espécimen presentada por **Luz Marina Huamaní Huamaní**, egresada de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María, para la ejecución de su proyecto de tesis: **“Evaluación del Efecto Antiinflamatorio Tópico del Extracto Etanólico de las Hojas de la *Azorella compacta* en animales de Experimentación”**. La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, procedente del distrito de Yanaquihua provincia de Condesuyos, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Apiales
Familia	Apiaceae
Género	<i>Azorella</i>
Especie	<i>Azorella compacta</i> Phil.

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

Arequipa 09 de diciembre del 2019.



Mg. Leoncio Mariño Herrera
 DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)
 Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
 Teléfono: (054) 237755 / 993659045
 Apartado Postal: 0028
 AREQUIPA – PERÚ