

# Universidad Católica de Santa María

## Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

### Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



## EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO TÓPICO DEL EXTRACTO Y GEL DE LAS HOJAS DE *Grindelia glutinosa* (CHIRI- CHIRI) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Tesis presentada por los bachilleres:

**Nina Flores, Mayra Julissa**

**Chara Chise, Gilber**

Para optar el Título Profesional de

**Químico-Farmacéutico**

Asesora:

**Mgter. Paredes Fuentes, Julitza**

**AREQUIPA – PERÚ**

**2019**

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas**  
**y Biotecnológicas**  
**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

Expediente N°. 20180000018818

N° Trámite en Fac. 1745-2018

Fecha 16-04-2018

**FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL**

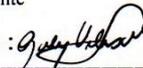
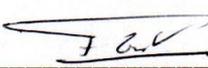
**DE:** CHARA CHISE, Gilber  
NINA FLORES, Mayra Julissa

**TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:**

**"EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMTATORIO TOPICO DEL EXTRACTO ETANOLICO Y GEL DE RAICES DE *Harpagophytum procumbens* (HARPAGOFITO), EN EDEMA PLANTAR INDUCIDO EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION"**

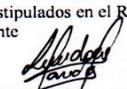
**DICTAMINADORES:** 1) *Dra. Gaby Velasco lozano* 2) *Q. F. Fernando Torres Vela*

**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 las recurrentes, se ha procedido a la revisión del mismo, sugiriendo se cambie el título a: **"EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO TOPICO DEL EXTRACTO ETANOLICO Y GEL DE LAS HOJAS DE *Grindelia glutinosa* "Chiri chiri", EN EDEMA PLANTAR INDUCIDO EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION"**, y después de realizadas las correcciones y sugerencias correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad  
Atentamente

Firmas :   (Devolver antes de 8 días hábiles) Fecha 15.05.18

**ASESOR:** *Mgter. Julitza Paredes Fuentes*

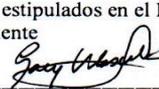
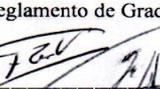
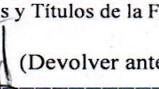
**DICTAMEN DE ASESOR:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación se ha asesorado el presente Trabajo de Investigación y después de efectuadas las observaciones, considero que el título debe cambiar a: **"EVALUACION DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO TOPICO DEL EXTRACTO Y GEL DE LAS HOJAS DE *Grindelia glutinosa* (CHIRI-CHIRI) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION"** y 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 15-01-2019

**DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:**

1) *Dra. Gaby Velasco Lozano* 3) *Mgter. Maria Elena Guillen Núñez*  
2) *Q. F. Fernando Torres Vela*

**DICTAMEN DE BORRADOR:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por los recurrente, y luego de haber verificado el cumplimiento de los objetivos, la redacción del informe, de los resultados, discusión y conclusiones correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.  
Atentamente

Firma    (Devolver antes de 15 días hábiles) Fecha 30/04/19

**JURADOS:** Presidente *DRA. GABY VELASCO LOZANO*  
Vocal *Q. F. FERNANDO TORRES VELA*  
Secretario *MAG. MARIA ELENA GUILLEN NUNEZ*

**SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:**

Fecha: 20/05/19 Hora: 20,00 Local: C- 402 (SUM)

  
DECANO

## DEDICATORIA

A Dios, al Divino Niño por estar  
siempre presente en todos los  
momentos, en mis decisiones y en  
los retos de mi vida.

A mis padres Remigio y Leoncia por  
brindarme su apoyo y comprensión,  
por todo el esfuerzo que hicieron para  
la culminación de mi carrera.

A mis Hermanos Edith, Jhonathan por  
su apoyo y paciencia con todo mi  
cariño.

A mi hija Briseida Luciana por ser mi  
fuente de motivación para poder  
superarme cada día más.

Y a toda mi familia que siempre  
estuvo cuando más los necesite,  
muchas gracias.

Gilber

Esta tesis es una parte y comienzo de  
otras Etapas por esto y más, la dedico a  
Dios por ser mi fortaleza.

A mis padres, Julia y José que con su  
sabiduría, experiencia me dieron el  
mejor ejemplo para llegar a ser quien  
soy y lograr todas mis metas.

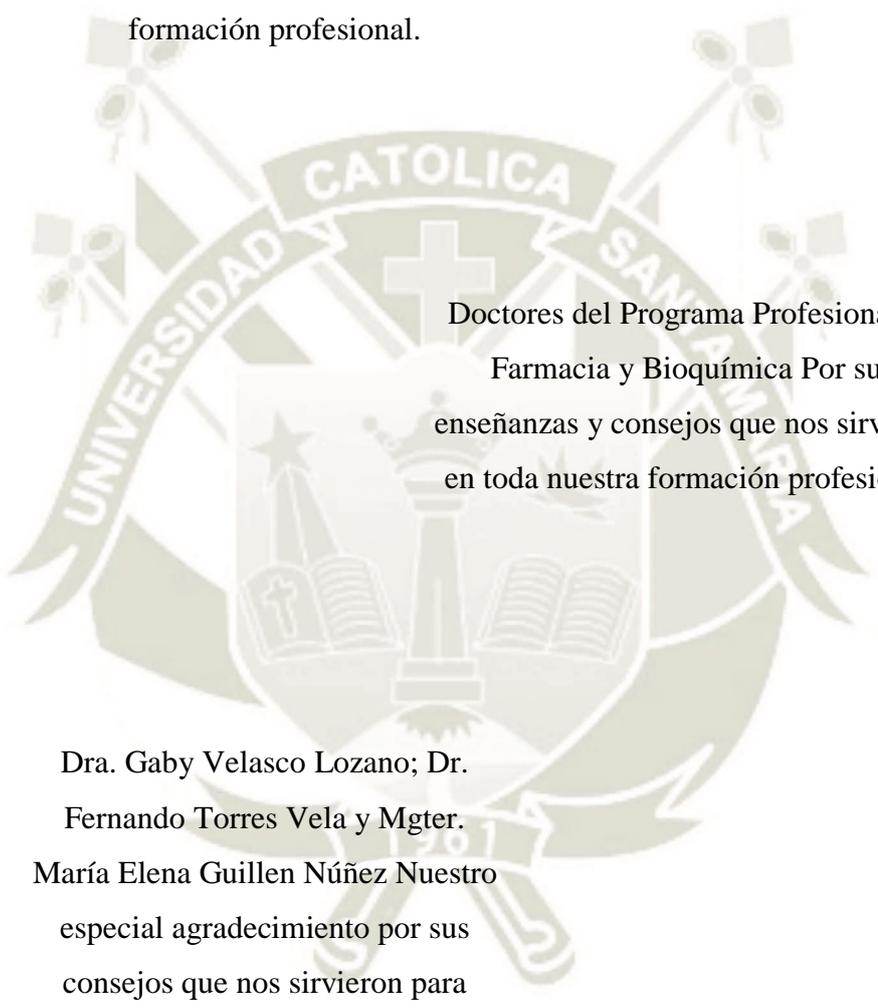
A mis queridos hijos Isabela y Josué por  
ser ellos lo más grande y valioso que  
Dios me ha regalado Quienes son la  
razón Que me impulsa a salir adelante.

A mi hermano que está en el cielo  
ya que gracias a él he querido  
superarme y desde allá me ha  
cuidado siempre.

Mayra

## AGRADECIMIENTOS

Mgter. Julitza Paredes Fuentes, una gran persona y gran asesora. Muchas gracias por todo su apoyo en nuestra formación profesional.



Doctores del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica Por sus enseñanzas y consejos que nos sirvieron en toda nuestra formación profesional.

Dra. Gaby Velasco Lozano; Dr. Fernando Torres Vela y Mgter. María Elena Guillen Núñez Nuestro especial agradecimiento por sus consejos que nos sirvieron para culminar este trabajo.

Mayra y Gilber

## ÍNDICE

	<b>Pag.</b>
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	
OBJETIVOS	
HIPÓTESIS	
<b>CAPITULO I</b> .....	<b>1</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>1</b>
1. <i>GRINDELIA GLUTINOSA</i> .....	1
1.1.DESCRIPCIÓN.....	1
1.2.UBICACIÓN TAXONÓMICA.....	1
1.3.NOMBRES COMUNES .....	2
1.4.DISTRIBUCIÓN .....	2
1.5.COMPOSICIÓN QUÍMICA .....	2
1.6.USOS MEDICINALES .....	2
2.EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DE PLANTAS MEDICINALES.....	2
2.1. EXTRACCIÓN MECÁNICA .....	3
2.2. DESTILACIÓN .....	3
2.3.EXTRACCIÓN CON GASES .....	3
2.4. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES.....	4
2.4.1. Extracción discontinua o simultánea .....	4
2.4.2. Extracción continua o progresiva .....	5
2.5.CONCENTRACIÓN DE LÍQUIDOS EXTRACTIVOS .....	5
2.6.ELECCIÓN DEL DISOLVENTE DE EXTRACCIÓN .....	5
3.IDENTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA (TLC).....	6
4.FORMAS FARMACÉUTICAS LÍQUIDAS ORALES.....	6
4.1.FORMULACIÓN.....	6
4.2.SOLUCIONES .....	7

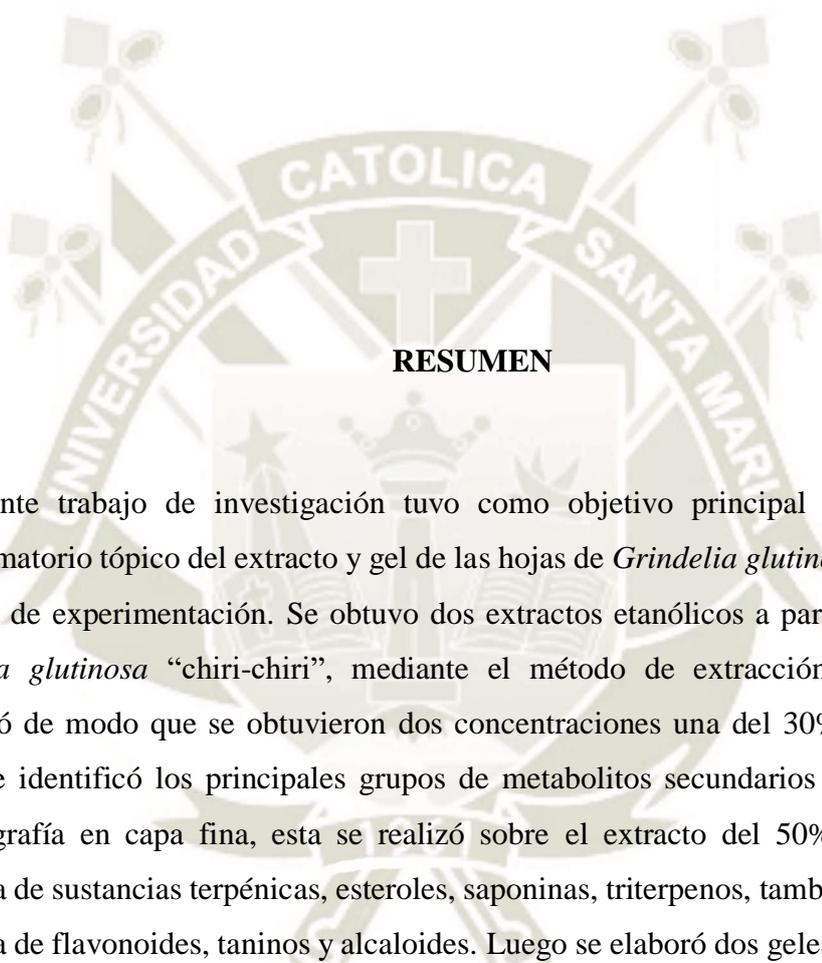
4.3.	SUSPENSIONES .....	7
4.4.	EMULSIONES .....	8
5.	INFLAMACIÓN .....	8
5.1.	INTRODUCCIÓN .....	8
5.2.	DESCRIPCIÓN DE LA INFLAMACIÓN .....	9
5.3.	MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN .....	11
5.4.	EVOLUCIÓN DE LA INFLAMACIÓN AGUDA .....	13
5.5.	CAUSAS .....	15
5.6.	ALTERACIONES PRINCIPALES DE LA INFLAMACIÓN .....	15
5.7.	CLASES DE INFLAMACIÓN .....	15
5.7.1.	Inflamación Aguda .....	15
5.7.2.	Inflamación Crónica .....	17
5.8.	FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS .....	17
5.8.1.	Glucocorticoides .....	17
6.	DICLOFENACO .....	18
6.1.	FARMACODINAMIA .....	18
6.2.	FARMACOCINÉTICA .....	18
6.3.	INDICACIONES .....	19
6.4.	CONTRAINDICACIONES .....	19
6.5.	EFFECTOS ADVERSOS .....	20
6.6.	PRECAUCIONES .....	20
6.7.	PRESENTACIONES .....	21
	<b>CAPITULO II</b> .....	<b>22</b>
	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
1.	MATERIALES .....	22
1.1.	MATERIAL DE LABORATORIO .....	22
1.1.1.	Instrumental de vidrio .....	22
1.1.2.	Equipos de laboratorio .....	22
1.1.3.	Reactivos .....	23
1.1.4.	Otros .....	24
1.2.	MATERIAL BIOLÓGICO .....	25

1.2.1. Material vegetal .....	25
1.2.2. Recurso biológico .....	25
1.2.3. Material farmacológico.....	25
2. MÉTODOS .....	26
2.1. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....	26
2.1.1. Tipo de investigación.....	26
2.1.2. Diseño de investigación.....	26
2.2. MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL .....	27
2.2.1. Recolección .....	27
2.2.2. Selección.....	27
2.2.3. Estabilización.....	27
2.2.4. Deseccación.....	28
2.2.5. Trituración .....	28
2.3. MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO .....	28
2.3.1. Extracción.....	28
2.3.2. Fundamento .....	28
2.3.3. Procedimiento.....	30
2.3.4. Eliminación del disolvente .....	30
2.4. MÉTODO PARA EL ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR .....	30
2.4.1 Fundamento .....	30
2.4.2.Procedimiento.....	32
2.5. SISTEMAS DE DISOLVENTES Y REVELADORES.....	32
2.5.1. General.....	32
2.5.2. Terpenos .....	32
2.5.3. Flavonoides.....	33
2.5.4. Taninos .....	33
2.5.5. Alcaloides .....	33
2.6. MÉTODOS PARA LA ELABORACIÓN DE UN GEL FARMACÉUTICO.....	34
2.6.1. Procedimiento general de elaboración.....	34
2.7. MÉTODO PARA LA EVALUACIÓN ANTIINFLAMATORIA .....	34
2.7.1. Estandarización de los animales .....	35
2.7.2. Distribución aleatoria en grupos.....	35
2.7.3. Medición de valores basales y experimentales.....	35

2.7.4. Fundamento .....	36
2.7.5. Procedimiento .....	36
2.7.6. Inducción de inflamación .....	36
2.7.7. Fundamento .....	37
2.7.8. Procedimiento .....	37
2.7.9. Administración de los tratamientos .....	38
2.8. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN RECOLECTADA .....	39
2.8.1. Estadística .....	39
<b>CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>41</b>
1. DE LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO .....	41
2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR .....	42
2.1. IDENTIFICACIÓN GENERAL .....	42
2.1.1. Terpenos .....	43
2.1.2. Flavonoides .....	44
2.1.3. Taninos .....	44
2.1.4. Alcaloides .....	45
3. ELABORACION DE LOS GELES CON EXTRACTO DE CHIRI-CHIRI .....	46
4. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO .....	47
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>56</b>
<b>SUGERENCIAS .....</b>	<b>57</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>58</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>62</b>
ANEXO 1 .....	63
ANEXO 2: MALLA DE DATOS .....	64
ANEXO 3: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA .....	67

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS DE CHIRI-CHIRI .....	41
TABLA N° 2: ORGANOLEPSIA PARA LOS EXTRACTOS DE CHIRI-CHIRI OBTENIDOS.....	42
TABLA N° 3: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA VALORES BASALES POR TRATAMIENTO.....	48
TABLA N° 4: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA VOLUMEN INFLAMATORIO CON CARRAGENINA POR TRATAMIENTO.....	49
TABLA N° 5: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA 1 HORA DESPUES DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO .....	50
TABLA N° 6: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA 2 HORAS DESPUES DE APLICADOS LOS TRATAMIENTOS .....	51
TABLA N° 7: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA 3 HORAS DESPUES DE APLICADOS LOS DE TRATAMIENTOS .....	52
TABLA N° 8: PORCENTAJE DE DISMINUCIÓN EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS .....	53



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal evaluar el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las hojas de *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) en animales de experimentación. Se obtuvo dos extractos etanólicos a partir de las hojas de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri”, mediante el método de extracción por Soxhlet, se concentró de modo que se obtuvieron dos concentraciones una del 30% y otra del 50%. Luego se identificó los principales grupos de metabolitos secundarios por el método de cromatografía en capa fina, esta se realizó sobre el extracto del 50%, se identificó la presencia de sustancias terpénicas, esteroides, saponinas, triterpenos, también se evidenció la presencia de flavonoides, taninos y alcaloides. Luego se elaboró dos geles con el extracto al 30% y 50%, el contenido de este extracto por cada 100 g de gel fue de 15% y 30 % con la finalidad de ver cuál de los dos tendría mejor efecto antiinflamatorio teniendo en cuenta de que a mayor concentración mayor es el efecto. El gel elaborado, se utilizó como agente gelificante al carbopol 940. Ambos extractos y ambos geles fueron materia de evaluación. Obteniéndose que el gel con extracto al 30% es el de mayor eficacia. Se comparó el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel con el diclofenaco 1%, siendo este el que presenta mayor efecto, con una diferencia significativa bastante alta. La producción de inflamación se realizó mediante el método de edema inducido por la administración de carragenina como agente flogógeno, las evaluaciones se realizaron a la 1.5 y 3 horas. Se utilizaron 30 animales

de experimentación, distribuyéndolos en 6 grupos aleatorios de 5 unidades experimentales cada uno. Los grupos fueron: gel base (G1), extracto al 30% (G2), extracto al 50% (G3), gel con extracto al 15% (G4), gel con extracto al 30% (G5) y grupo diclofenaco al 1% (G6). El procedimiento consistió en medir los volúmenes basales de cada pata a tratar en el pletismómetro digital, después de administrar los tratamientos a los animales de acuerdo al grupo al que pertenecen, se realizan tres mediciones a las 1, 2 y 3 horas.

Los resultados en las pruebas de múltiples rangos de tukey donde se hicieron todas las comparaciones posibles con las muestras para 1 hora después de la aplicación del tratamiento del gel con extracto al 15% y gel con extracto al 30% siendo los promedios 1.194ml y 1.174ml respectivamente y para 2 horas después de la aplicación del tratamiento del gel con extracto al 15% y gel con extracto al 30% siendo los promedios 1.09ml y 1.03ml respectivamente y para 3 horas después de la aplicación del tratamiento del gel con extracto al 15% y gel con extracto al 30% siendo los promedios 0.956ml y 0.948ml respectivamente. Se concluye que el grupo de mayor eficacia antiinflamatoria fue el gel con extracto de chiri-chiri al 30% con un porcentaje de disminución de volumen de 41.77% y comparado con el diclofenaco 1% de 45.42% con una eficacia estadísticamente similar al gel de extracto de chiri-chiri al 30%.

**Palabras claves:** Antiinflamatorio, hojas de *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri), edema sub – plantar, extracto fluido, animales de experimentación.

## ABSTRACT

The main objective of this research was to evaluate the topical anti-inflammatory effect of the extract and gel of the leaves of *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) in experimental animals. Two ethanolic extracts were obtained from the leaves of *Grindelia glutinosa* "chiri-chiri", by means of the extraction method by Soxhlet, it was concentrated in such a way that two concentrations of 30% and 50% were obtained. Then the main groups of secondary metabolites were identified by the thin layer chromatography method, this was done on the 50% extract, the presence of terpenic substances, sterols, saponins, triterpenes was revealed, the presence of flavonoids was also evidenced, tannins and alkaloids. Then two gels were made with the extract at 30% and 50%, the content of this extract for each 100 g of gel was 15% and 30% in order to see which of the two would have better anti-inflammatory effect taking into account that the higher the concentration, the greater the effect. The elaborated gel was used as a gelling agent to carbopol 940. Both extracts and both gels were subject of evaluation. The topical anti-inflammatory effect of the extract and gel was evaluated by means of an induction method with carrageenan, obtaining that the gel with 30% extract was the most effective. The topical antiinflammatory effect of the extract and gel was compared and as a result it was verified that diclofenac 1% has a greater effect with a significant high enough difference. The production of inflammation was carried out by means of the edema method induced by the administration of carrageenan as a phlogogenic agent, the evaluations were carried out at 1 hour and a half and 3 hours. We used 30 experimental animals, distributing them in 6 random groups of 5 experimental units each. The groups were: base gel (G1), 30% extract (G2), 50% extract (G3), gel with 15% extract (G4), gel with 30% extract (G5) and diclofenac group 1 % (G6). The procedure consisted of measuring the basal volumes of each leg to be treated in the digital plethysmometer, after administering the treatments to the animals according to the group to which they belong, three measurements are made at 1, 2 and 3 hours.

The results in the tests of multiple ranges of tukey for 1 hour after the application of the treatment of the gel with extract to 15% and gel with extract to 30% being the averages 1.194ml and 1.174ml respectively and for 2 hours after the application of the treatment of the gel with extract to 15% and gel with extract to 30% being the averages 1.09ml and 1.03ml respectively and for 3 hours after the application of the treatment of the gel with extract to 15% and gel with extract to 30% being the averages 0.956ml and 0.948ml respectively. It is

concluded that the group with the highest anti-inflammatory efficacy was the gel of chiri-chiri extract at 30% with a percentage of volume decrease of 41.77% and compared with the diclofenac 1% which has a greater percentage of volume decrease of 45.42% with an efficacy statistically similar to the gel of chiri-chiri extract at 30%.

Key words: Anti - inflammatory, leaves of *Grindelia glutinosa* (chiri - chiri), sub - plantar edema, fluid extract, experimental animals.



## INTRODUCCIÓN

La inflamación es uno de los trastornos más comunes que produce dolor, eritema, calor, tumefacción e impotencia funcional, que se presenta en el hombre por lo cual en la actualidad se presenta una corriente dentro de la comunidad científica que se basa en el uso de plantas con propiedades terapéuticas para aliviar distintas enfermedades. Nuestro país posee una flora impresionante lo que nos convierte en un país potencial para la manufacturación de productos a base de plantas medicinales <sup>1</sup>.

La *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) es una planta curativa, que la población de la zona del distrito de Mollendo utiliza frecuentemente para aliviar el dolor articular como: reumatismo, dolores musculares y fracturas, sin embargo, al no disponerse de estudios científicos que avalen dicho uso, por lo que consideramos conveniente evaluar experimentalmente sus propiedades y así aportar una nueva alternativa de preparado farmacéutico para la comunidad <sup>1</sup>.

Así también se hicieron trabajos de otra especie de la *Grindelia boliviana* (chiri-chiri), realizados por Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra, Yemile del Carmen Berrios Espejo acerca de la actividad cicatrizante de, llegando a la conclusión que dicha planta tiene mayor efecto cicatrizante sobre las heridas y los tratamientos y los que más favorecen la cicatrización son las dos formas de extracto alcohólico y aceite esencial <sup>2</sup>.

Así también se hicieron trabajos de otra especie de *Baccharis genistelloides* L. “kimsak’uchu” Y *Grindelia boliviana* “chiri-chiri”, realizados por Alfaro Meneses, Yolanda y Vargas Payehuanca, Rebeca Soledad, evaluaron la actividad antiinflamatoria del extracto en gel, llegando a la conclusión de que las asociaciones de ambas plantas tienen un efecto antiinflamatorio con un nivel de confianza al 95% y con una significancia al 0.05 <sup>3</sup>.

Así también se hicieron trabajos de otra especie de *Grindelia boliviana rusby* (chiri chiri) en ratones albinos, realizados por Cárdenas Tenorio, Javier Jesus, evaluaron la acción analgésica, antiinflamatoria de la infusión acuosa llegando a la conclusión que dicha planta presenta una buena actividad antiinflamatoria y analgésica <sup>4</sup>.

Por esta razón y motivados por el impulso que hoy en día se da al empleo de recursos naturales en la terapia de diversas enfermedades, es que nos propusimos estudiar en forma científica el efecto antiinflamatorio de *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri), que es otra especie de *Grindelia* <sup>1</sup>.

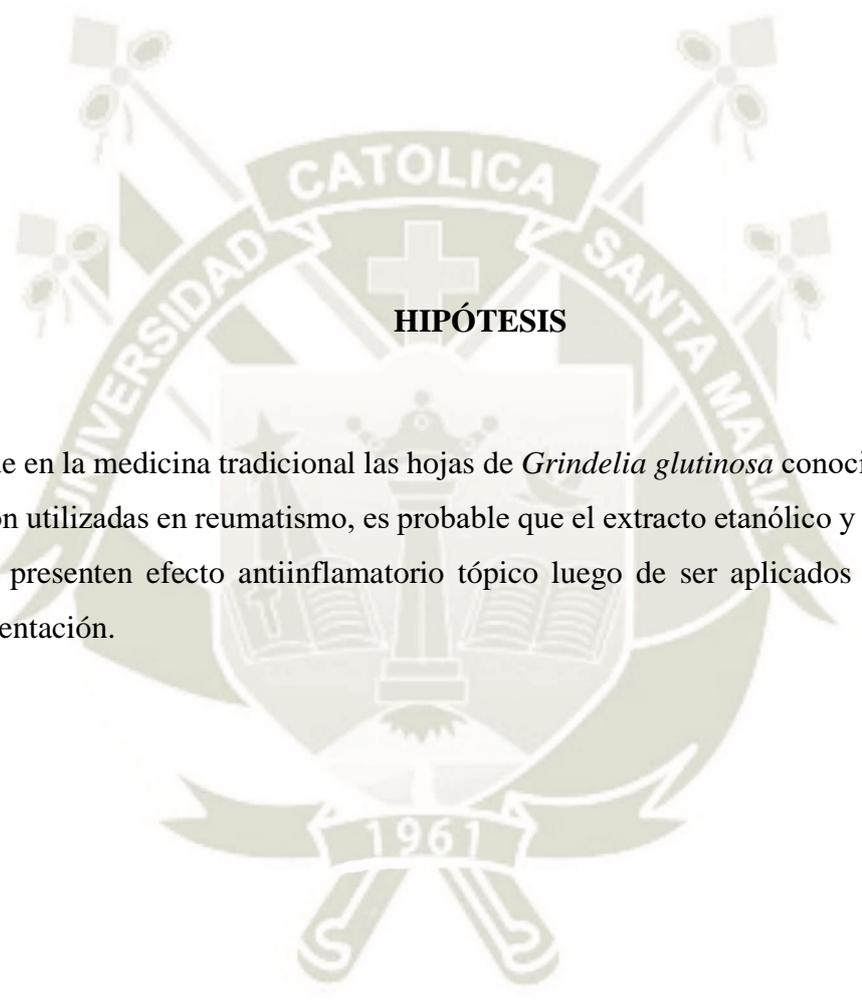
## OBJETIVOS

### Objetivo General

- Evaluar el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las hojas de *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) en animales de experimentación.

### Objetivos Específicos

- Obtener dos extractos etanólicos a partir de las hojas de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri”.
- Identificar los principales grupos de metabolitos secundarios que se encuentran en el extracto etanólico de las hojas de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri”, mediante la realización de una marcha fitoquímica preliminar utilizando el método de cromatografía en capa fina.
- Elaborar dos geles con el extracto etanólico de las hojas de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri” al 15% y 30%.
- Evaluar el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las hojas de *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) mediante un método de inducción de edema inflamatorio con carragenina.
- Comparar el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las hojas de *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) mediante un método de inducción de edema inflamatorio con carragenina con una especialidad farmacéutica que contenga diclofenaco como principio activo antiinflamatorio.



## HIPÓTESIS

Dado que en la medicina tradicional las hojas de *Grindelia glutinosa* conocida como “chirichiri” son utilizadas en reumatismo, es probable que el extracto etanólico y el gel con dicho extracto presenten efecto antiinflamatorio tópico luego de ser aplicados en animales de experimentación.

## CAPITULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1. *Grindelia glutinosa*

##### 1.1. Descripción

Subarbusto de 40-60 cm de altura, erguida. Hojas alternas, simples, apicioladas, decurrente, láminas 1,8-5,9 x 0,6-2,8 cm, obovadas a oblanceoladas, ápice cuspidado, borde crenado-aserrado, ápice de los dientes mucronados, glabras. Flores hermafroditas y unisexuales, actinomorfas, dispuestas en capítulos heterógamos terminales y axilares; pedúnculos de 6 mm de largo, brácteas involucrales con 48 filarias; flores marginales femeninas, 31 flores liguladas, con 5 papus de 4-4,5 mm de largo; corola ligulada de 2,5 cm de largo, de color amarillo, ovario ínfero con pelos en la superficie de 1,1 mm de largo, 1-carpelar, 1-locular, 1-ovular, estilo terete, dos ramas estigmáticas; flores del centro hermafroditas, 144 flores tubulares, con 7-8 papus de 2,8-3,5 mm de largo, corola tubular de 4,5-5 mm de largo, 5-dentado, de color amarillo; estambres 5, singenésicos, filamentos de 2 mm de largo, glabros, anteras ditésicas de 3,1 mm de largo, dehiscencia longitudinal, ovario ínfero de 1 mm de largo, 1-carpelar, estilo de 5 mm de largo, glabro, dos ramas estigmáticas. Fruto aquenio <sup>5</sup>.

##### 1.2. Ubicación taxonómica

- División: *Magnoliophyta*
- Clase: *Magnoliopsidae*
- Subclase: *Asteridae*
- Orden: *Asterales*
- Familia: *Asteraceae*
- Subfamilia: *Asteroideae*
- Género: *Grindelia*
- Especie: *Grindelia glutinosa* (Cav.) Mart.

### 1.3. Nombres comunes

Chiri-chiri, chire-chire, chiñe, chanyaico <sup>6,5</sup>.



Fig. N° 1 *Grindelia glutinosa*.

### 1.4. Distribución

*Grindelia glutinosa* (Cav.) Mart. según Dunal, Brako y Zarucchi está distribuida en los departamentos de Arequipa, Moquegua y Tacna. Además, está presente entre 0-3500 m de altitud. En Arequipa la encontramos en las lomas costeras de: Lomas de Atiquipa, lomas de Yuta, lomas de Mejía y lomas de la Punta de Bombón <sup>7,5</sup>.

### 1.5. Composición química

Es característico de las especies de *Grindelia* la presencia de ácidos diterpénicos los que son componentes de la fracción resinosa como ácidos grindélicos. La fracción resinosa por si sola hace 10-20% del peso seco de la droga, flavonoides, ácidos fenocarbónicos, aceite esencial (0.3-0.5%), poliacetilenos, material tánico 5.3%, saponinas, fitosterol y alcaloide <sup>8</sup>.

### 1.6. Usos medicinales

Es utilizada por la población como remedio a sus dolencias ya que conoce sus efectos gracias a sus prácticas cotidianas de uso de esta planta para tratar reumatismo, dolores musculares y fracturas <sup>6</sup>.

## 2. EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DE PLANTAS MEDICINALES

Se inicia de la droga y se realiza un proceso extractivo para aislar los principios activos directamente a partir de las drogas <sup>37</sup>.

La extracción implica la separación de fracciones medicinales activas, de componentes inactivos o inertes presentes en tejidos vegetales <sup>38</sup>.

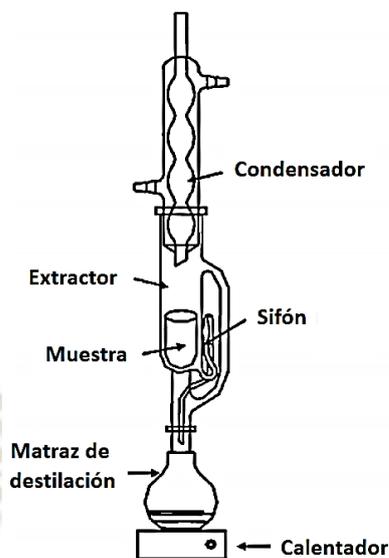


Fig. N° 2 Equipo de extracción por Soxhlet convencional <sup>28</sup>.

Métodos de extracción

### 2.1. Extracción Mecánica

Permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. La extracción mecánica se puede realizar por expresión, la cual consiste en ejercer una presión sobre la droga, por calor, o mediante incisiones por las que fluyen los fluidos de la planta <sup>37</sup>.

### 2.2. Destilación

Es una técnica que se basa en la diferente volatilidad de los componentes de la droga, lo cual permite la separación de componentes volátiles de otros que son menos o nada volátiles. Se suelen hacer destilaciones por arrastre de vapor que facilitan la extracción de los principios activos volátiles. La destilación permite obtener las esencias de las drogas. Es un método en el que se utiliza una fuente de calor, por lo que solo es aplicable a principios activos termoestables <sup>37</sup>.

### 2.3. Extracción con gases

Se trabaja con dispositivos especiales donde es posible controlar la presión y la temperatura y se trabaja a presión (P) y temperaturas (T) superiores a la presión y

temperaturas críticas. Los gases más utilizados son el dióxido de carbono y el butano<sup>37</sup>.

## **2.4. Extracción con disolventes**

Consiste en colocar en contacto la droga con un solvente capaz de solubilizar los principios activos. Los principios activos deben de pasar de la droga al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido. La extracción con solventes es uno de los métodos que se emplea con más frecuencia para la obtención de principios activos.

Se debe tener en cuenta los siguientes factores: drogas desecadas y con un grado de división adecuado, la naturaleza del solvente (polaridad), temperatura favorece la extracción de principios activos de las drogas porque aumenta su solubilidad, pero también puede favorecer la degradación de dicho compuesto, tiempo de contacto entre la droga y el disolvente y control de la difusión celular<sup>37</sup>.

### **2.4.1. Extracción discontinua o simultánea**

Se sumerge la droga en el solvente, porque la totalidad de la droga contacta con el solvente utilizado para la extracción y la difusión de los principios activos se producirá en todas las direcciones hasta alcanzar el equilibrio<sup>37</sup>.

#### **2.4.1.1. Infusión**

Se trabaja con agua (disolvente) a temperaturas próximas a ebullición uno a dos minutos hasta un tiempo de 30 minutos<sup>37</sup>.

#### **2.4.1.2. Maceración**

La droga seca y triturada se coloca en contacto con el disolvente (agua, mezclas hidroalcohólicas, glicerina) esto a temperatura ambiente por horas o días<sup>37</sup>.

#### **2.4.1.3. Digestión**

Similar a la maceración, pero a temperaturas mayor a temperatura ambiente<sup>37</sup>.

#### **2.4.1.4. Decocción o cocimiento**

La droga se pone en contacto con agua (disolvente) a temperatura de ebullición por un tiempo de 15 -30 minutos<sup>37</sup>.

#### 2.4.2. Extracción continua o progresiva

El solvente utilizado para la extracción se va renovando y actúa en una sola dirección.

##### 2.4.2.1. Soxhlet

Sistema de reflujo que garantiza la provisión del disolvente de manera pura a la muestra, se requiere de una fuente de calor que permita la ebullición del disolvente. El disolvente orgánico es reciclado en el proceso, mientras en el balón se va reciclando el principio activo <sup>39</sup>.

##### 2.4.2.2. Percolación

Es un proceso de paso, si bien hay una maceración previa, el disolvente se renueva de manera continua, se realiza a temperatura ambiente, en un recipiente con forma de columna o invertido o casi cilíndrica, terminada en su base por una llave de paso para regular la salida del líquido que gotea ayudado por la gravedad, la droga permanece en contacto con el disolvente <sup>37</sup>.

#### 2.5. Concentración de líquidos extractivos

- **Liofilización:** Consiste en eliminar el solvente mediante una congelación a temperatura bajas, seguido de una sublimación del solvente, que pasa directamente del estado sólido a vapor. Se puede distinguir distintos tipos de extractos según la concentración de principio activo respecto a la droga original y según su consistencia <sup>37</sup>.
- **Al vacío:** Utilizando un rotavapor, se trabaja a temperaturas inferiores a 40 °C y en ausencia de oxígeno. Se aplica para concentrar líquidos extractivos obtenidos con solventes orgánicos y mezclas hidroalcohólicas <sup>37</sup>.

#### 2.6. Elección del disolvente de extracción

La solubilidad del compuesto a extraer es un factor principal al momento de elegir el disolvente adecuado, además de la volatilidad, inflamabilidad y toxicidad que presentan los diversos disolventes. Para extraer componentes de tejido animal o vegetal, generalmente se emplea material molido y deshidratado, para evitar posibles formaciones de emulsión entre agua contenida en el material y los disolventes orgánicos a usar. Así mismo el tipo de compuestos orgánicos a extraer dependerá de la polaridad del disolvente escogido <sup>40,41</sup>.

### 3. Identificación por cromatografía en capa fina (TLC)

La cromatografía en capa fina la fase estacionaria es una capa de partículas (gel de sílice, alúmina o celulosa) de unos milímetros de espesor, fijadas sobre un soporte sólido generalmente de aluminio, plástico o vidrio. La fase móvil está formada por disolventes orgánicos (eluyentes) moviéndose por capilaridad a través de la fase estacionaria. La técnica consiste en depositar la muestra en el punto indicado en el extremo inferior de la fase estacionaria (placa). Luego la placa se colocará en el interior de una cuba cromatográfica la que contendrá el eluyente (fase móvil). Dicho eluyente hará contacto por el extremo donde fue depositada la muestra y por capilaridad se moverá hasta el otro extremo, arrastrando y separando los componentes de la muestra <sup>41</sup>.

A simple vista podrán ser observados en forma de manchas distribuidas a lo largo de la placa o mediante algún método de revelado para hacerlas visibles <sup>42,43</sup>.

El valor del Rf puede variar por varios factores no permitiendo que sea un valor absoluto entre ellos tenemos: temperatura del medio ambiente, pureza de los disolventes, variaciones de la homogeneidad de las placas de capa fina <sup>42,43</sup>.

### 4. Formas Farmacéuticas Líquidas Orales

Son normalmente, soluciones, suspensiones o emulsiones que contienen uno o más fármacos en un vehículo apropiado. Algunos pueden ser ingeridas sin diluir o previa dilución. También pueden prepararse de forma extemporánea antes de su ingestión a partir de polvos o granulados y de un vehículo apropiado <sup>38</sup>.

#### 4.1. Formulación

Los componentes de una forma líquida pueden ser:

- Vehículo: mezclas de sorbitol o agua, glicerina, etanol y propilenglicol, con menos frecuencia se utilizan disolventes como aceites vegetales o parafina. Se debe tener en cuenta concentraciones máximas para no superar la dosis diaria máxima recomendada. El vehículo es elegido en función de la solubilidad y estabilidad del principio activo <sup>44</sup>.
- Viscosantes: en las preparaciones mejora su estabilidad física.

- Tensioactivos: en suspensiones y emulsiones facilita la formulación reduciendo la tensión superficial del vehículo, incrementando la solubilidad de algunos principios activos <sup>44</sup>.
- Antioxidantes: para evitar posibles oxidaciones del fármaco y algunos excipientes se usan sustancias como: butilhidroxitolueno, butilhidroxianisol, galato de propilo y tocoferoles para derivados de azufre, fases oleosas y vitamina C para medios acuosos <sup>44</sup>.
- Conservantes antimicrobianos: evitan el desarrollo de microorganismos, se usan concentraciones bajas (<0.5%).
- Correctores de aroma y sabor: se emplean saborizantes y aromatizantes permitidos por las autoridades sanitarias, así mismo edulcorantes naturales o sintéticos (glucosa, fructuosa, sorbitol, sacarosa, glicerina, sacarina, etc) <sup>44</sup>.

#### 4.2. Soluciones

Contienen uno o más fármacos disueltos en un líquido son administrados por vía oral y se dosifican por volumen. Pueden presentarse como soluciones límpidas y transparentes de sabor y olor agradable, o como un producto sólido (polvo o granulado) para disolver extemporáneamente en el vehículo que le acompaña (agua purificada u otro). Además del fármaco y el vehículo pueden contener sustancias como edulcorantes, colorantes, humectantes, estabilizantes, aromatizantes <sup>38</sup>.

#### 4.3. Suspensiones

Contienen partículas de fármaco finamente divididas y distribuidas de manera uniforme en un vehículo en el cual el fármaco es insoluble o presenta un grado de solubilidad mínimo. La mayoría de las suspensiones son preparaciones acuosas con cierta viscosidad y agentes aromatizantes y edulcorantes.

Las suspensiones orales permiten la administración de fármacos que son inestables en disolución, pero químicamente estables cuando se formulan en suspensión. También se emplean para fármacos poco solubles en agua que no puedan formularse, por cuestiones de inestabilidad química, en los disolventes habitualmente utilizados en las formas líquidas orales.

También presenta sustancias auxiliares como conservantes, aromatizantes, colorantes, tensoactivos, electrolitos <sup>38,44</sup>.

#### 4.4. Emulsiones

Son sistemas dispersos constituidos por dos líquidos no miscibles, uno de ellos uniformemente disperso (fase interna o discontinua) en el otro (fase externa o continua), gracias a la acción de un agente emulsificante.

Son sistemas termodinámicamente inestables cuyas fases tienden a separarse con el tiempo. Las emulsiones permiten la administración de fármacos líquidos oleosos y de fármacos lipofílicos disueltos en aceites.

Los componentes básicos de una emulsión son fase oleosa, emulgentes y la fase acuosa debe estar constituida por agua purificada, disolvente hidromisibles y sustancias auxiliares que sean hidrosolubles (correctores de sabor, conservantes, etc.)<sup>38,41,44</sup>.

### 5. Inflamación

#### 5.1. Introducción

La inflamación es una reacción, tanto sistémica como local, de los tejidos y la microcirculación frente a una agresión patógeno. Se caracteriza por la producción de mediadores inflamatorios y movimiento de líquidos y leucocitos desde la sangre a los tejidos extravasculares. Esta respuesta localizada y elimina células alteradas, partículas extrañas, microorganismos y antígenos y prepara el camino para el retorno de la normalidad estructural y funcional. Los signos clínicos de la inflamación, denominada *flogosis* por el médico griego Galeno, e *inflammation* en latín, fueron descritos en época clásica. En el siglo I d.C, el enciclopedista romano Aulus Celsus describió los cuatro signos fundamentales de la inflamación, a saber, rubor (enrojecimiento), calor (calentura), tumor (hinchazón) y dolor. Estas características corresponden a los episodios inflamatorios de vasodilatación, edema y daño hístico. De acuerdo con los conceptos medievales, la inflamación representa un desequilibrio de varios "humores", entre los que se incluyen la sangre, el moco y la bilis. El concepto moderno respecto del fundamento vascular de la inflamación surgió en el siglo XVIII con John Hunter, el cual advirtió la dilatación de los vasos sanguíneos y determinó que el pus era material acumulado procedente de la sangre. Rudolf Virchow fue el primero en describir la inflamación como una reacción a una lesión hística previa. Además, agregó un quinto a los cuatro signos fundamentales: *functio laesa* (pérdida de la función'). Un discípulo de Virchow, Julius Cohnheim, fue el

primero en relacionar la inflamación con la emigración de los leucocitos a través de las paredes microvasculares. A finales del siglo XIX, el eminente zoólogo ruso Eli Metchnikoff destacó el papel de la fagocitosis en la inflamación. Por último, en 1927, Thomas Lewis describió la importancia de los mediadores químicos, al demostrar que la histamina y otras sustancias incrementan la permeabilidad vascular y causan la migración de los leucocitos al espacio extravascular. Algunos estudios más recientes revelaron las bases moleculares y genéticas de la inflamación aguda y crónica <sup>9,10</sup>.

## 5.2. Descripción de la inflamación

La función principal de la respuesta inflamatoria consiste en eliminar una agresión patógena y borrar los componentes histicos dañados para así permitir que tenga lugar la reparación histica. El cuerpo intenta contener o eliminar los agentes ofensores, y de ese modo proteger tejidos, órganos y, por último, todo el cuerpo de cualquier daño. Se recurre a células específicas para que ataquen y destruyan los agentes lesivos (por ejemplo, microorganismos infecciosos, toxinas y material extraño), los digieran mediante enzimas y los eliminen o retiren. Durante este proceso, las células y tejidos dañados se digieren y eliminan para permitir la reparación. La respuesta a muchos agentes dañinos es inmediata y estereotipada. El carácter de la respuesta inflamatoria se ve “modulado” por numerosos factores, como la naturaleza del agente ofensor, la duración de la agresión, la extensión del daño histico y el microambiente <sup>9,11</sup>.

- La iniciación de una respuesta inflamatoria tiene como consecuencia la activación de mediadores solubles y el reclutamiento de células inflamatorias hacia el área lesionada. Se liberan moléculas desde el agente lesivo, las células dañadas y la matriz extracelular que alteran la permeabilidad de los vasos sanguíneos adyacentes al plasma, otras moléculas solubles y células inflamatorias circulantes. Esta respuesta estereotipada e inmediata conduce a una rápida inundación de los tejidos lesionados con líquidos, factores de la coagulación, citocinas, quimiocinas, plaquetas y células inflamatorias, en particular neutrófilos. El proceso completo se denomina inflamación aguda <sup>12</sup>.

- La amplificación depende de la extensión de la lesión y de la activación de mediadores como las cininas y componentes del complemento. Se reclutan leucocitos y macrófagos adicionales para el área <sup>12</sup>.
- La destrucción de los agentes lesivos coloca el proceso bajo control. La digestión enzimática y la fagocitosis reducen o eliminan el material extraño o los microorganismos infecciosos. Al mismo tiempo, los componentes del tejido dañado también se eliminan y desbridan, todo lo cual contribuye al inicio de la reparación <sup>13</sup>.
- La finalización de la respuesta inflamatoria recibe la mediación de mecanismos antiinflamatorios intrínsecos que limitan el daño hístico y permiten la reparación y un retorno a la función fisiológica normal. Alternativamente, de acuerdo con la naturaleza de la lesión y de la respuesta inflamatoria y reparadora específica, puede desarrollarse una cicatriz en lugar del tejido normal. Muy importantes, asimismo, son los mecanismos intrínsecos de la zona, que concluyen el proceso inflamatorio, evitan la entrada adicional de líquidos, mediadores y células inflamatorias e impiden la digestión de las células y tejidos normales <sup>14</sup>.

Ciertos tipos de lesiones desencadenan una respuesta inflamatoria e inmunitaria sostenida que se muestra incapaz de eliminar el tejido dañado y los agentes extraños. Esta respuesta persistente se *denomina* inflamación crónica. Los infiltrados inflamatorios crónicos están compuestos sobre todo de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos. Con frecuencia coexisten los infiltrados inflamatorios agudo y crónico. Aunque de manera habitual la inflamación desempeña un papel defensivo, también puede ser perjudicial. La respuesta inflamatoria aguda puede ser desmesurada o sostenida, con o sin eliminación del agente ofensor. La consecuencia puede ser el daño hístico, testimonio de lo cual son los estragos causados por una neumonía bacteriana, debidos a la inflamación aguda o la destrucción articular, en la artritis séptica. La inflamación crónica también puede dañar tejidos y llevar a la cicatrización y pérdida funcional de los mismos. De hecho, la inflamación crónica es la base de muchas enfermedades degenerativas. El deterioro de las respuestas inflamatorias puede provocar infecciones descontroladas, como en los hospederos con inmunodepresión. Varias enfermedades congénitas se caracterizan por una respuesta inflamatoria deficiente debido a defectos en la función de las células inflamatorias o en la inmunidad <sup>14</sup>.

### 5.3. Mediadores de la inflamación

Se han documentado muchos factores que median e instrumentan los eventos de la inflamación *aguda*. Los mediadores químicos de la inflamación son importantes, pues el proceso puede modificarse con fármacos para minimizar efectos indeseables y muy perjudiciales. Los mediadores pueden proceder de células o ser derivados del plasma. Los mediadores del plasma entran al área lesionada por medio del exudado inflamatorio. En su mayor parte son prelinas precursoras que son activadas por enzimas proteolíticas. Una vez activadas, por lo general tienen semivida corta. Una vez que están en los tejidos son rápidamente inactivadas por una variedad de sistemas enzimáticos, o de depuración. La histamina es el principal mediador preformado de la inflamación. Liberada a partir de las células cebadas, basófilos y plaquetas, causa vasodilatación transitoria de las arteriolas, incrementa la permeabilidad en las venas y es la causa primaria del aumento de la permeabilidad vascular durante las primeras horas posteriores a la lesión <sup>15</sup>.

Las *prostaglandinas* y los leucotrienos son derivados a partir de la síntesis local del ácido araquidónico. Éste ácido graso de cadena larga lo liberan las membranas celulares por activación de la enzima fosfolipasa A<sub>2</sub>. Hay dos vías principales en el metabolismo del ácido araquidónico <sup>15</sup>.

- a) La vía de la ciclooxigenasa produce: tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), que agrega plaquetas y causa constricción vascular; prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), que inhibe la agregación plaquetaria y dilata vasos; prostaglandinas estables (PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGD<sub>2</sub>), que producen vasodilatación y aumentan la permeabilidad vascular; la PGE<sub>2</sub> también causa dolor. Existen dos formas de ciclooxigenasa llamadas COX-1 y COX-2. La COX-1 suelen expresarse como una enzima constitutiva de las células mientras que COX-2 es inducida en células, donde participa en la inflamación.
- b) La vía de la lipooxigenasa produce leucotrienos (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) que causan vasoconstricción y aumentan la permeabilidad en las vénulas. El LTB<sub>4</sub> estimula la adhesión del leucocito al endotelio <sup>16</sup>.

El factor activador de plaquetas (PAF, del inglés Platelet-Activating Factor) es sintetizado por células cebadas/basófilos, y su liberación puede ser mediada por IgE. Sintetizado también por plaquetas, *neutrófilos*, monocitos y endotelio, es un

compuesto fosfolípido que causa vasoconstricción, aumento de la permeabilidad vascular, y agregación de plaquetas. Es cuando menos 1000 veces más potente que la histamina; además, estimula la síntesis de metabolitos del ácido araquidónico. Las citocinas son polipéptidos de linfocitos y monocitos activados. Las principales citocinas que participan en la inflamación aguda son las interleucinas (IL-1, IL-8) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ , del inglés Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ). Estas sustancias originan:

- Inducción de moléculas de adhesión celular en el endotelio.
- Inducción de la síntesis de PGI<sub>2</sub>.
- Inducción de la síntesis de PAF.
- Fiebre, anorexia, y estimulación de síntesis de proteínas de fase aguda por el hígado.
- Estimulación de la proliferación y actividad secretora de los fibroblastos.
- Atracción de neutrófilos hacia el área lesionada (IL-8)<sup>17</sup>.

Las quimiocinas son una familia de factores secretados por leucocitos y células endoteliales, en respuesta al daño tisular y otros mediadores inflamatorios. Están fijadas a la matriz extracelular y a los proteoglicanos de sulfato de heparina de las células. Además, establecen un gradiente de concentración desde el foco de la inflamación. El rodamiento de los neutrófilos hace que estos *encuentren* quimiocinas fijadas a proteoglicanos en las células endoteliales. Receptores de quimiocina específicos son activados y esto señala la activación de integrinas del leucocito que median la adhesión y la emigración. Las quimiocinas son removidas de la circulación mediante el receptor del antígeno Duffy para quimiocinas (DARC) expresado en los eritrocitos<sup>18</sup>.

El sistema del complemento comprende un conjunto de proteínas del plasma que desempeña importantes funciones en la inmunidad y en la inflamación. Es una cascada de activación con la producción de *abundantes* péptidos intermediarios activados. Los principales productos que intervienen en la inflamación aguda son:

- C3a, aumenta la permeabilidad vascular liberando histamina de células cebadas y plaquetas.

- C5a, aumenta la permeabilidad vascular al liberar histamina de células cebadas y plaquetas, es un agente quimiotáctico para neutrófilos, e induce moléculas de adhesión a la célula endotelial.
- El complejo C345 es quimioatractivo para los neutrófilos.
- C3b opsoniza bacterias y facilita la fagocitosis de los neutrófilos <sup>18</sup>.

Las cininas son péptidos pequeños derivados de precursores del plasma por escisión proteolítica. El sistema es activado por una de las proteínas de coagulación, el factor Hageman (Factor XII) activado, lo cual disocia al péptido precalicreína a calicreína. La calicreína estimula a un cininógeno de alto peso molecular a formar bradicinina, que es un potente mediador del aumento de la permeabilidad vascular, causa dolor y activa al sistema de complemento. La vía de la coagulación controla la coagulación sanguínea mediante la formación de fibrina a partir del fibrinógeno. El factor XII (factor de Hageman) es activado en el exudado inflamatorio cuando entra en contacto con colágeno fuera del vaso. A continuación, estimula el depósito de fibrina, activa al sistema de cinina, e impulsa el sistema trombolítico. Cuando el fibrinógeno se convierte en fibrina, se forman fibrinopéptidos, los que aumentan la permeabilidad vascular, además de ser quimiotácticos para los neutrófilos <sup>18</sup>.

La plasmina (generada por el activador del plasminogeno derivado del endotelio por acción de la bradicinina) es una *enzima* proteolítica que desempeña varias funciones en la inflamación <sup>17</sup>.

*Plasmina:*

- Activa al sistema del complemento.
- Activa al factor de Hageman.
- Liza fibrina para formar productos de degradación de la fibrina que aumentan la permeabilidad de los vasos <sup>17</sup>.

#### **5.4. Evolución de la inflamación aguda**

Aunque las alteraciones de la hemodinámica, de la permeabilidad y de los leucocitos se han descrito de forma secuencial, y este podría ser su orden, todos estos fenómenos se producen de forma simultánea. Existen muchas variables que pueden modificar este proceso básico, entre las que se incluyen, la naturaleza e intensidad de la lesión,

la zona y el tejido afectados, y el tipo de respuesta del huésped. La inflamación aguda puede presentar una de las cuatro siguientes formas de evolución.

1. Resolución completa. Cuando el agente o estímulo lesivo se puede neutralizar, todas las reacciones inflamatorias vuelven a la normalidad del tejido donde se produjo la lesión; esto se denomina resolución, y es la más habitual en los casos en los que la lesión es limitada y de corta duración, y en aquéllos en los que la destrucción tisular ha sido escasa con regeneración celular parenquimatosa. La resolución implica la neutralización de los mediadores químicos con el retorno subsiguiente de la permeabilidad vascular normal, la interrupción de la infiltración leucocitaria; la muerte (principalmente por apoptosis) de los neutrófilos y, finalmente, la eliminación del líquido de edema, proteínas, leucocitos, cuerpos extraños y restos necróticos. Los linfáticos y los fagocitos desempeñan un papel importante en estos acontecimientos.
2. Formación de absceso. Observada fundamentalmente en las infecciones por microorganismos piógenos como: estafilococo, estreptococo, gonococo.
3. Curación mediante sustitución por tejido conjuntivo (fibrosis). Se produce cuando ha existido una destrucción tisular sustancial, en tejidos fundamentalmente que no regeneran, o cuando se produce abundante exudación de fibrina. Cuando el exudado fibrinoso de tejidos o cavidades serosas como la pleura, pericardio, peritoneo, no puede ser reabsorbido de forma adecuada, prolifera tejido conjuntivo en la zona del exudado, convirtiéndolo en una masa de tejido fibroso; este proceso se denomina organización.
4. Progresión de la respuesta tisular hacia inflamación crónica. Esta forma de evolución puede seguir a la inflamación aguda o ser crónica desde el principio. La transición entre la forma aguda y la crónica se produce cuando la respuesta de inflamación aguda no puede resolverse, por la persistencia del agente lesivo o la presencia de alguna interferencia en el proceso normal de curación. Ejemplo: la neumonía (infección bacteriana pulmonar) puede iniciarse como un foco de inflamación aguda, cuando existe la imposibilidad de resolución por cualquier causa puede dar lugar a destrucción tisular extensa con formación de una cavidad y persistencia de la inflamación, conllevando finalmente a un absceso crónico pulmonar <sup>18</sup>.

5. Otro ejemplo de inflamación crónica con persistencia del estímulo es la úlcera péptica del estómago o del duodeno. Las úlceras pépticas pueden persistir durante meses o años y se manifiestan por la presencia de reacciones inflamatorias agudas y crónicas <sup>18</sup>.

### 5.5. Causas

- Reacciones de hipersensibilidad de mecanismo inmunitario (vasculitis inmunomediada, rinitis alérgica).
- Operación quirúrgica,
- Agentes físicos (traumatismo, radiación, calor, frío, etc).
- Irritación por tóxicos (sustancias químicas).
- Invasión por parte de un agente infeccioso (infecciones microbianas) <sup>45,46</sup>.

### 5.6. Alteraciones principales de la inflamación

- Aumento del aporte sanguíneo provocando vasodilatación, responsable de los signos inflamatorios rubor y calor.
- El segundo sobre receptores capilar, provocando un incremento de la permeabilidad capilar y extravasación responsable del edema o tumor inflamatorio.
- Los polimorfonucleares neutrófilos y células mononucleadas (monocitos y macrófagos) juegan un papel clave en la defensa del huésped contra las bacterias invasoras, cuando se emiten las señales atractoras y quimioatractores <sup>46</sup>.

### 5.7. Clases de inflamación

#### 5.7.1. Inflamación Aguda

##### 5.7.1.1. Signos Comunes

Llamada también tétrada de Celso

- Tumefacción (edema)
- Rubor (vasodilatación)
- Calor (vasodilatación)
- Dolor (prostaglandinas) <sup>46</sup>.

### 5.7.1.2. Respuesta Vascular

- Vasodilatación generalizada (hiperemia)

Este cambio vascular, inducido principalmente por las sustancias inflamatorias: histamina, bradicinina, eicosanoides, triptasas, que son secretadas desde los primeros segundos por los mastocitos locales, los basófilos y las células endoteliales activadas, aumentan el flujo de sangre hacia el área inflamada, lo que genera elevación de la temperatura y enrojecimiento local (calor y rubor) <sup>47</sup>.

- Aumento de la permeabilidad vascular

La dilatación capilar permite el paso de líquido y proteínas sanguíneas (entre las que se encuentran complemento e inmunoglobulinas), éstos al acumularse producen edema (tumor). La distensión de los tejidos, la acción de la bradicinina y el estímulo que todo lo anterior ejerce sobre las terminaciones nerviosas, originan el dolor, última de las cuatro manifestaciones clínicas cardinales de la inflamación: calor, rubor, tumor y dolor, descritas por Celsus <sup>47</sup>.

- Edema inflamatorio

La presión hidrostática y la reducción de la presión oncótica (fuga de proteínas a espacios intersticiales), influyen en el desplazamiento de líquidos desde el plasma a los tejidos, lo cual se conoce como edema inflamatorio.

Disminuye la velocidad de flujo de sangre y su viscosidad aumenta <sup>47</sup>.

### 5.7.1.3. Acontecimientos Celulares

Los polimorfonucleares neutrófilos migran hacia la zona de la lesión, donde fagocitan los agentes patógenos, destruyen las bacterias y otros microorganismos y degradan el tejido necrótico y los antígenos extraños. Así mismo también pueden prolongar la inflamación e inducir lesión tisular al liberar enzimas, mediadores químicos y radicales tóxicos del oxígeno <sup>48</sup>.

### 5.7.2. Inflamación Crónica

Se caracteriza por la presencia de:

- Linfocitos - Células plasmáticas (producción de anticuerpos)
- Macrófagos (fagocitosis), células multinucleadas (macrófagos-fusionados)<sup>48</sup>.

Los macrófagos del tejido inflamado aumentan gradualmente durante la inflamación aguda hasta que llegan a ser el tipo celular dominante en la inflamación crónica se activan por el interferón gamma (INF $\gamma$ ) el cual es producido por linfocitos activados.

La fagocitosis, los leucocitos liberan sus productos no sólo al interior del fagolisosoma si no también hacia el espacio extracelular. Entre los productos liberados se incluyen, enzimas lisosomales, por regurgitación durante la alimentación, endocitosis inversa o liberación citotóxica. Metabolitos activos derivados del oxígeno, productos del metabolismo del ácido araquidónico, como prostaglandinas y leucotrienos. Estos productos son potentes mediadores de lesión tisular y amplifican los efectos del estímulo inflamatorio inicial <sup>48</sup>.

## 5.8. Fármacos Antiinflamatorios

Entre los fármacos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios tenemos a los AINEs tienen como efecto primario inhibir la síntesis de prostaglandinas, a través de la inhibición de la enzima cicloxigenasa y los antiinflamatorios esteroides o glucocorticoides <sup>49</sup>.

### 5.8.1. Glucocorticoides

Su propiedad más útil como antiinflamatorio puede actuar en casos graves de inflamación, así mismo tiene múltiples aplicaciones terapéuticas, teniendo conocimiento de potenciales efectos secundarios, los glucocorticoides sistémicos se reservan para el tratamiento a corto plazo de enfermedades graves.

Los glucocorticoides son agonistas altamente liposolubles, que difunden a través de la membrana plasmática y se unen al receptor ubicado en el citoplasma. Un nuevo ARNm formado, da origen a proteínas como lipocortina, adrenoceptores  $\beta_2$ , macrocortina o lipocortina, una proteína inhibidora de la fosfolipasa A<sub>2</sub> ,

interfiriendo en la producción de prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, disminuyendo la síntesis y liberación de sustancias <sup>50</sup>.

## 6. Diclofenaco

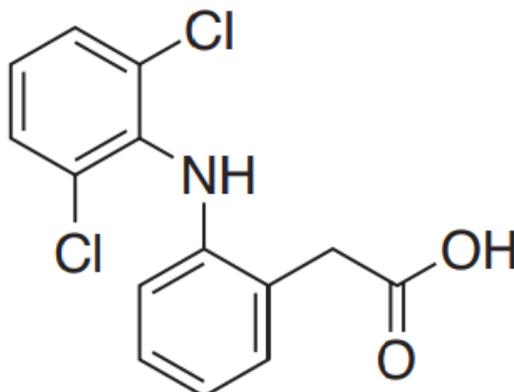


Fig. N° 3 Estructura química del diclofenaco <sup>8</sup>.

El diclofenaco, un derivado del ácido fenilacético, es uno de los NSAID que más se utilizan en Estados Unidos. Los NSAIDs son un gran grupo de fármacos que sirven para aliviar el dolor (analgésico) y para reducir la fiebre (antipirético), así como para reducir la inflamación cuando se utilizan con el tiempo. Los efectos antiinflamatorios pueden tardar en producirse desde unos pocos días hasta tres semanas. Los no selectivos (tradicional) los NSAIDs, como ibuprofeno, aspirina, naproxeno nabumetona actúan mediante la inhibición tanto de la COX-1 y COX-2 para detener la producción de prostaglandinas, mientras que los inhibidores COX-2 sólo bloquean la enzima COX-2 Se comercializa como una sal de potasio para la administración oral, como una formulación de epolamina para la aplicación transdérmica y como sal sódica para la aplicación tópica y oral <sup>20</sup>.

### 6.1. Farmacodinamia

El diclofenaco tiene actividades analgésicas, antipiréticas y AINES. Su potencia es mucho mayor que la indometacina, el naproxeno u otros NSAID tradicionales. La selectividad del diclofenaco para la COX-2 es similar a la del celecoxib. Además, el diclofenaco parece reducir las concentraciones intracelulares de ácido araquidónico libre en los leucocitos y modifica tal vez su liberación y captación <sup>20, 21, 22, 23</sup>.

### 6.2. Farmacocinética

La absorción es rápida y completa por vía oral, rectal e intramuscular, pero parte de la dosis sufre metabolismo hepático de primer paso (Vd: 50-60%). Por vía oral se

obtienen niveles pico en 1 hora y por vía intramuscular en 20 minutos. Circula ligado extensamente a las proteínas plasmáticas (99.8%). Su Vd es de 0.12-0.17 L/kg. Atraviesa la placenta y llega a la leche materna. Penetra en el fluido sinovial de pacientes con osteoartritis y artritis reumatoidea. Su tiempo de vida media es de 1.1 horas, siendo metabolizado extensamente a nivel hepático. La biotransformación del diclofenaco se produce en parte por glucoronización del fármaco intacto, pero principalmente por hidroxilaciones y metoxilaciones simples y múltiples, lo que produce diversos metabolitos fenólicos (3'-hidroxi-4'-metoxi-diclofenaco), la mayoría de los cuales se convierten en conjugados glucoronidos. Dos de estos metabolitos fenólicos, aunque en mucho menor grado que el diclofenaco. <sup>(24)</sup>

La excreción es por vía renal (40-65%) y biliar-fecal (35%), principalmente en forma de metabolitos <sup>24</sup>.

### 6.3. Indicaciones

El diclofenaco es uno de los AINE más extensamente utilizados. Se indica en la artritis reumatoidea y en la artritis, el dolor dental, la bursitis, la espondilitis anquilosante, las dismenorreas y los estados inflamatorios postraumáticos y posoperatorios, en los que proporciona un rápido alivio del dolor y del edema <sup>25</sup>.

### 6.4. Contraindicaciones

- Hipersensibilidad al diclofenaco.
- Patología cardiovascular grave: insuficiencia cardíaca (grado II-IV), cardiopatía isquémica, enfermedad arterial periférica, enfermedad cerebrovascular.
- Úlcera péptica.
- Antecedentes de urticaria, angioedema, anafilaxia o broncoespasmo inducida por AAS o con otros AINE.
- Discrasias sanguíneas activas, depresión e la médula ósea.
- Insuficiencia renal o hepática severas.
- Durante el embarazo diclofenaco se contraindica en el tercer trimestre de la gestación, labor de parto o parto.
- Las formulaciones rectales están contraindicadas en caso de hemorragia rectal, hemorroides o proctitis <sup>24</sup>.

## 6.5. Efectos adversos

El diclofenaco produce efectos secundarios (sobre todo gastrointestinales) en alrededor del 20% de los pacientes y cerca del 2% de los enfermos suspende el tratamiento a causa de ello. La frecuencia de efectos secundarios gastrointestinales importantes no fue diferente entre el diclofenaco y los inhibidores selectivos de la COX-2, el celecoxib y el etoricoxib, tal vez porque el diclofenaco muestra un grado de selectividad para la COX-2 que es similar al del celecoxib. El fármaco contiene la misma nota de advertencia de riesgo de todos los NSAID tradicionales con relación a las reacciones adversas cardiovasculares. Las reacciones de hipersensibilidad se han presentado tras la aplicación tópica <sup>20, 21, 22, 23</sup>.

El aumento moderado de las transaminasas hepáticas en el plasma ocurre en 5 a 15% de los casos. Aunque por lo general de una manera moderada, los valores de transaminasa pueden aumentar más de tres veces en un pequeño porcentaje de los pacientes. Los incrementos suelen ser reversibles. Otro miembro de esta familia del ácido fenilacético de los NSAID, el bronfenaco, fue retirado del comercio porque producía hepatopatía grave irreversible en algunos enfermos. El bronfenaco fue reautorizado en Estados Unidos en 2005 como una solución oftálmica para la inflamación ocular posoperatoria y el dolor consecutivo a la extracción de cataratas. El nepafenaco, con estructura similar, fue autorizado como un oftálmico en el mismo año para la misma indicación. El lumiracoxib es otro análogo del diclofenaco que fue retirado del comercio en varios países debido a su toxicidad hepática. Se deben determinar las transaminasas durante las primeras ocho semanas de tratamiento con el diclofenaco y hay que suspender el fármaco si los valores anormales persisten o si aparecen otros signos o síntomas. Otras reacciones adversas al diclofenaco son efectos sobre el SNC, exantemas, reacciones alérgicas, retención de líquido, edema y alteraciones de la función renal. No se recomienda el fármaco para niños, madres en lactación o embarazadas. Compatible con su preferencia por la COX-2 y a diferencia del ibuprofeno, el diclofenaco no interfiere en el efecto antiplaquetario del ácido acetilsalicílico <sup>20, 21, 22, 23</sup>.

## 6.6. Precauciones

Debe aplicarse en superficies cutáneas sanas e intactas (ausencia de heridas o lesiones abiertas), evitando el contacto con los ojos y las mucosas. Al ser

administrado por vía tópica son escasas las probabilidades de que se produzcan efectos secundarios sistémicos; sin embargo, pueden observarse cuando la droga se aplica en zonas relativamente extensas de la piel y durante un periodo prolongado. Por ello los pacientes con trastornos gastrointestinales o con antecedentes de úlcera péptica, enfermedad de Crohn o con trastornos hematopoyéticos, como afecciones hepáticas, cardíacas o renales graves, deberán mantenerse bajo estricto control médico. En pacientes sometidos a tratamiento prolongado se deberán realizar recuentos hemáticos periódicos y controlar la función hepática y renal <sup>20, 21, 22, 23</sup>.

### **6.7. Presentaciones**

Se dispone de cuatro formulaciones orales: comprimido de liberación inmediata y cápsulas, comprimidos de liberación tardía, comprimidos de liberación prolongada y un polvo para solución oral. La dosis oral diaria habitual es 100 a 200 mg, administrados en varias dosis fraccionadas. En el caso de la migraña, se administra un saquito de polvo (50 mg) disuelto en 30 a 60 ml de agua. El diclofenaco para uso tópico está disponible en gel y parche transdérmico; se considera que las concentraciones sistemáticamente activas liberadas por estos preparados contribuyen más al alivio de los síntomas que el transporte directo a través de la piel hacia el tejido inflamado. El diclofenaco también está disponible en combinación con misoprostol, un análogo de la PGE1. Esta combinación detiene la eficacia del diclofenaco y a la vez reduce la frecuencia de las úlceras y las erosiones gastrointestinales. Además, se dispone de una solución oftálmica del diclofenaco para tratar la inflamación posoperatoria que se presenta luego de la extracción de las cataratas, el dolor posoperatorio y la fotofobia consecutivas a la cirugía corneal de refracción <sup>20</sup>.

## CAPITULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1. Materiales

##### 1.1. Material de laboratorio

##### 1.1.1. Instrumental de vidrio

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

##### 1.1.2. Equipos de laboratorio

- Balanza gramera
- Equipo de baño maría
- Balanza analítica Ohaus Pionner
- Equipo de Soxhlet (HEEDING)
- Equipo Rotavapor BUCH Switerland R-114

- Estufa de desecación (Memmert 854 Shwabach- Germany)
- Pletismometro Digital LE7500
- Lámpara de luz UV (CAMAG UV 250-366nm)
- Mechero bunsen.

### 1.1.3. Reactivos

- Acetato de etilo  $\text{CH}_3\text{-COO-CH}_2\text{-CH}_3$  Q.P. (J.T. BAKER)
- Acritamer
- Agua destilada
- Carragenina 1%
- Diclofenaco gel 1%
- Etanol 96°  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$
- Cloroformo (triclorometano) ACS (J.T. BAKER)
- Acetona (propanona) ACS (MERCK)
- Ácido acético glacial Q.P. (MERCK)
- Cloruro férrico ACS (MERCK)
- Hexano ACS (J.T.BAKER)
- Cloruro de sodio
- Tween 20 (MERCK)
- Tolueno ACS (J.T. BAKER)
- Ácido sulfúrico 95-98% ACS (MERCK)
- Carboximetilcelulosa sódica (LABOCHINI)
- Tricloruro de aluminio ACS (RIEDEL DE HAEN)
- Acido formico (MERCK) 98-100%

- Cloruro de aluminio (MERCK) 97-101%
- Reactivo de Dragendorff (elaborado U.C.S.M.)
- Reactivo de Liebermann Burchard (elaborado U.C.S.M.)
- Vainillina
- Metanol  $\text{CH}_3\text{-OH}$  Q.P. (MERCK)
- Metilparabeno
- Propilenglicol USP
- Propilparabeno NEQUINSA
- Tritón x100
- Trietanolamina Q.P. (MERCK)

#### **1.1.4. Otros**

- Algodón estéril
- Pabilo
- Papel kraft
- Jeringas de tuberculina (SEGURIMAX)
- Mascarilla
- Placas de silica gel (MERCK)
- Cámara fotográfica (SAMSUNG)
- Pinzas
- Cocina eléctrica
- Espátulas
- Frascos de vidrio color ámbar 90ml
- Guantes quirúrgicos (Laboratorio CEMEDIC SAC)

- Jaulas metálicas para ratas
- Mortero
- Olla metálica
- Papel filtro
- Potes de plástico y de vidrio x100ml
- Soporte universal
- Pissetas

## **1.2. Material biológico**

### **1.2.1. Material vegetal**

Como material vegetal se utilizaron las hojas secas de especímenes de *Grindelia glutinosa* conocidos comúnmente como chiri-chiri. (Anexo 3)

### **1.2.2. Recurso biológico**

Como recurso biológico se utilizaron especímenes machos de *Rattus norvegicus* conocidos comúnmente como ratas albinas de laboratorio, como se menciona en el apartado 2.1.2.1.

### **1.2.3. Material farmacológico**

Como material farmacológico se utilizó una especialidad farmacéutica que fue el gel de diclofenaco Portugal, es decir, un medicamento genérico de marca, su descripción es la siguiente:

- Nombre comercial: voltaren gel, Diclofedol.
- DCI: Diclofenaco
- Número de lote: 1041118
- Fecha de vencimiento: 04-2021
- Registro Sanitario: EN-02764
- Concentración: 1%

- Forma farmacéutica: gel
- Laboratorio fabricante: Laboratorios Portugal S.R.L.

## 2. MÉTODOS

### 2.1. Metodología de la investigación

#### 2.1.1. Tipo de investigación

El presente estudio es de tipo experimental puro.

#### 2.1.2. Diseño de investigación

##### 2.1.2.1. Diseño completamente al azar

###### a) **Tratamientos:**

G1: gel base

G2: extracto al 30%

G3: extracto al 50%

G4: gel con extracto al 15%

G5: gel con extracto al 30%

G6: diclofenaco al 1%

###### b) **Repeticiones:** 5 ratas para cada grupo

###### c) **Unidad experimental:** una rata de

-raza: *Rattus norvegicus*

-edad: cuatro meses

-peso: 208 gr

-sexo: macho

-longitud: cabeza-cola 38 cm

-alimentación: omnívoro

-condiciones: se les acondiciono con horario, alimentación y temperatura adecuada de laboratorio listos para la experimentación.

- d) **Total de unidades:** 30 ratas
- e) **Croquis del experimento:** Se utilizaron 30 ratas luego enumeramos cada uno posteriormente se hizo la distribución aleatoria de las unidades a los tratamientos.
- f) **Evaluaciones**
  - valor basal del volumen de inflamación
  - volumen de inflamación a las 3 horas
  - volumen de inflamación después de 1 hora, 2 horas y 3 horas de aplicado el tratamiento

## 2.2. Métodos para el tratamiento del material vegetal

### 2.2.1. Recolección

Se recolectaron por la mañana especies adultas saludables a simple vista correspondientes a *Grindelia glutinosa* conocida comúnmente como chiri-chiri, se extrajo toda la planta de especies adultas que crecen en estado silvestre por los alrededores específicamente en las lomas de Yuta, del distrito de Mollendo, provincia de Islay. Para su transporte se colocaron en sacos de yute, y fueron transportados hasta la Universidad Católica Santa María.

### 2.2.2. Selección

En el laboratorio, se seleccionaron las especies de buen aspecto, sin marcas o manchas extrañas. Posteriormente de estas especies de *Grindelia glutinosa* se retiraron solo las hojas que se encontraban en buen estado.

### 2.2.3. Estabilización

Posteriormente se continuo con la estabilización del material vegetal con la finalidad de generar la inactivación enzimática mediante la aplicación de calor. Para ello se colocaron las hojas seleccionadas en bandejas y se introdujeron a la estufa de desecación y se sometió un cambio brusco de temperatura; ambiente a 100°C durante 2 minutos.

#### 2.2.4. Desección

La desecación de las hojas de *Grindelia glutinosa* o chiri-chiri se desecaron a temperatura ambiente por 3 días luego tuvieron que ser desecadas en estufa a una temperatura de 60°C durante 4 horas.

#### 2.2.5. Trituración

La trituración se practicó con la intención de mejorar la extracción, fue suficiente para este procedimiento el mortero y pilón de porcelana, por lo que la trituración fue manual, y hasta un grado de trituración semi fino como se observa en la figura N° 4.



Fig. N° 4 Trituración de las hojas de *Grindelia glutinosa*.

### 2.3. Método para la obtención del extracto

#### 2.3.1. Extracción

Para la obtención del extracto de las hojas de *Grindelia glutinosa* o chiri-chiri se utilizó el método de extracción por Soxhlet.

#### 2.3.2. Fundamento

El equipo Soxhlet está hecho de vidrio y consta de tres partes. Un matraz de fondo redondo de tamaño adecuado forma la parte “A” que tiene un cuello de vidrio esmerilado. Un cuerpo principal es la unidad “B” tiene un tubo de vidrio o sifón y un brazo lateral. Este contiene un dedal para material de muestra. Equipado con esta unidad, está un condensador que forma la parte “C”. El solvente de extracción

se coloca en el matraz "A" y se calienta en un baño de agua o placa caliente. Los vapores de solvente pasan a través del brazo auxiliar del cuerpo al condensador. En la condensación, las gotas de disolvente caen sobre la muestra colocada en el dedal y extrae los constituyentes. Cuando el nivel de disolvente en el cuerpo del dedal alcanza un nivel de desbordamiento o sifón, el disolvente fluye al matraz mediante un mecanismo de sifón. Por lo tanto, la extracción continua de material se lleva a cabo usando muy poco volumen de disolvente de extracción, como se muestra en la figura N° 5. Este método es el método más económico y simple para aislar constituyentes activos. La única desventaja de este método es que los componentes térmicamente lábiles (sensibles al calor) se destruyen debido al calor<sup>26</sup>.



Fig. N° 5 Obtención de los extractos de las hojas de *Grindelia glutinosa* por el método de extracción por soxhlet.

### 2.3.3. 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 200 ml de disolvente, luego se armó el equipo, de acuerdo a la figura N° 5 se colocó en la parte A el disolvente, encima la parte B con el material vegetal y finalmente la parte C o condensador, se conectaron las mangueras de látex al grifo de agua, finalmente se encendió la cocinilla eléctrica y se procedió con la extracción hasta agotamiento de la droga. Siendo la duración de la extracción de 7 ciclos.

### 2.3.4. Eliminación del disolvente

Una vez terminada la extracción por soxhlet se procedió a la concentración a dos volúmenes del solvente para ello se hizo uso de un baño maría hirviente hasta obtener una sustancia líquida de color de las hojas de chiri-chiri



Fig. N° 6 Concentración de los extractos de las hojas de *Grindelia glutinosa*.

## 2.4. Método para el análisis fitoquímico preliminar

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

### 2.4.1. Fundamento

La cromatografía en capa fina es una subdivisión de cromatografía líquida, en la que la fase móvil es líquida y la fase estacionaria está situada como una capa

delgada en la superficie de una placa plana. TLC a veces se agrupa con cromatografía de papel bajo el término "cromatografía capa fina" debido a la geometría de la capa de las fases estacionarias de papel <sup>27</sup>.

El disolvente en desarrollo o la fase móvil es el medio de transporte para que los solutos se separen a medida que migra a través de la fase estacionaria por fuerzas capilares. El movimiento de sustancias durante la TLC es el resultado de dos fuerzas opuestas: la fuerza impulsora de la fase móvil y la acción resistiva o retardadora del sorbente. La fuerza motriz tiende a mover las sustancias desde el origen en la dirección del flujo de fase móvil. Cada molécula alterna entre una condición sorbida y no sorbida, siguiendo un camino de parada y marcha a través del sorbente. Aunque la zona avanza constantemente, solo una fracción de las moléculas de la zona se mueve en cualquier momento. Al final del desarrollo, cada zona ha migrado una cierta distancia media y se ha extendido debido a las fluctuaciones en el movimiento de moléculas individuales en la zona debido a factores tales como el tamaño de las partículas y la uniformidad en la capa. La distancia recorrida por el centro de cada zona de solutos en una placa dada es la resultante de las fuerzas de conducción y de resistencia. Las sustancias que se mueven lentamente se atraen más fuertemente a la capa, mientras que las que se mueven rápidamente gastan una menor fracción de su tiempo en la capa debido a su menor afinidad por ella y más solubilidad en la fase móvil <sup>27</sup>.

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 <sup>27</sup>.

#### 2.4.2. Procedimiento

Para el análisis fitoquímico preliminar en primer lugar 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. Una vez preparadas nuestras placas en cantidad suficiente. Se preparó las fases móviles y reveladores adecuados

Se sembró 10 veces dejando secar entre siembra y siembra con la ayuda de un capilar acondicionado para tal fin, una vez realizada la siembra de nuestro extracto se colocó en las cubas cromatográficas que contenían las fases móviles o mezclas de disolventes 20 minutos antes para que se sature el medio y se procedió al desarrollo del análisis. Terminado este proceso se realizó el revelado. A continuación, se muestra la descripción de fases móviles y reveladores.

### 2.5. Sistemas de disolventes y reveladores

#### 2.5.1. General

Para la reacción general se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus respectivas proporciones.

N-Hexano: Acetona

(8:2)

El reactivo revelador fue la solución etanólica de vainillina y la solución de ácido sulfúrico. Este reactivo permite la detección de aceites esenciales, terpenoides, derivados de fenilpropano, fenoles, etc <sup>27</sup>.

#### 2.5.2. Terpenos

Para la detección de terpenos se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus respectivas proporciones.

Tolueno: Acetato de etilo

(9:1)

El reactivo revelador fue la solución recientemente preparada del Reactivo de Liebermann Burchard. Este reactivo permite la detección de triterpenos y

esteroides, esterole y saponinas por la aparición de manchas rojo oscuro, purpura y verde <sup>27</sup>.

### 2.5.3. Flavonoides

Para la detección de flavonoides se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus respectivas proporciones.

N-Hexano: Acetona

(8:2)

El reactivo revelador fue la solución etanólica de cloruro de aluminio al 1%. Este reactivo permite la detección de flavonoides por fluorescencia amarilla bajo la luz UV <sup>27</sup>.

### 2.5.4. Taninos

Para la detección de taninos se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus respectivas proporciones.

Acetato de etilo: Metanol

(8:2)

El reactivo revelador fue la solución etanólica de cloruro férrico al 1%. Este reactivo permite la detección de taninos y polifenoles por la aparición de manchas verdes, marrones y azules <sup>27</sup>.

### 2.5.5. Alcaloides

Para la detección de alcaloides se utilizó el siguiente sistema de disolventes y sus respectivas proporciones.

Cloroformo: Metanol

(9:1)

El reactivo revelador fue la solución del Reactivo de Dragendorff. Este reactivo permite la detección de alcaloides y compuestos nitrogenados por la aparición de manchas rojas a naranjas con fondo amarillo <sup>27</sup>.

Una vez obtenidas las bandas para todos los casos se midió el factor de retención mediante la ecuación (1).

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por un compuesto}}{\text{Distancia recorrida por la fase móvil}} \quad \text{Ecuación (1)}$$

## 2.6. Métodos para la elaboración de un gel farmacéutico

Los extractos fueron incorporados a un gel de carbopol, esta base de gel fue elaborado conforme el procedimiento normalizado de elaboración del gel base de carbopol la fórmula general es la siguiente:

### Fórmula general

Carbopol 940	1 %
Nipagín sódico	2 %
Agente humectante	c.s.p.
Trietanolamina	c.s.p. pH 7
Agua destilada	c.s.p.

### 2.6.1. Procedimiento general de elaboración

Se pesó las cantidades necesarias de nipagín sódico y carbopol 940, luego se midió el volumen de agua destilada requerido, en un vaso de precipitado se disolvió el nipagín sódico en el agua destilada, se dispersó el carbopol 940 en la solución acuosa por toda la superficie evitando la formación de grumos, se tapó el vaso y dejó reposar el tiempo suficiente para la formación del gel (~ 24 horas). Luego se homogenizó, se agregó trietanolamina gota a gota hasta ajustar el pH a 7 y controlándolo según procedimiento de medición de pH, se agitó evitando la incorporación de aire hasta obtener un gel uniforme, finalmente se agregó el extracto al gel logrando una mezcla homogénea.

## 2.7. Método para la evaluación antiinflamatoria

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria se realizaron una serie de procedimientos secuenciados, hasta la obtención de los resultados finales. A continuación, se describe cada uno de ellos.

### **2.7.1. Estandarización de los animales**

Los animales de experimentación que se utilizaron en número de 30 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 6 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.

### **2.7.2. Distribución aleatoria en grupos**

Los animales de experimentación tuvieron que conformar grupos experimentales, esta agrupación fue en forma aleatoria, para ello se identificaron cada uno de ellos mediante el marcado de su pelambre, una vez identificados se asignó en forma aleatorio cada grupo conformando los siguientes grupos experimentales:

- Grupo Gel Base: Este grupo fue de 5 animales de experimentación que en el presente estudio recibió un tratamiento con el gel base de carbopol.
- Grupo Extracto al 30%: Este grupo fue de 5 animales de experimentación que en el presente estudio recibió un tratamiento con el extracto al 30%.
- Grupo Extracto al 50%: Este grupo fue de 5 animales de experimentación que en el presente estudio recibió un tratamiento con el extracto al 50%.
- Grupo Gel con Extracto al 15%: Este grupo fue de 5 animales de experimentación que en el presente estudio recibió un tratamiento con el gel que fue preparado a partir del extracto al 30%.
- Grupo Gel con Extracto al 30%: Este grupo fue de 5 animales de experimentación que en el presente estudio recibió un tratamiento con el gel que fue preparado a partir del extracto al 50%.
- Grupo Diclofenaco al 1%: Este grupo fue de 5 animales de experimentación que en el presente estudio recibió un tratamiento con una especialidad farmacéutica que contenía diclofenaco al 1%.

### **2.7.3. 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 realizó en el pletismómetro digital.

#### **2.7.4. Fundamento**

El pletismómetro es un instrumento utilizado para determinar la variación de volumen de las extremidades de roedores, midiendo la variación de nivel de líquido al introducir la extremidad en un depósito. La prueba del Pletismómetro permite el seguimiento de la evolución del proceso inflamatorio inducido experimentalmente en la pata de roedores y así detectar las propiedades antiinflamatorias o anti edema de sustancias farmacológicas. Básicamente el transductor de volumen se compone de 2 depósitos de metacrilato interconectados (vasija volumétrica y sensora) y llenados con una solución conductora. La introducción de la pata del animal en la vasija volumétrica cambia el nivel de líquido y la conductividad entre dos electrodos de platino previamente introducidos en la vasija sensora. Este cambio de conductividad entre los dos electrodos genera una señal de salida indicando el valor del volumen desplazado y por consecuencia el volumen de la pata <sup>29</sup>.

#### **2.7.5. Procedimiento**

Tanto para la medición basal y experimentales se procedió preparar en un matraz de 1 litro una solución salina pura al 0.1%. Luego se añadió 16 gotas de Tritón como agente surfactante que permita romper la tensión superficial de la solución salina. Se agito para homogenizar lentamente evitando la formación de espuma seguidamente se procedió a medir.

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 3 ml.

#### **2.7.6. Inducción de inflamación**

La inflamación experimental fue mediante el método de edema inducido por la administración de carragenina 1% como agente flogógeno, este agente fue

administrado mediante inyección subcutánea en la aponeurosis plantar de carragenina <sup>29</sup>.

### **2.7.7. Fundamento**

La rata desarrolla fácilmente un edema local mediante la administración subcutánea de carragenina en la región sub-plantar de la pata posterior de la rata, gracias a los incrementos de volumen de la pata a diferentes tiempos y comparando los distintos grupos de tratamiento conseguimos conocer el grado de inhibición del edema en las ratas tratadas respecto a los controles hechos, que está relacionado con la acción antiinflamatoria. Es este un modelo ampliamente aceptado en investigación, tanto por su sensibilidad como porque sus resultados presentan una buena correlación con los obtenidos en clínica <sup>29</sup>.

Winter y col. (1962), con la técnica del pletismómetro introdujeron la carragenina como agente flogógeno para inducir el edema sub-plantar en rata. Estos autores desarrollaron este método en trabajos posteriores. En 1964, Niemegeers, Verbruggen y Janssen, analizaron el efecto inhibitorio de la inflamación de cierto número de drogas, con o sin efecto clínico antirreumático establecido. Empleando este modelo llegaron a la conclusión de que este ensayo era aceptable como valoración preliminar de la actividad antirreumática. La exposición de sucesos producidos en la inflamación provocada por carragenina, se describe a continuación. Veinte minutos después de la inyección sub-plantar de carragenina se aprecia la presencia del edema. Un examen histológico inicial del tejido inflamado no detecta cambios celulares respecto los tejidos no inyectados. A los 180 minutos después de la inyección no obstante, se observa un gran número de neutrófilos en el tejido edematoso y una intensa respuesta inflamatoria fagocítica. Este hecho permite considerar los primeros 180 minutos como la respuesta inflamatoria no fagocítica <sup>29</sup>.

### **2.7.8. Procedimiento**

Se preparó una solución de carragenina al 1 % utilizando como disolvente suero fisiológico estéril, se procedió a cargar una jeringa de tuberculina con 0.1 ml de la solución preparada de carragenina. Cada animal fue tomado por la cerviz, y se procedió a inyectar por vía subcutánea en la zona de la aponeurosis plantar, luego se retiró cada animal a su jaula. Luego de esta administración se realizó dos

mediciones experimentales a la 1 hora y media y 3 horas después, conforme al procedimiento descrito, registrando las lecturas pletismométricas.



Fig. N°7. Edema plantar en una rata inducida por carragenina.

#### 2.7.9. Administración de los tratamientos

Luego de la tercera hora de administrada la carragenina se tomaron los valores de aumento de volúmenes de las patitas, posteriormente se procedió a administrar los tratamientos consistentes en:

- Gel base
- Extracto al 30%
- Extracto al 50%
- Gel con extracto al 15%
- Gel con extracto al 30%
- Diclofenaco al 1%

Para el caso de los geles se administró untando cantidad suficiente de gel en la pata de la rata, para el caso de los extractos esos se colocaron en vasos pequeños, en donde se introdujo la pata del animal durante 20 segundos.

Luego de administrados los tratamientos se realizaron nuevas mediciones experimentales a las 1, 2 y 3 horas, conforme a los procedimientos descritos, registrando las lecturas pletismométricas.

## 2.8. Análisis de la información recolectada

La información recolectada a través del pletismometro en primer lugar fue convertida en porcentaje de inflamación.

Cada medición de los animales se expresaron en porcentaje en relación de la medición basal, este porcentaje es en ausencia de las sustancias a ensayar aplicando la siguiente formula:

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{V_f - V_i}{V_i} \times 100 \quad \text{Ecuación (2)}$$

Donde  $V_f$  es el volumen de la pata de cada rata medido después de la administración de la carragenina y  $V_i$  es el volumen inicial o basal de la rata medido antes de la inyección del agente antiinflamatorio.

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.

$$\% \text{ Reducción} = \frac{V_3 - V_{Ex}}{V_{Ex}} \times 100 \quad \text{Ecuación (3)}$$

Donde  $V_3$  es el volumen de la pata medida a la tercera hora luego de administrada la carragenina y  $V_{Ex}$  es el volumen experimental de la rata medido después de la inyección del agente antiinflamatorio y el tratamiento.

### 2.8.1. Estadística

#### 2.8.1.1. Promedio

La media, mejor conocida como media aritmética o promedio, es quizás de las medidas estadísticas de mayor uso. El cálculo y empleo de esta medida es simple. Sin embargo esto no excluye el hecho de que su cálculo sea muy

laborioso (no difícil) sobre todo en aquellos casos en que el número de elementos del conjunto de datos sea muy elevado <sup>30</sup>.

### 2.8.1.2. Análisis de Varianza

Este método desarrollado por R. A. Fisher, es fundamental para casi todas las aplicaciones de la Estadística. Una manera de abordar el Análisis de varianza es considerarlo como una forma de comprobar si dos o más medias muestrales pueden haberse obtenido de poblaciones con la misma media paramétrica respecto de una variable dada y Test de Tukey, Los datos fueron analizados con el ANOVA (análisis de varianza) en donde:

$P < 0.01$  indica diferencias altamente significativas

$P < 0.05$  indica diferencias significativas

$P > 0.05$  indica diferencias no significativas <sup>31</sup>.

### 2.8.1.3. Test de Tukey

El test HSD (Honestly – significant –difference) de Tukey es un test de comparaciones múltiples, permite comparar las medias de un factor después de haber rechazado la Hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA. Es por lo tanto, un test que trata de especificar, una Hipótesis alternativa genérica como la de cualquiera de los test ANOVA <sup>51</sup>.

### CAPITULO III

#### RESULTADOS Y DISCUSIONES

##### 1. DE LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

El extracto de *Grindelia glutinosa* o chiri-chiri se obtuvo mediante el método de extracción por soxhlet, este método fue desarrollado utilizando 15 gramos de droga para la obtención de un extracto al 30% y 30 gramos de droga para obtención de un extracto al 50%, y 200 ml de disolvente que fue el alcohol etílico.

Se consideró elaborar dos extractos de distinta concentración, uno de baja concentración o diluida y uno de alta concentración o menos diluida, de este modo se consiguió evaluar el extracto a dos potencias distintas y opuestas, para lograr estos dos diferentes extractos se concentró el disolvente en distintas proporciones. Los resultados de ello se presentan a continuación.

**Tabla N° 1: Concentraciones de los extractos de chiri-chiri**

<b>Droga (g)</b>	<b>Volumen inicial extracto (ml)</b>	<b>Volumen final extracto (ml)</b>	<b>Concentración extracto fluido</b>
15	186.5	50	30 %
30	184.3	60	50 %

FUENTE: Registros de investigación propios

Estos dos extractos fueron la materia activa para la evaluación de la actividad antiinflamatoria, sin embargo para la elaboración de geles y la evaluación fitoquímica preliminar solo se consideró al extracto más concentrado precisamente por su menor proporción de disolvente.

En la tabla 2 se describe la organolepsia para los dos extractos obtenidos de la *Grindelia glutinosa*, ambos eran muy parecidos, salvo por la intensidad de alguno de sus aspectos tal como se aprecia en dicha tabla.

**Tabla N° 2: Organolepsia para los extractos de chiri-chiri obtenidos**

Descripción	Extracto 30%	Extracto 50%
<b>Color del extracto</b>	Verde pino	Verde pino intenso
<b>Olor del extracto</b>	Característico a la planta y disolvente	Característico
<b>Aspecto</b>	Homogéneo (exento de turbideces o sedimentos)	Homogéneo (exento de turbideces o sedimentos)

FUENTE: Registros de investigación propios

## 2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

La cromatografía en capa fina fue realizada con el extracto más concentrado, es decir el que tenía una concentración del 50% como se menciona en el título anterior. Se procedió al corte de cada placa cromatográfica con unas dimensiones de 2 cm x 10 cm, se delimitó generando la línea de sembrado y la línea de frente del disolvente. Cuando las fases móviles estuvieron depositadas en el recipiente para el desarrollo de las placas, se colocaron estas últimas y se procedió con el análisis cromatográfico.

### 2.1. Identificación General

La identificación general se realizó con el reactivo de ácido sulfúrico y una solución alcohólica de vainillina. La fase móvil utilizado fue n-hexano-acetona (8:2). En los resultados según el cromatofolio de la figura N°8, se observan manchas de color morado y verdes. Las manchas verdes y de color morado son características para compuestos de tipo terpenos. En el trabajo de Alfaro Meneses, Yolanda y Vargas Payahuanca, Rebeca Soledad evaluaron la presencia de metabolitos secundarios en *Baccharis genistelloides* L. “KIMSAK’UCHU” Y *Grindelia boliviana* “CHIRI-CHIRI” en la fase móvil: acetato de etilo -metanol - agua (97:20:10) y como revelador: reactivo de vainillina – ácido sulfúrico se observó color marrón, morado, verde, azul y amarillo que son parecidos a nuestros resultados Dando compuestos de tipo lactonas sesquiterpénicas ,terpenos y flavonoides <sup>32</sup>.

Por otro lado encontramos en el trabajo de La Torre Villalba, Lisseth Paola quien evaluó la presencia de metabolitos secundarios en *Zingiber officinale* Roscoe “JENGIBRE” en la fase móvil: n-hexano-acetona (8:2) y como revelador: Ácido sulfúrico al 10% en etanol, se observó color verde oscuro y púrpura que son parecidos a nuestros resultados dando compuesto de tipo terpeno <sup>33</sup>.

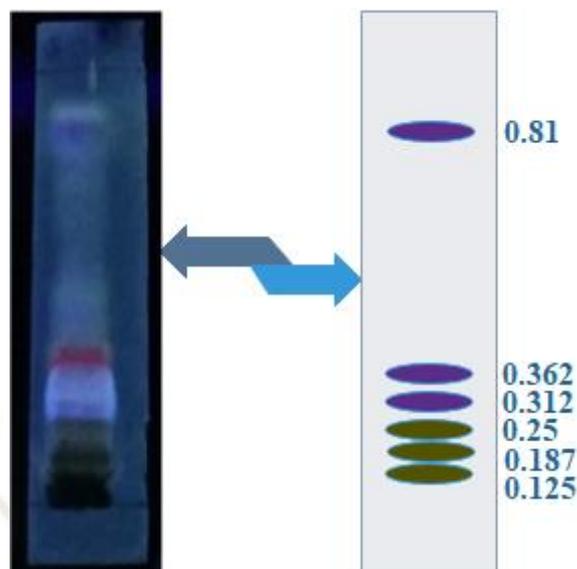


Fig. N°8. Placa cromatográfica del extracto etanólico de las hojas de *Grindelia glutinosa* para la identificación general.

### 2.1.1. Terpenos

La identificación de compuestos de tipo terpenos se realizó con el reactivo de Liebermann Burchard. La fase móvil utilizado para este análisis fue tolueno-acetato de etilo (9:1). En los resultados según el cromatofolio de la figura N°9, se observan manchas de color rojo oscuro, púrpura y verdes. Las manchas rojas oscuras son características para saponinas, la púrpura para esteroides y las verdes triterpenos<sup>34</sup>.

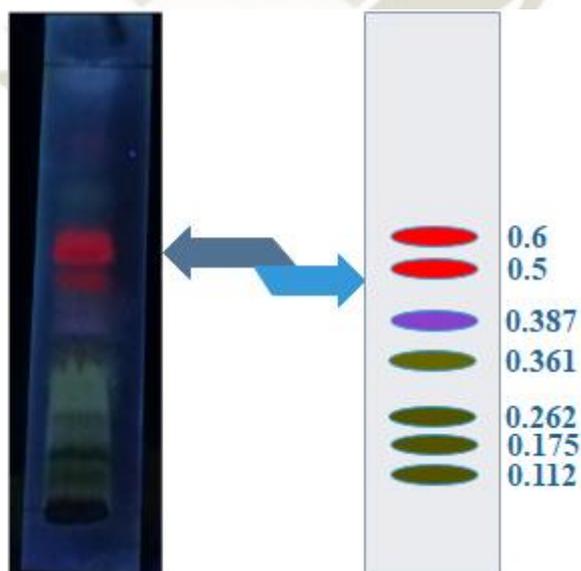


Fig. N°9. Placa cromatográfica del extracto etanólico de las hojas de *Grindelia glutinosa* para la identificación de terpenos.

### 2.1.2. Flavonoides

La identificación de compuestos de tipo flavonoides se realizó con una solución etanólica de cloruro de aluminio al 1%. La fase móvil utilizado para este análisis fue n-hexano-acetona (8:2). En los resultados según el cromatofolio de la figura N°10, se observan manchas con fluorescencia amarilla. Estas manchas son características para flavonoides <sup>34,35</sup>.

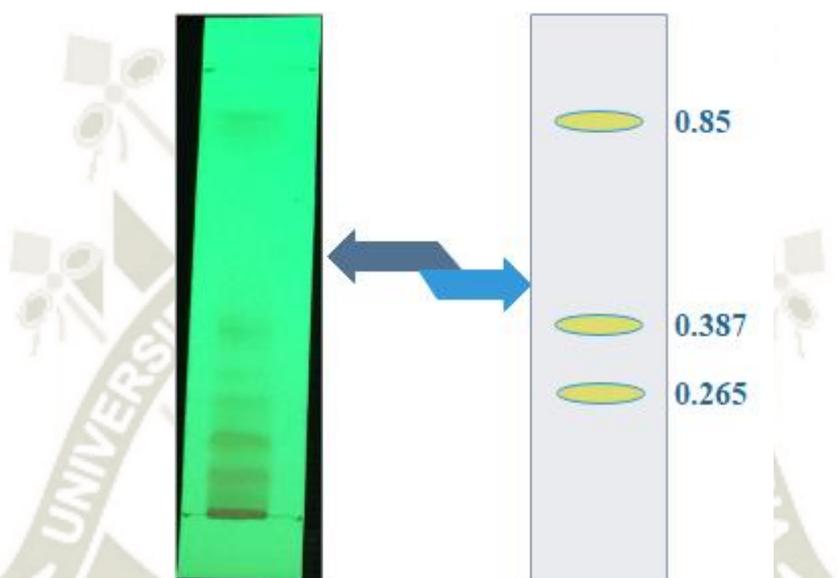


Fig. N°10. Placa cromatográfica del extracto etanólico de las hojas de *Grindelia glutinosa* para la identificación de flavonoides.

### 2.1.3. Taninos

La identificación de compuestos de tipo taninos se realizó con el reactivo de cloruro férrico 1%. La fase móvil para este análisis fue acetato de etilo-metanol (8:2). En los resultados según el cromatofolio de la figura N° 11, se observan manchas de color verde, marrón y azul. Las manchas verdes, marrón y azul son características para taninos. En el trabajo de Lajo Flores, Robert Jimmy evaluó la presencia de metabolitos secundarios en *curcuma longa Linn* (PALILLO), en la fase móvil: acetato de etilo-metanol (8:2) y como revelador: cloruro férrico al 5% se observó color azul que son parecidos a nuestros resultados dando compuestos del tipo tanino <sup>34,36</sup>.

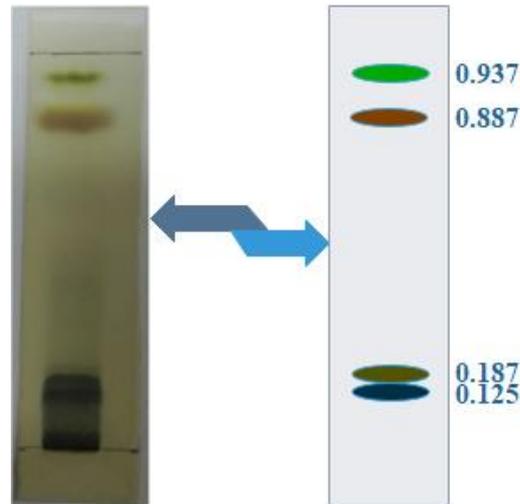


Fig. N°11. Placa cromatográfica del extracto etanólico de las hojas de *Grindelia glutinosa* para la identificación de taninos.

#### 2.1.4. Alcaloides

La identificación de compuestos de tipo alcaloides se realizó con el reactivo de Dragendorff. La fase móvil utilizado para este análisis fue cloroformo-metanol (9:1). En los resultados según el cromatofolio de la figura N° 12, se observan manchas de color naranja. Las manchas naranjas son características para alcaloides <sup>34</sup>.

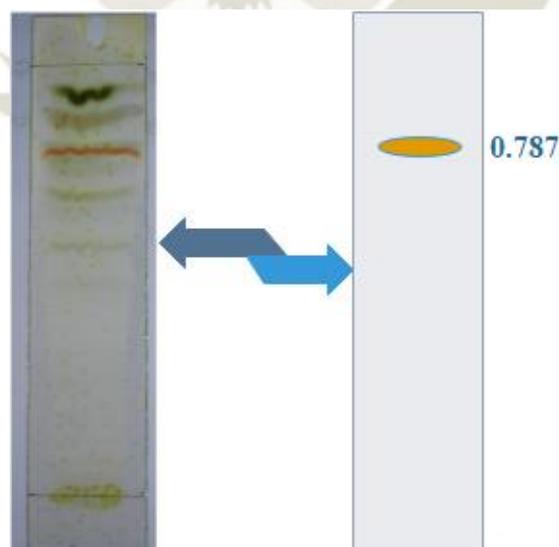


Fig. N°12. Placa cromatográfica del extracto etanólico de las hojas de *Grindelia glutinosa* para la identificación de alcaloides.

### 3. ELABORACION DE LOS GELES CON EXTRACTO DE CHIRI-CHIRI

La elaboración de geles con extractos de chiri-chiri se realizó reformulando el gel de carbopol que se describió en el capítulo anterior, con la finalidad de obtener dos geles a dos concentraciones distintas del extracto de *Grindelia glutinosa* o chiri-chiri. Las fórmulas desarrolladas son:

#### **Gel con extracto de *Grindelia glutinosa* al 15%**

Extracto fluido	30 g
Carbopol 940	1.3 g
Tween 20	7.5 g
Propilenglicol	5 g
Nipagín sódico	1 g
Trietanolamina	c.s.p. pH 7.
Agua destilada	c.s.p. 100 g

#### **Gel con extracto de *Grindelia glutinosa* al 30%**

Extracto fluido	60 g
Carbopol 940	1.6 g
Tween 20	15 g
Propilenglicol	5 g
Nipagín sódico	1 g
Trietanolamina	c.s.p. pH 7.
Agua destilada	c.s.p. 100 g

Para el procedimiento de elaboración específico del gel en primer lugar se midió la cantidad de agua destilada, seguidamente se incorporó el nipagín sódico, y luego el carbopol 940 poco a poco siempre agitando. Esta mezcla se dejó en reposo durante 24 horas, para la disolución completa del carbopol 940. Posteriormente se agitó para completar la disolución del carbopol y homogenización del sistema, se continúa con la adición de la trietanolamina, añadiendo gota a gota, luego de cada gota se agitó, para mezclar totalmente, este añadido de trietanolamina se realizó hasta alcanzar el pH de 7.

Luego de ello se disolvió en recipiente aparte el extracto *Grindelia glutinosa* o chiri-chiri junto con el tween 20, después se agregó el propilenglicol, se agito para completar la homogenización, esta mezcla se añadió poco a poco y con agitación permanente al gel formado, se comprobó el gramaje total del preparado.



Fig. N°13 Gel con extracto de las hojas de *Grindelia glutinosa*.

#### 4. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO

Mediante los seis grupos formados, los mismos que se describieron en el capítulo anterior se evaluó el efecto antiinflamatorio. Se siguió el procedimiento descrito y una vez que las patas de los animales se encontraban edematizadas se procedió con las lecturas de los volúmenes experimentales mediante el pletismómetro digital

Las lecturas tomadas sirvieron tanto para el cálculo del porcentaje de inflamación y el porcentaje de reducción.

Las evaluaciones realizadas fueron:

- a) Volumen basal
- b) Volumen de inflamación a las 3 horas de aplicado la carragenina
- c) Volumen de inflamación después de 1, 2 y 3 horas de aplicados los tratamientos.

Los datos fueron analizados con el ANOVA (análisis de varianza) en donde:

$P < 0.01$  indica diferencias altamente significativas

$P < 0.05$  indica diferencias significativas

$P > 0.05$  indica diferencias no significativas

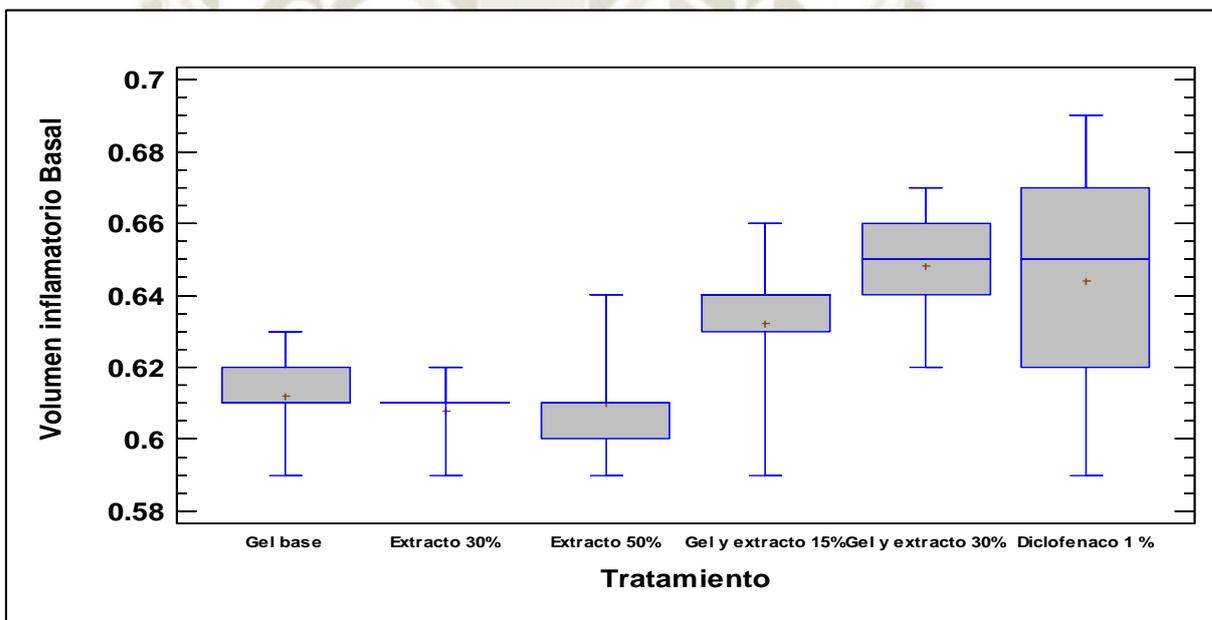
Se aplico el Test de Tukey para seleccionar el mejor tratamiento

**TABLA N° 3: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA VALORES BASALES POR TRATAMIENTO.**

A.Tratamiento	Casos	Media	Desviacion estandar	Grupos Homogéneos
G1:Gel base	5	0.562	0.036	A
G2:Extracto 30%	5	0.608	0.05	A
G3:Extracto 50%	5	0.61	0.019	A
G6:Diclofenaco 1 %	5	0.632	0.026	A
G4:Gel con extracto 15%	5	0.644	0.039	A
G5:Gel con extracto 30%	5	0.648	0.019	A

**FUENTE:** Registros de investigación propios

**GRÁFICO N°1: VALORES BASALES DE VOLUMEN INFLAMATORIO EN LOS DIFERENTES GRUPOS**



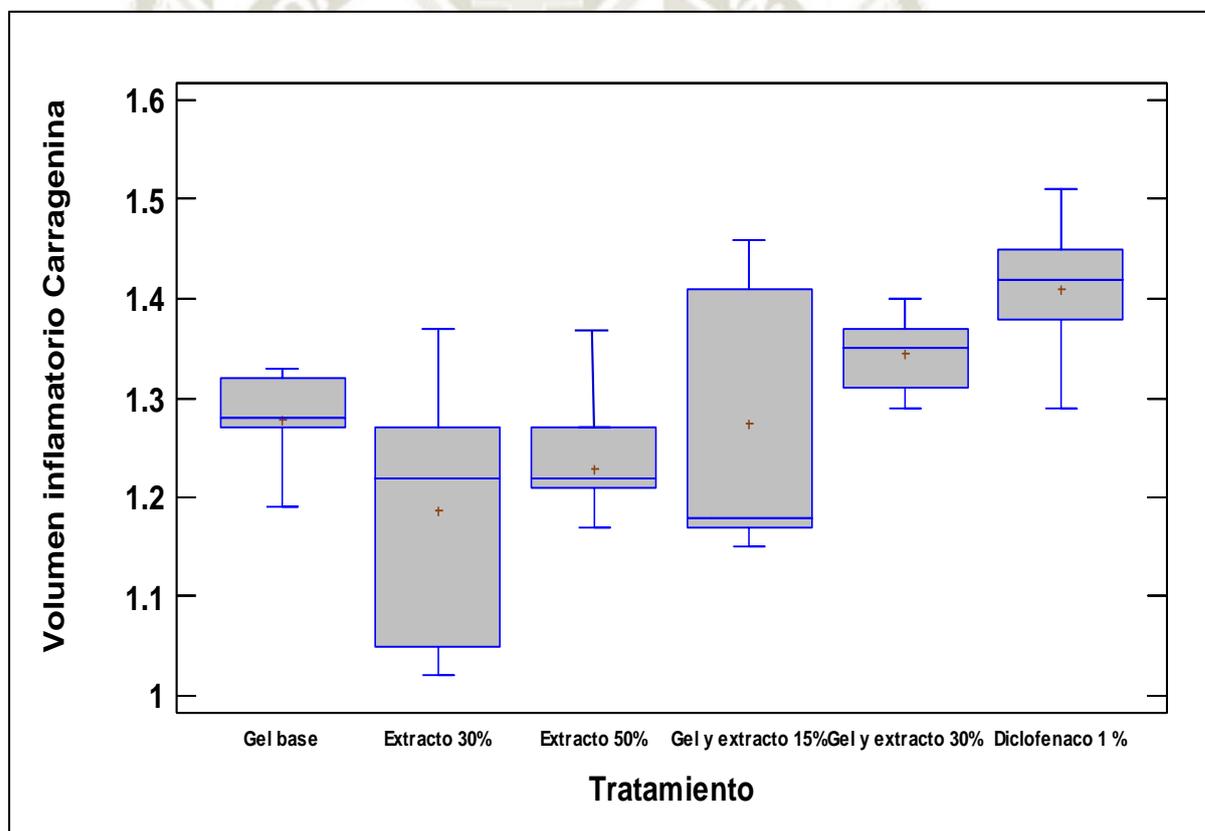
En la tabla N° 3 de acuerdo al grafico N° 1 para la evaluación de los valores basales que se muestran en el ANOVA demuestran las diferencias no significativas ( $p > 0.05$ ) Anexo 1 (Tabla N°1), lo que implica que se inicia un experimento con igualdad de Condiciones. El Test de Tukey muestra que los valores de volumen basal fluctúan entre promedios de 0.562 para el grupo gel base y 0.648 para el grupo gel con extracto al 30%

**TABLA N° 4: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA VOLUMEN INFLAMATORIO CON CARRAGENINA POR TRATAMIENTO.**

A.Tratamiento	Casos	Media	Desviacion estandar	Grupos Homogéneos
G2:Extracto 30%	5	1.21	0.038	A
G3:Extracto 50%	5	1.228	0.043	A
G4:Gel con extracto 15%	5	1.258	0.044	AB
G1:Gel base	5	1.278	0.055	ABC
G5:Gel con extracto 30%	5	1.344	0.044	BC
G6:Diclofenaco 1%	5	1.364	0.042	C

**FUENTE:** Registros de investigación propios

**GRAFICO N°2: VOLUMEN INFLAMATORIO CON CARRAGENINA EN LOS DIFERENTES GRUPOS**



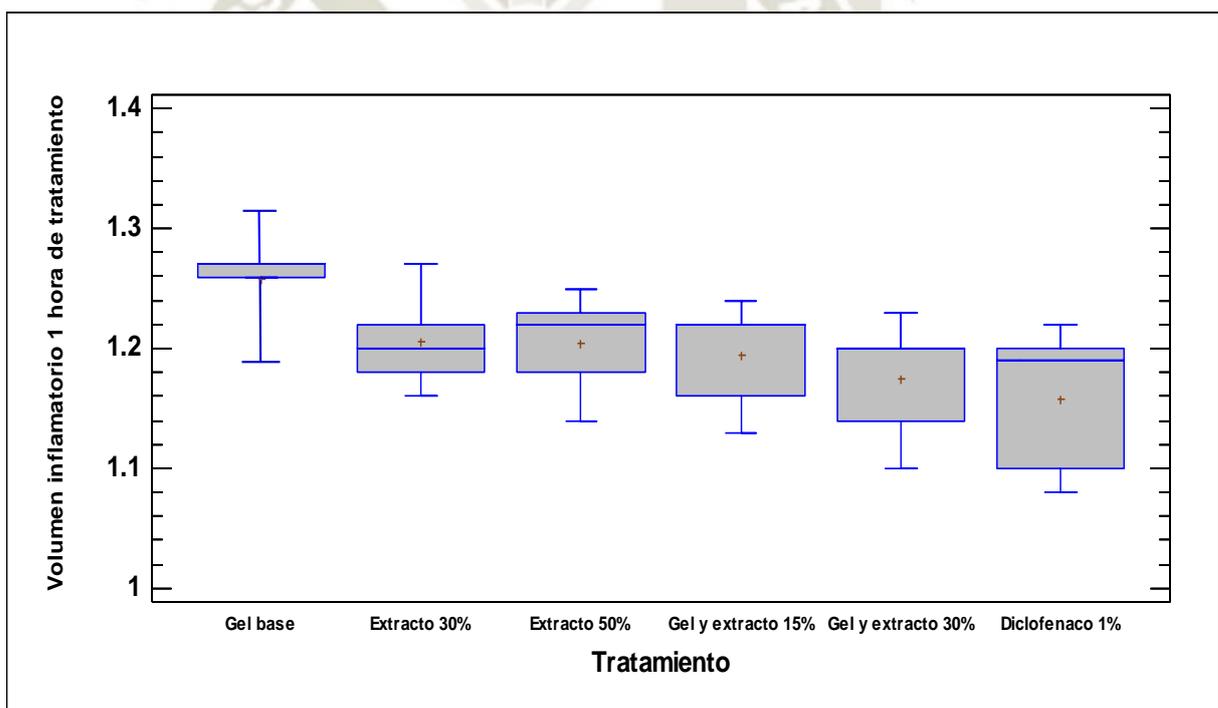
En la tabla N° 4 de acuerdo al grafico N° 2 después de provocar inflamación con carragenina se puede observar que las diferencias entre los grupos es altamente significativa ( $p < 0.01$ ) Anexo 1 (Tabla N°2). Según el Test de Tukey se evidencia un incremento en los valores del volumen de inflamación con promedios entre 1,21 en el grupo extracto 30% hasta 1.364 en el grupo Diclofenaco 1% es decir se duplican los valores respecto al basal.

**TABLA N° 5: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA 1 HORA DESPUES DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO**

A.Tratamiento	Casos	Media	Desviacion estandar	Grupos Homogéneos
G6:Diclofenaco 1%	5	1.158	0.063	A
G5:Gel con extracto 30%	5	1.174	0.053	AB
G4:Gel con extracto 15%	5	1.194	0.047	AB
G3:Extracto 50%	5	1.204	0.044	AB
G2:Extracto 30%	5	1.206	0.042	AB
G1:Gel base	5	1.258	0.048	B

**FUENTE:** Registros de investigación propios

**GRAFICO N°3: VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DESPUÉS DE UNA HORA DE APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS**



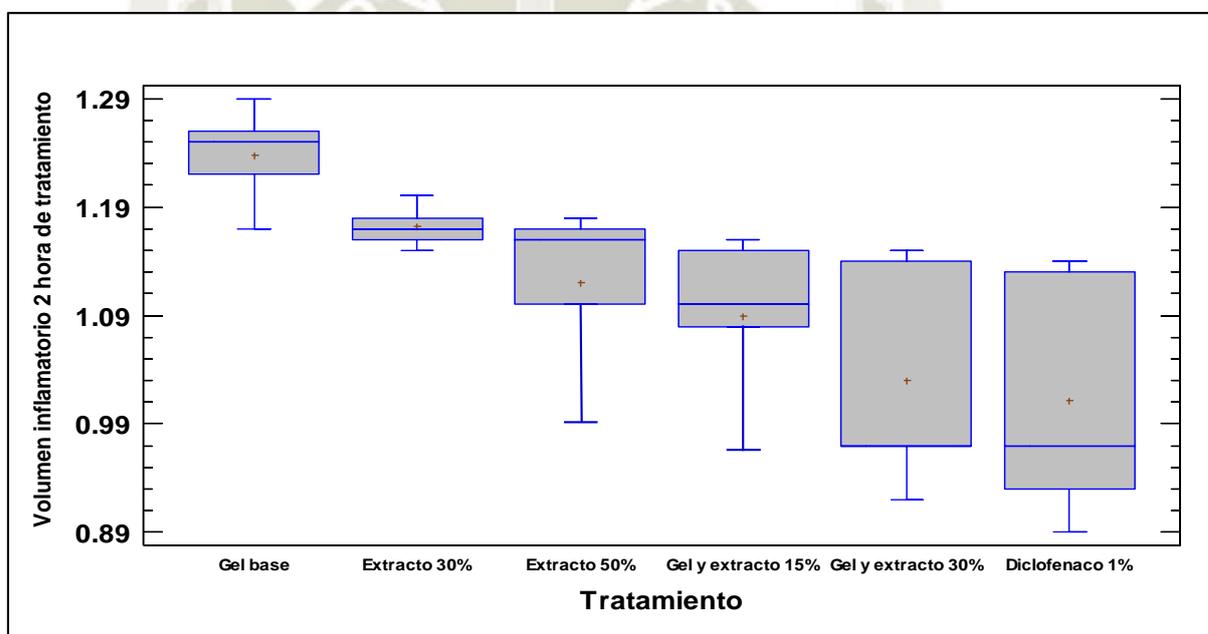
En la tabla N° 5 de acuerdo al grafico N° 3 que es la aplicación a la hora a través del ANOVA el volumen de inflamación es menor entre los grupos de estudio y esto es significativo ( $p < 0.05$ ) Anexo 1 (Tabla N°3). El Test de Tukey muestra que en los grupos Gel base, extracto 30%, Extracto 50% y gel con extracto 15% se producen los más altos promedios de volumen de inflamación, en comparación con el Diclofenaco 1% y gel con extracto al 30% se produce los promedios más bajos con 1.158 y 1.174 respectivamente.

**TABLA N° 6: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA 2 HORAS DESPUES DE APLICADOS LOS TRATAMIENTOS**

A.Tratamiento	Casos	Media	Desviacion estandar	Grupos Homogéneos
G6:Diclofenaco 1%	5	1.012	0.116	A
G5:Gel con extracto 30%	5	1.03	0.107	AB
G4:Gel con extracto 15%	5	1.09	0.08	ABC
G3:Extracto 50%	5	1.12	0.079	ABC
G2:Extracto 30%	5	1.172	0.019	BC
G1:Gel base	5	1.238	0.045	C

**FUENTE: Registros de investigación propios**

**GRAFICO N°4: VOLUMEN DE INFLAMACIÓN DESPUÉS DE DOS HORAS DE APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS**



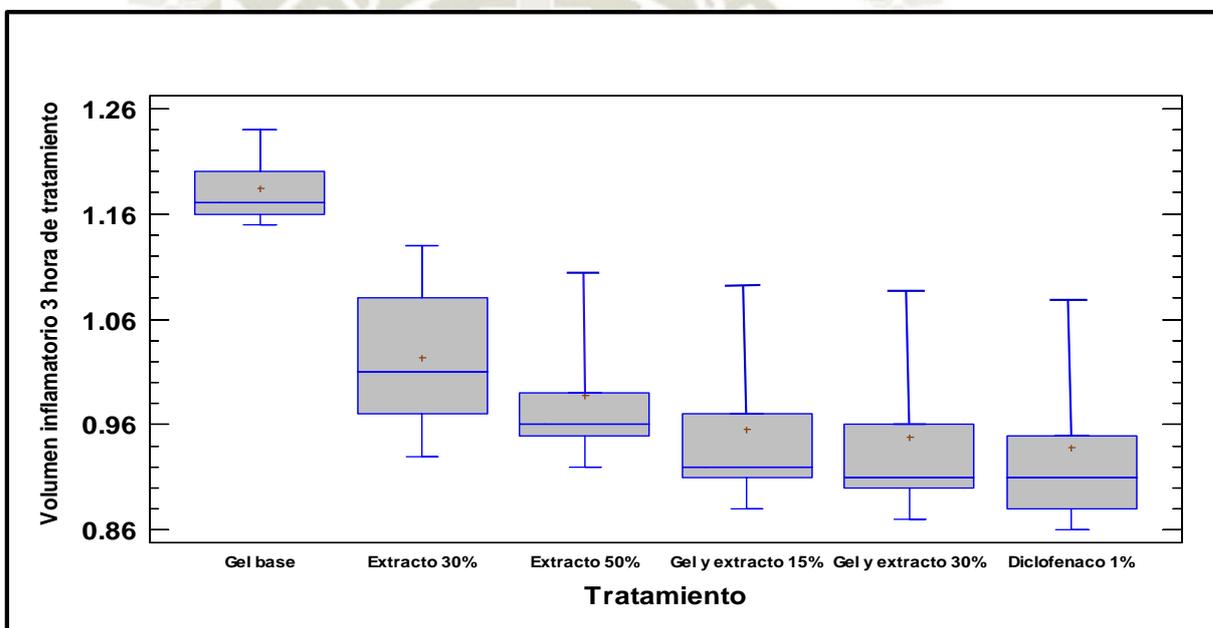
En la tabla N° 6 de acuerdo al grafico N° 4 que es la aplicación a las dos horas a través del ANOVA la diferencia del volumen de inflamación entre los grupos de estudio es altamente significativo ( $p < 0.01$ ) Anexo 1 (Tabla N°4). El Test de Tukey muestra que los grupos con menores promedios son Diclofenaco 1%, Gel con extracto 30% con promedios de 1.012 y 1.03 respectivamente en cambio en los grupos gel con extracto al 15%, extracto al 50%, extracto al 30 % y Gel base los promedios son más altos con valores de 1.09, 1.12, 1.172 y 1.238 respectivamente.

**TABLA N° 7: PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DE TUKEY PARA 3 HORAS DESPUES DE APLICADOS LOS DE TRATAMIENTOS**

A.Tratamiento	Casos	Media	Desviacion estandar	Grupos Homogéneos
G6:Diclofenaco 1 %	5	0.938	0.092	A
G5:Gel con extracto 30%	5	0.948	0.091	A
G4:Gel con extracto 15%	5	0.956	0.087	A
G3:Extracto 50%	5	0.988	0.078	A
G2:Extracto 30%	5	1.024	0.081	A
G1:Gel base	5	1.184	0.036	B

**FUENTE: Registros de investigación propios**

**GRAFICO N°5: EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS A LAS 3 HORAS DE APLICACIÓN SOBRE VOLUMEN INFLAMATORIO**



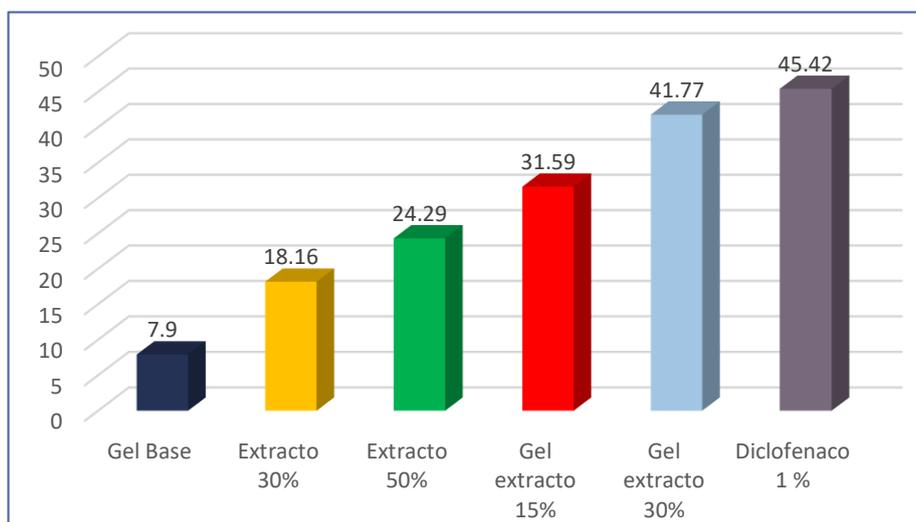
En la tabla N° 7 de acuerdo al grafico N° 5 que es la aplicación a la tercera hora a través del ANOVA el volumen de inflamación entre los grupos de estudio es altamente significativo ( $p < 0.01$ ) Anexo 1 (Tabla N°5). El Test de Tukey se evidencia que existen un grupo conformado por el diclofenaco 1% y Gel con extracto al 30% con promedios más bajos de volumen de inflamación y cuyos valores son 0.938 y 0.948 respectivamente, los otros grupos están conformados por los tratamientos gel con extracto al 15%, extracto 50% y extracto 30% con promedios de 0.956, 0.988 y 1.024 respectivamente y el otro grupo con volumen de inflamación más alto es el Gel base que alcanzo un promedio de 1.184 el mismo que muestra diferencias con los demás tratamientos.

**TABLA N° 8: PORCENTAJE DE DISMINUCIÓN EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS**

Grupo	Porcentaje de disminucion a la 3 hora
Gel Base	7.9
Extracto 30%	18.16
Extracto 50%	24.29
Gel extracto 15%	31.59
Gel extracto 30%	41.77
Diclofenaco 1 %	45.42

**FUENTE: Registros de investigación propios**

**GRAFICO N°6 PORCENTAJE DE DISMINUCION DEL VOLUMEN INFLAMATORIO**



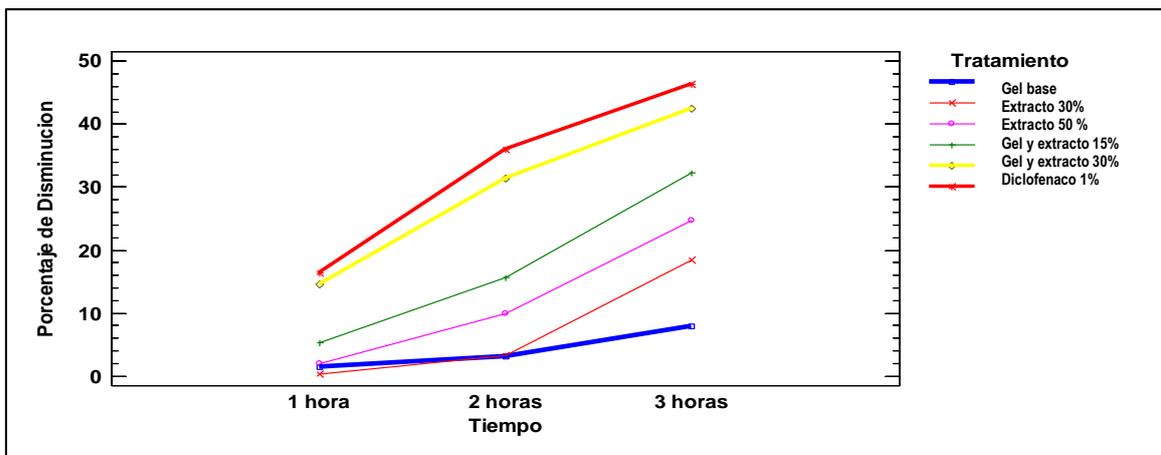
**FUENTE: Registros de investigación propios**

En el grafico N°6 se puede observar que en el gel base se ha obtenido 7.9% que resulta del efecto fisiológico del organismo, produciendo un porcentaje de desinflamación a la 3ra hora, luego podemos observar, el extracto del 30% un porcentaje de disminución de 18.16 y el extracto al 50% un porcentaje de disminución de 24.29, lo cual indica una diferencia, ya que a mayor concentración mayor probabilidad de contar con el efecto de los metabolitos secundarios, también podemos verificar con relación a los geles al 15 y 30% con un porcentaje de dismicion de 31.59 y 41.77 respectivamente presentan mayor efecto, debido a la forma farmacéutica que permite que los metabolitos secundarios puedan penetrar con mayor facilidad comparado con el diclofenaco 1% con un porcentaje de dismicion de 45.42, que es un principio activo puro.

La *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) comparado con otros estudios como la *Grindelia boliviana Rusby* (chiri-chiri) donde el porcentaje de reducción de inflamación de dicha planta fue 38%, se puede observar que la *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) tiene un mayor efecto antiinflamatorio de 41.77% comparado con la *Grindelia boliviana Rusby* (chiri-chiri).

- Según, Cervantes J, Berrios Y. (2015) acerca de la actividad cicatrizante de *Grindelia boliviana* (chiri-chiri), en las preparaciones en aceite esencial, extracto alcohólico, y extracto acuoso, llegaron a la conclusión que el extracto alcohólico tuvo menor tiempo de cicatrización y comparado con nuestro trabajo de investigación el gel al 30% de extracto etanolico tuvo el mejor efecto antiinflamatorio <sup>2</sup>.
- En la investigación de Alfaro Meneses, Yolanda y Vargas Payehuanca, Rebeca Soledad, se resume el análisis Test de Tukey, Análisis de varianza, para hacer comparaciones múltiples y ver diferencias específicas grupo vs grupo, se observa que el grupo con mayor porcentaje de disminución (o de desinflamación) respecto al volumen máximo de inflamación corresponde al grupo tratado con gel de diclofenaco al 1%, por lo que se concluye que el gel con extracto fluido de *Grindelia boliviana Rusby* al 10% y con extracto fluido de *Baccharis Genistelloides L.* al 30%, Asociación 1, fue el que tuvo mayor porcentaje de disminución con 53.11 en comparación con nuestra investigación en forma aislada donde el gel con extracto al 30% tuvo un porcentaje de disminución de 41.77 <sup>3</sup>.
- Según Cárdenas Tenorio, Javier Jesús (2014) también se evaluó el efecto antiinflamatorio en infusión acuosa encontrando una disminución o porcentaje de reducción de 38% en comparación con nuestra investigación que demuestra que el gel con extracto etanolico al 30% tuvo mayor porcentaje de reducción con 41.77% <sup>4</sup>.

**GRÁFICO N°7: CURVA DE RESPUESTA POR EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS.**



En el gráfico N°7 muestra el comportamiento de la curva de respuesta de cada uno de los tratamientos en los diferentes tiempos de evaluación después de aplicados. Se aprecia contundentemente que con el diclofenaco 1% y el tratamiento gel con extracto al 30% se producen la mejor respuesta en la disminución de la inflamación, siendo esta respuesta mejor a los otros tratamientos. Manteniéndose este comportamiento a las dos y tres horas después de ser aplicados, estos tratamientos superan a los demás, siendo por lo tanto las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

## CONCLUSIONES

### Primera

Se obtuvo dos extractos de las hojas de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri” mediante el método de extracción por Soxhlet, estos dos extractos tuvieron las siguientes concentraciones al 30% y 50%.

### Segunda

Se identificó los principales grupos de metabolitos secundarios que se encontraban en el extracto de las hojas de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri” mediante el método de cromatografía en capa fina, detectando la presencia de terpenos, esteroides, saponinas, triterpenos, flavonoides, taninos y alcaloides.

### Tercera

Se elaboró dos geles con el extracto de las hojas de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri”, usando como base el gel de carbopol, estos geles fueron uno al 15% y otro al 30%.

### Cuarta

Se evaluó el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y del gel de las hojas de *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) mediante el método de inducción de edema inflamatorio con carragenina.

### Quinta

Se comparó el efecto antiinflamatorio tópico del extracto y gel de las hojas de *Grindelia glutinosa* (chiri-chiri) con gel diclofenaco al 1%, el estudio estadístico de análisis de Varianza y la Prueba de Múltiples Rangos, determinó que el grupo tratado con un gel con extracto de chiri-chiri al 30% es el grupo de mayor eficacia con 41.77%, en comparación con el diclofenaco 1% de 45.42%.

## SUGERENCIAS

### Primera

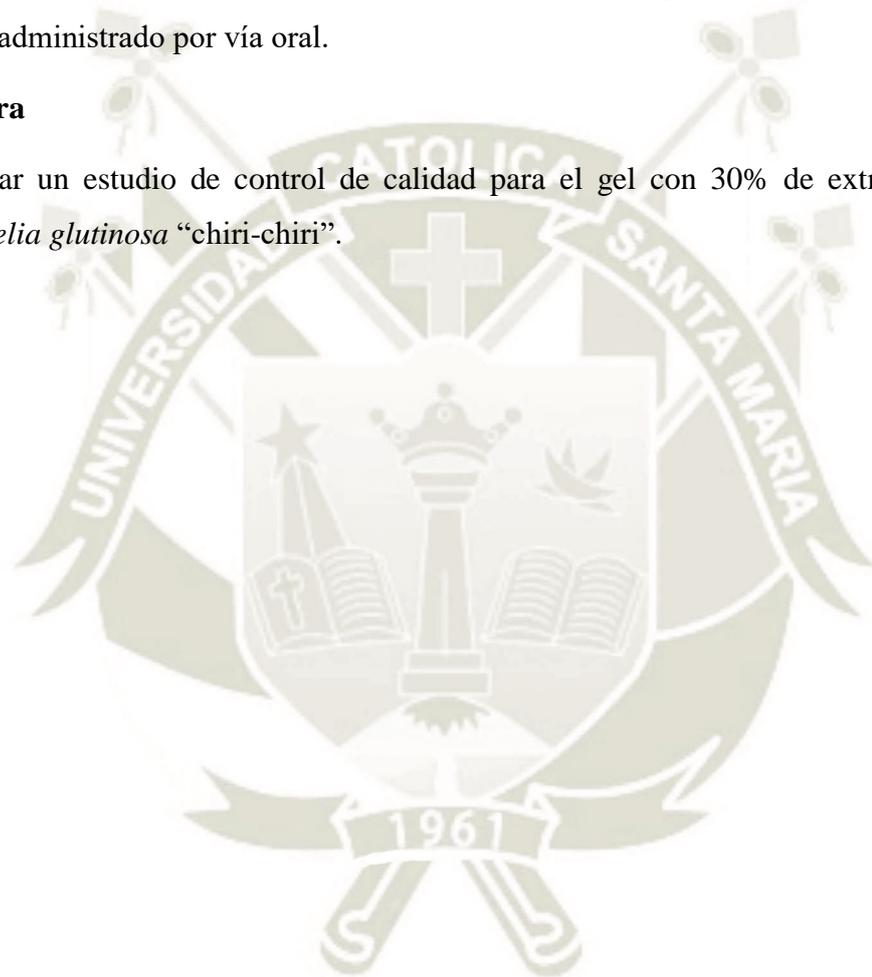
Realizar un estudio para determinar la tolerancia cutánea para la aplicación tópica del gel con extracto al 30% de hojas de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri”.

### Segunda

Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto de las hojas de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri” administrado por vía oral.

### Tercera

Realizar un estudio de control de calidad para el gel con 30% de extracto de hoja de *Grindelia glutinosa* “chiri-chiri”.



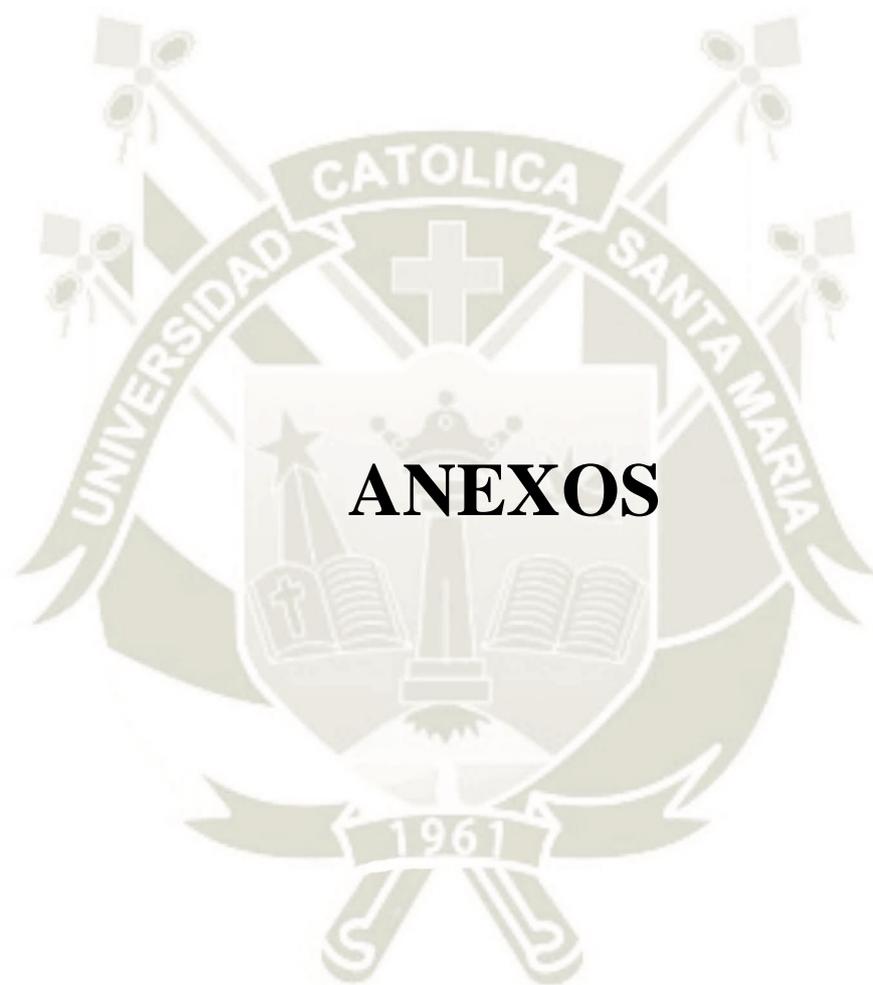
## BIBLIOGRAFÍA

1. Cuppett; K. Medicina General Aplicada al deporte. Primera Edición. España: Ed. Elsevier Mosby; 2007.
2. Cervantes J, Berrios Y. Actividad Cicatrizante de *grindelia boliviana* (chiri-chiri). Universidad nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna. 2015.
3. Alfaro- Meneses Y, Vargas-Payehuanca R. Evaluación de la actividad antiinflamatoria topica de los extractos en gel de *Baccharis genistelloides* L. “kimsak uchu” Y *Grindelia boliviana* “chiri-chiri” [Tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2018.
4. Instituto De Investigación de La Facultad de Ciencias De La Salud. Acción analgésica, antiinflamatoria de la infusión acuosa de *Grindelia boliviana rusby* “chiri-chiri” en ratones albinos 2014. Callao.
5. Quispe-Anquise D. Vegetación de las Lomas en la Provincia de Islay, Arequipa, 2017. [Tesis. Tesis para optar el título profesional de Biólogo]. Universidad Nacional de San Agustín; 2017.
6. Bravo D. Farmacognosia. Primera Edición. España: Ed. Elsevier; 2003.
7. Bruneton J. Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. Segunda Edición. Ed. Acribia; S.A. 2001.
8. Sotta A. Plantas Medicinales y Aromáticas de la Región Arequipa. Primera Edición. Perú: Ed. CORDAID; 2000.
9. Rubin R, Strayer D. Patología Fundamentos clinicopatológicos en medicina. Sexta Edición. España: Ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
10. Farreras R. Medicina Interna. Decima tercera Edición. Ed. Elsevier; 2003.
11. Mattson P. Fundamentos de Fisiopatología. Tercera Edición. España: Ed. Lippincott willins; 2013.
12. Guyton A. Tebook Of Medical Physiology. Decima primera Edición. Ed. Elsevier; 2006.
13. C.R. Compendio De Medicina Interna, Segunda edición .2002. Ed. Harcourt; S.A.

14. Stanley L, Robbins Ramzi S, Cotran vina y kumar. Patología Estructural y Funcional. Quinta Edición. España: Ed. Interamericana;1995.
15. Huanqui G. Inmunología Básica. Tercera Edición. Arequipa: 2012.
16. Rodes T. Medicina Interna. Ed. Masson; SA. España: 1997.
17. Rubin E, Farber J. Patología Estructural y Funcional. Tercera Edición. México: Ed. Panamericana; 1995.
18. Robbins Stanley L, y Colaboradores. Patología Estructural y Funcional. Quinta Edición. Madrid: Ed. Mc Graw Hill Interamericano; 1996.
19. Cirion G. Anatomía Patológica Temas para citohistopatología. Primera Edición. Cuba: Ed. Ciencias Médicas; 2011.
20. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Decima segunda Edición. México: Ed. McGraw-Hill Interamericana; 2012.
21. Harvey R. Farmacología. Quinta Edición. España: Ed. Lippincott Williams Wilkins; 2014.
22. Kalant H, Roschlau W. Principios Basicos de Farmacologia Médica. Sexta Edición. México: Editorial Oxford University Press; 2002.
23. Katzung G. Farmacología Básica y Clínica. Décima tercera Edición. México: Ed. McGraw Hill Interamericana; 2016.
24. Alvarado J. Apuntes de Farmacología. Tercera Edición. Perú: Ed. Apuntes Médicos del Perú; 2008.
25. Tripathi K.D. Farmacología en Odontología Fundamentos. Primera Edición. México: Ed. Médica Panamericana.S.A.; 2010.
26. Kasture A, Mahadik K,Wadoker S, More H. Pharmaceutical Analysis Volume I. Tercera Edition. Mumbai: Ed. Nirali Prakashan; 2008.
27. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio De Productos Naturales. 1ª Edición. 1988. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.
28. Luque de castro MD, Priego F. Soxhlet extraction: past and present panacea Chromatogr. Ed. Elsevier B.V.2010:1217 (16):2383-9.

29. Chisi- Chavez K, Flores -Cordova,I. Efecto antiinflamatorio de las combinaciones sinérgicas de la cúrcuma (*Curcuma longa*) extracto, pimienta (*Piper nigrum*), yema de huevo; en la inflamación aguda sub plantar en ratas. [Tesis para optar el título profesional de Nutricionista]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín; 2017.
30. Pasto D, Carl J. Fundamentos Determinación de Estructuras Orgánicas. Primera Edición. España: Ed. Reverté; S.A. 2003.
31. Serrano G. Introducción al Análisis de Datos Experimentales Tratamiento de datos en Bioensayos. Primera Edición. España: Ed. Universidad Jaume; 2003.
32. González de Buitrago J. Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico. Ed. Tercera izione; 2010: 197- 210.
33. Stevens A, Lowe J, Scott I. Patología Clínica. Tercera Edición. México: Ed. El Manual Moderno S.A.; 2011.
34. Rowe R, Sheskey P, Owen S. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Quinta Edición. Ed. Pharmaceutical Press; 2006.
35. Bladt, S. Plant Drug Análisis. A Thin Layer Cromatography Atlas. 1996.
36. Pawar H, Karde M, Mundle N, Jadhav P, Mehra K. Phytochemical Evaluation and Curcumin Content Determination of Turmeric Rhizomes Collected from Bhandara District of Maharashtra (India). Med Chem (Los Angeles). 2014: 588–91.
37. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Ed. Omega; 2000.
38. Vila Jato J. Tecnología Farmacéutica. Madrid: Ed. Síntesis S.A.; 2001. p. 25-54.
39. Núñez-Carlos E. Extracciones con equipo Soxhlet. . [Internet].[acceso gosto 2007] . Disponible en:[http:// www.cenunez.com.ar](http://www.cenunez.com.ar)
40. Pasto J, Johnson C. Determinación de estructuras orgánicas. In. Barcelona. Ed. Reverte; 2003: 26-38.
41. Lamarque A, Zygadlo J, Labuckas D, López L, Torres M, Maestri D. Fundamentos Teóricos-Prácticos de Química Orgánica. 2008:41-53.
42. Casado E, Duran P, Miro T, Paredes de la Sal A. Operaciones básicas de laboratorio. Madrid: 2012: 165-185.

43. Heftmann, E. Chromatography Fundamentals and Applications of chromatography and related differential migration methods, Elsevier Science Publishers. Quinta edición EUA: 1992: 2-14.
44. Hernández Herrero G, Moreno Gonzáles A, Zaragozá F, Porras A. Tratado de medicina farmacéutica. Madrid: Ed. Médica panamericana; 2011: 103 - 121.
45. Abbas AB, Lichtman AH. Basic Immunology. Functions and disorders of the immune system. Third edition. Ed. Elsevier; 2009.
46. Goldsby R. Inmunología. Quinta edición. Ed. Mc Graw Hill; 7.
47. Broide D. Immunologic and inflammatory mechanisms that drive asthma progression to remodeling. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2008: 560-70.
48. Tucker C. Inmunología, Inflamación Aguda y Crónica. 53- 68.
49. Valsecia M. Analgésicos Antipiréticos y Antinflamatorios No Esteroides (AINEs). 112 - 132.
50. Clemente M, Santos J, Sanchez F. Farmacología de los Analgésicos No Opiáceos (AINEs). 3 - 40.
51. Torrie J, Steel R. Bioestadística.Principios y procedimientos. Segunda Edición. .Mexico: Ed. Mc Graw Hill; 1997.



## ANEXO 1

**Tabla 1 ANOVA para volumen basal por A. Tratamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.00809667	5	0.00161933	2.94	0.0531
Intra grupos	0.01324	24	0.000551667		
Total (Corr.)	0.0213367	29			

FUENTE: Registros de investigación propios

**Tabla 2 ANOVA para volumen de inflamación 3 horas por A. Tratamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0962167	5	0.0192433	9.57	0
Intra grupos	0.04828	24	0.00201167		
Total (Corr.)	0.144497	29			

FUENTE: Registros de investigación propios

**Tabla 3 ANOVA para A.1 hora de tratamiento por A. Tratamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.173987	5	0.0347973	3.29	0.021
Intra grupos	0.25368	24	0.01057		
Total (Corr.)	0.427667	29			

FUENTE: Registros de investigación propios

**Tabla 4 ANOVA para A.2 horas de tratamiento por A. Tratamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.183657	5	0.0367313	5.52	0.0016
Intra grupos	0.15984	24	0.00666		
Total (Corr.)	0.343497	29			

FUENTE: Registros de investigación propios

**Tabla 5 ANOVA para A.3 horas de tratamiento por A. Tratamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.214097	5	0.0428193	6.73	0.0005
Intra grupos	0.1526	24	0.00635833		
Total (Corr.)	0.366697	29			

FUENTE: Registros de investigación propios

## ANEXO 2: MALLA DE DATOS

TABLA N°1

### VOLUMEN BASAL

<b>G1: gel base</b>	<b>G2: extracto al 30%</b>	<b>G3: extracto al 50%</b>	<b>G4: gel con extracto al 15%</b>	<b>G5: gel con extracto al 30%</b>	<b>G6: diclofenaco 1%</b>
0.59	0.61	0.64	0.62	0.65	0.64
0.6	0.62	0.61	0.69	0.67	0.66
0.52	0.59	0.59	0.59	0.66	0.63
0.57	0.61	0.6	0.67	0.62	0.64
0.53	0.51	0.61	0.65	0.64	0.59
$\bar{x}$ :0.562	$\bar{x}$ :0.608	$\bar{x}$ :0.61	$\bar{x}$ :0.644	$\bar{x}$ :0.648	$\bar{x}$ :0.632

FUENTE: Registros de investigación propios

TABLA N°2

### VOLUMEN DE INFLAMACIÓN A LAS 1.5 HORAS

<b>G1: gel base</b>	<b>G2: extracto al 30%</b>	<b>G3: extracto al 50%</b>	<b>G4: gel con extracto al 15%</b>	<b>G5: gel con extracto al 30%</b>	<b>G6: diclofenaco 1%</b>
0.67	1.02	1.15	1.18	1.17	1.18
0.63	1.14	1.04	1.1	1.15	1.17
0.6	1.05	0.99	1.09	1.22	1.23
0.61	1.08	1.01	1.17	1.16	1.18
0.79	0.89	1.03	1.11	1.21	1.23
$\bar{x}$ :0.66	$\bar{x}$ :1.036	$\bar{x}$ :1.044	$\bar{x}$ :1.13	$\bar{x}$ :1.182	$\bar{x}$ :1.198

FUENTE: Registros de investigación propios

TABLA N°3

VOLUMEN DE INFLAMACIÓN A LAS 3 HORAS

<b>G1:</b> gel base	<b>G2:</b> extracto al 30%	<b>G3:</b> extracto al 50%	<b>G4:</b> gel con extracto al 15%	<b>G5:</b> gel con extracto al 30%	<b>G6:</b> diclofenaco 1%
1.28	1.27	1.27	1.29	1.4	1.41
1.33	1.19	1.22	1.27	1.35	1.38
1.27	1.20	1.21	1.24	1.31	1.33
1.19	1.17	1.17	1.19	1.29	1.31
1.32	1.22	1.27	1.30	1.37	1.39
$\bar{x}$ :1.278	$\bar{x}$ :1.21	$\bar{x}$ :1.228	$\bar{x}$ :1.258	$\bar{x}$ :1.344	$\bar{x}$ :1.364

FUENTE: Registros de investigación propios

TABLA N°4

VOLUMEN DE REDUCCIÓN A LAS 1 HORAS

<b>G1:</b> gel base	<b>G2:</b> extracto al 30%	<b>G3:</b> extracto al 50%	<b>G4:</b> gel con extracto al 15%	<b>G5:</b> gel con extracto al 30%	<b>G6:</b> diclofenaco 1%
1.27	1.27	1.23	1.22	1.20	1.19
1.27	1.18	1.22	1.22	1.20	1.20
1.26	1.20	1.18	1.16	1.14	1.10
1.18	1.16	1.14	1.13	1.10	1.08
1.31	1.22	1.25	1.24	1.23	1.22
$\bar{x}$ :1.258	$\bar{x}$ :1.206	$\bar{x}$ :1.204	$\bar{x}$ :1.194	$\bar{x}$ :1.174	$\bar{x}$ :1.158

FUENTE: Registros de investigación propios

TABLA N°5

VOLUMEN DE REDUCCIÓN A LAS 2 HORAS

<b>G1: gel base</b>	<b>G2: extracto al 30%</b>	<b>G3: extracto al 50%</b>	<b>G4: gel con extracto al 15%</b>	<b>G5: gel con extracto al 30%</b>	<b>G6: diclofenaco 1%</b>
1.25	1.20	1.18	1.16	1.15	1.14
1.26	1.17	1.17	1.15	1.14	1.13
1.22	1.18	1.16	1.1	0.97	0.97
1.17	1.16	0.99	0.96	0.92	0.89
1.29	1.15	1.10	1.08	0.97	0.93
$\bar{x}$ :1.238	$\bar{x}$ :1.172	$\bar{x}$ :1.12	$\bar{x}$ :1.09	$\bar{x}$ :1.03	$\bar{x}$ :1.012

FUENTE: Registros de investigación propios

TABLA N°6

VOLUMEN DE REDUCCIÓN A LAS 3 HORAS

<b>G1: gel base</b>	<b>G2: extracto al 30%</b>	<b>G3: extracto al 50%</b>	<b>G4: gel con extracto al 15%</b>	<b>G5: gel con extracto al 30%</b>	<b>G6: diclofenaco 1%</b>
1.24	1.13	1.12	1.10	1.10	1.09
1.2	1.01	0.99	0.97	0.96	0.95
1.16	0.97	0.96	0.92	0.91	0.91
1.15	0.93	0.92	0.91	0.90	0.88
1.17	1.08	0.95	0.88	0.87	0.86
$\bar{x}$ :1.184	$\bar{x}$ :1.024	$\bar{x}$ :0.988	$\bar{x}$ :0.956	$\bar{x}$ :0.948	$\bar{x}$ :0.938

FUENTE: Registros de investigación propios

### ANEXO 3: Clasificación Taxonómica



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



#### CONSTANCIA N° 015-2018-HUSA

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

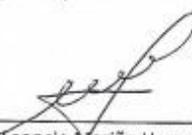
HACE CONSTAR:

Que la muestra fresca del espécimen presentada por Chara Chise Gilber y Nina Flores Mayra Julissa Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María, para la ejecución de su Tesis "Evaluación del efecto antiinflamatorio tópico del extracto etanólico y gel de las hojas *Grindelia glutinosa* "chire chire" en edema plantar inducido en animales de experimentación". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsidae
<b>Subclase</b>	Asteridae
<b>Orden</b>	Asterales
<b>Familia</b>	Asteraceae
<b>Subfamilia</b>	Asteroideae
<b>Genero</b>	<i>Grindelia</i>
<b>Especie</b>	<i>Grindelia glutinosa</i> ( Cav ) Mart "Chire chire"

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

Arequipa 02 de Abril del 2018.

  
Blgo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercano  
Teléfono: (054) 237755 / 993659045  
Apartado Postal: 0028  
AREQUIPA - PERÚ