

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANALGÉSICA Y ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS Y TALLOS DE *Leucheria daucifolia* (D.
Don.) Crisci “Churoq wasin” EN RATONES.**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Presentado por:

Br. Soto Requez, Yvon Carla

Br. Ruiz Rondinel, Sandra

Asesor:

Dra. Juana Elvira Chávez Flores

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi madre Juana Requez Cardenas, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y porque siempre me apoyaste.

A mi hermana Esliá Ruth Soto Requez por ser mi ejemplo y apoyarme en cada paso de mi vida.

A Luis Isidro torres y la familia Torres por su apoyo.

Finalmente, a los maestros y a nuestra asesora Dra. Juana Chávez por brindarnos sus enseñanzas que marcaron cada etapa de nuestro camino universitario.

Br. Soto Requez Yvon Carla

DEDICATORIA

Mi agradecimiento a Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y por darme salud, fuerza para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

Esta tesis está dedicada a mis padres, Julio Ruiz Coylo por darme la vida; Rufina Rondinel de la Cruz por ser siempre una mujer luchadora y brindarme sus consejos sabios en todo tiempo.

A mis hermanas y hermano, decirles que el futuro de cada uno se encuentra en las manos de Dios.

A mi esposo, Helio Raraz Chávez por estar conmigo siempre acompañándome, animándome, decirle que mis logros también son los suyos.

A mis maestros y a nuestra asesora Dra. Juana Chávez por brindarnos sus enseñanzas y conocimientos con paciencia.

Br. Ruiz Rondinel Sandra

INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	
SUMMARY	
I. INTRODUCCIÓN	
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Formulación del problema	2
1.3. Justificación del problema	2
1.4. Objetivos	2
1.4.1. Objetivo General	2
1.4.2. Objetivos Específicos	3
1.5. Variables	3
1.5.1. Variable independiente	3
1.5.2. Variable dependiente	3
1.6. Hipótesis	3
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes de la Investigación	5
2.1.1. Antecedentes internacionales	5
2.1.2. Antecedentes nacionales	7
2.2. Bases teóricas	9
2.2.1. Inflamación	9
2.2.1.1. Fisiopatología de la inflamación	9
2.2.1.2. Clasificación de la inflamación	11
2.2.2. Dolor	13
2.2.2.1. Clasificación del dolor	14
2.2.2.2. Fisiopatología del dolor	14
2.2.3. Estudio botánico de la especie vegetal <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”	17
2.2.3.1. Familia Asteraceae	17
2.2.3.2. Genero <i>Leucheria</i>	17
2.2.3.3. Taxonomía de la especie vegetal	18
2.2.4. Flavonoides	19

2.2.4.1. Efectos farmacológicos de los flavonoides	20
2.2.5. Alcaloides	22
2.2.5.1. Efectos farmacológicos de los alcaloides	22
III. PARTE EXPERIMENTAL	
3.1. Tipo de investigación	24
3.2. Materiales y equipos	24
3.2.3. Material biológico	25
3.2.4. Material vegetal	25
3.3. Muestra	25
3.3.1. Muestra vegetal	25
3.3.2. Muestra biológica	25
3.4. Métodos	26
3.4.1. Preparación del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”	26
3.4.2. Ensayos preliminares	26
3.4.2.1. Procedimiento para la prueba de solubilidad	26
3.4.2.2. Procedimiento para el análisis cualitativo	28
3.4.3. Estudio farmacológico	29
3.4.3.1. Evaluación de la actividad analgésica	29
3.4.3.2. Evaluación de la actividad antiinflamatoria	31
3.4.4. Procedimiento para evaluación de los resultados	34
IV. RESULTADOS	
4.1. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”	36
4.2. Análisis cualitativo del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”	37
4.3. Actividad Analgésica	38
4.4. Actividad Antiinflamatoria	41
V. DISCUSIÓN	44
VI. CONCLUSIONES	47
VII. RECOMENDACIONES	48
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
IX. ANEXO	54

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Proceso de culminación de la migración de leucocitos PMN en la inflamación aguda.	10
Figura 2.	Fisiopatología del dolor	15
Figura 3.	Planta <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci "Churoq wasin".	19
Figura 4.	Ruta de biosíntesis de flavonoides en las plantas.	21
Figura 5.	Aminoácidos y núcleos básicos alcaloidales que ellos originan.	23
Figura 6.	Obtención del extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci "Churoq wasin".	27
Figura 7.	Procedimiento experimental de la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci "Churoq wasin".	35
Figura 8.	Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci "Churoq wasin".	36
Figura 9.	Análisis cualitativo del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria Daucifolia</i> (D. Don.) Crisci "Churoq wasin".	37
Figura 10.	Porcentaje de inhibición extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria Daucifolia</i> (D. Don.) Crisci "Churoq wasin" sobre las contorsiones abdominales inducida por ácido acético en ratones.	39
Figura 11.	Porcentaje de inhibición de la inflamación de las orejas tratadas con la crema formulada a base del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria Daucifolia</i> (D. Don.) Crisci "Churoq wasin".	42

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Distribución de grupos de experimentación en la actividad analgésica.	31
Tabla 2.	Distribución de grupos de experimentación en la actividad antiinflamatoria.	34
Tabla 3.	Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.	36
Tabla 4.	Análisis cualitativo del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.	37
Tabla 5.	Promedio y porcentaje de inhibición de las contorsiones abdominales del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en ratones.	38
Tabla 6.	Prueba de Games-Howell de las contorsiones abdominales de la actividad analgésica en ratones.	40
Tabla 7.	Promedio y porcentaje de inhibición de inflamación de las orejas con el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en ratones.	41
Tabla 8.	Prueba de Tukey de la actividad antiinflamatoria en ratones.	43

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci "Churoq wasin". La planta se recolectó en el departamento Apurímac, fue macerada con alcohol a 70° y el extracto obtenido se evaporó a la estufa a 40°C, luego se realizó la prueba de solubilidad y el análisis cualitativo. Para determinar la actividad analgésica se empleó el modelo de contorsiones abdominales por ácido acético al 0,8%, se utilizaron 49 ratones y los grupos evaluados fueron: Control negativo (agua destilada), control positivo (ácido acético al 0,8%), extracto hidroalcohólico 50, 100 y 200 mg/kg y se comparó con paracetamol 300 mg/kg y tramadol 40 mg/kg. Para determinar el efecto antiinflamatorio se empleó el método de edema auricular por un agente irritante xilol al 6% diluido en acetona en el pabellón auricular del ratón. Se usaron 49 ratones albinos y los grupos de estudios fueron: crema vaselina, crema elaboradas a base del extracto hidroalcohólico al 0,5, 1 y 2%, comparando con el diclofenaco 1% crema e hidrocortisona al 1% crema. Los resultados evidencian que el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci "Churoq wasin" a dosis 100 mg/kg presenta actividad analgésica con un porcentaje de inhibición de contorsiones del (62%) no superando al tramadol (86%) y es comparable al paracetamol (76%); y con respecto a la actividad antiinflamatoria, la crema del extracto al 2% presenta un porcentaje de inhibición de la inflamación con un (48.7%) el cual es comparable a la hidrocortisona 1% y el diclofenaco 1%. Se comprobó que existe actividad analgésica y actividad antiinflamatoria en ratones.

Palabras clave: "Churoq wasin", actividad analgésica, antiinflamatoria.

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the analgesic and anti-inflammatory activity of the hydroalcoholic extract of leaves and stems of *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci "Churoq wasin". The plant was collected in the Apurimac department, macerated with alcohol at 70 ° and the extract obtained was evaporated in the oven at 40 ° C, then the solubility test and the qualitative analysis were carried out. To determine the analgesic activity, the model of abdominal contortions by 0.8% acetic acid was used, 49 mice were used and the groups evaluated were: Negative control (distilled water), positive control (0.8% acetic acid), hydroalcoholic extract 50, 100 and 200 mg / kg and compared with paracetamol 300 mg / kg and tramadol 40 mg / kg. To determine the anti-inflammatory effect, the atrial edema method was used by a 6% xylool irritant agent diluted in acetone in the mouse ear. 49 albino mice were used and the groups of studies were: cream petrolatum, cream made from the hydroalcoholic extract at 0.5, 1 and 2%, comparing with diclofenac 1% cream and hydrocortisone at 1% cream. The results show that the hydroalcoholic extract of leaves and stems of *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci "Churoq wasin" at a dose of 100 mg / kg presents analgesic activity with a percentage of inhibition of contortions (62%) not surpassing tramadol (86%) and is comparable to paracetamol (76%); and with respect to the anti-inflammatory activity, the cream of the extract at 2% presents a percentage of inhibition of inflammation with one (48.7%) which is comparable to hydrocortisone 1% and diclofenac 1%. It was found that there is analgesic activity and anti-inflammatory activity in mice.

Key words: "Churoq wasin", analgesic, anti-inflammatory activity.

ABREVIATURAS

- AMPc: Adenosín monofosfato cíclico
- CoA: Coenzima A
- GABA: Ácido gamma-aminobutírico
- IFN- γ : Interferón gamma
- IL: Interleucina
- LT: Leucotrieno
- OMS: Organización mundial de la salud
- PAL: Fenilalanina amonioliasa
- PCR: Proteína C-reactiva
- PMN: Neutrófilos polimorfonucleares
- PEP: Fosfoenolpiruvato
- PGE₂: Prostaglandina E₂
- PGI₂: Prostaciclina
- TLR: Toll- like receptors
- TNF: Factor de necrosis tumoral
- ScoA: Acil coenzima A
- SNC: Sistema nervioso central
- mg/Kg: Miligramos por kilogramos de peso
- %: Porcentaje
- μ : Mu
- κ : Kappa
- δ : Delta

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema:

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el dolor representa un problema de salud pública en todas las edades¹, afectando a más del 50% de la población². El uso de fármacos para el dolor indica un gasto de 560 y 635 billones de dólares siendo el gasto más alto a diferencia de otras enfermedades como: cáncer y diabetes³.

Los antiinflamatorios han sido utilizados por décadas, en un estudio de vigilancia ambulatoria, en Estados Unidos indican que el 95% de los casi 7 millones de pacientes había utilizado por lo menos un fármaco antiinflamatorio⁴. Sin embargo, gran parte de la población rural recurren a las plantas medicinales y medicamentos herbarios por su bajo costo, y su fácil acceso para su atención primaria de salud.

El estudio científico de las plantas medicinales permite el descubrimiento de nuevos fármacos y el conocimiento más a fondo de los vegetales que conduce a que muchos productos sean reconocidos como fitofármacos, es decir, compuestos que igualan el nivel de los fármacos de síntesis⁵.

En la actualidad hay poco uso de medicamentos de origen vegetal por parte de los profesionales de la salud a pesar de sus bajos índices de toxicidad, sus tratamientos están basados únicamente en fármacos sintéticos incluso en el tratamiento de problemas de salud diagnosticados como enfermedad leve⁶. El interés por estudiar la planta *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci surge a partir de la observación de su uso tradicional en distintas zonas de nuestro país utilizados para malestares por gripe, tos, dolores estomacales⁷, hemorragias genitales en mujeres⁸. Este conocimiento empírico amerita darle validez científica, por lo tanto, consideramos que el estudio de esta especie permitirá darle uso como terapia alternativa para la atención primaria de salud de la población con bajos recursos económicos.

1.2. Formulación del problema

¿Tendrá actividad analgésica y antiinflamatoria el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci “Churoq wasin”, en ratones?

1.3. Justificación del problema:

Hoy en día los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son los fármacos más usados en el tratamiento de la inflamación siendo los más prescritos en todo el mundo, ocasionando efectos adversos mayormente gastrointestinales, cardiovasculares y renales⁹. Así mismo los analgésicos opiáceos presentan efectos adversos como constipación, náuseas, vómitos, depresión, anorexia entre otros¹⁰. Por otro lado la OMS promueve el uso de medicina tradicional porque ha demostrado ser eficaz, inocua y de menor costo para el tratamiento y prevención de enfermedades agudas como: Resfriado, diarreas, dolores estomacales, fiebre¹¹, por lo que el presente trabajo de investigación pretende contribuir validando científicamente el uso tradicional de hojas y tallos de la especie vegetal *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin”, la investigación es conveniente ya que será un aporte para la población sobre los beneficios que proporciona la especie vegetal, siendo una alternativa de tratamiento para el dolor e inflamación. La investigación fue viable y factible, pues se disponía de los recursos necesarios como aulas de laboratorio, materiales, equipos, medios económicos y material vegetal recolectados en del Distrito Challhuahuacho, Provincia Cotabambas, Departamento de Apurímac.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General:

Evaluar la actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en ratones.

1.4.2. Objetivos Específicos:

1. Identificar los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.
2. Evaluar la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” preparadas en diferentes dosis (50, 100 y 200 mg/kg), en el modelo de contorsiones abdominales en ratones.
3. Evaluar la actividad antiinflamatoria de una crema preparada a diferentes concentraciones (0,5, 1 y 2 %) a base del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en el método del edema auricular en ratones.

1.5. Variables

1.5.1. Variable independiente:

- Extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.

1.5.2. Variable dependiente:

- Actividad analgesia y antiinflamatoria

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis General

El extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci, presenta actividad antiinflamatoria y actividad analgésica en ratones.

1.6.2. Hipótesis Específicos:

1. Los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” son alcaloides y flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, esteroides y/o triterpenos.
2. El extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” presenta actividad analgésica a dosis de 50 y 100 mg/kg en ratones.
3. La crema formulada a base del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” presenta actividad antiinflamatoria al 1 y 2% en ratones.

II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes de la Investigación:

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Pastorello M, Ciangherotti C, Varela M, et al en el artículo titulado “Actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto acuoso de la raíz de *Ruellia tuberosa* L.” publicado en la revista de la Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela en el año 2012, el objetivo fue evaluar el posible efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto acuoso de la raíz de *Ruellia tuberosa* L. en ratones, se empleó el método de inducción del edema por carragenina en la pata trasera de la rata y el método de inducción de dolor visceral a través de la administración de un irritante químico ácido acético 0,6%, los resultados evidencian que el extracto posee una potente actividad analgésica con un efecto máximo de 85,7% a la dosis de 50 mg/kg y actividad antiinflamatoria inhibiendo el desarrollo de edema en la almohadilla de la pata de la rata en un 38,7 y 31,5% ¹².

Villalobos D, et al en el artículo titulado “Actividad antiinflamatoria in vivo de extractos de hojas, tallos y frutos de *Ficus maitin* Pittier.” publicado en la revista de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes Venezuela en el año 2017, el objetivo de la investigación fue evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto de diferentes polaridades de hojas, tallos y frutos de *Ficus maitin*, se administró dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg de extractos de diferentes polaridades a través de dos modelos de inflamación aguda: edema auricular inducido por xilol y edema podal inducido por carragenina, los resultados indican que el extracto acuoso en frío de las hojas a la dosis de 200 mg/Kg en edema auricular exhibió la mayor actividad antiinflamatoria (91,57 %) y el extracto metanólico de las hojas a la dosis de 200 mg/Kg en edema podal exhibió el mayor porcentaje de inhibición (86,67 %) en la tercera hora del ensayo, lo que constituye el primer reporte de actividad antiinflamatoria para *Ficus maitin* Pittier¹³.

García A, Victoria M, Moron F. *et al* en el artículo titulado “Validación preclínica de la actividad analgésica y antiinflamatoria de la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb.” publicado en la revista cubana de plantas medicinales en el año 2012, el objetivo fue evaluar la actividad analgésica y antiinflamatoria preclínica de la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides*, se empleó el modelo de contorsiones inducidas por ácido acético 0,75 %; retirada de la cola por inmersión en agua 55 °C en ratones; edema de oreja inducido por aceite de Croton, vía oral (0,1 y 1g/kg); tópica (20 mL/10 g de decocción al 10, 30, y 50 %) en ratones y granuloma inducido por algodón en ratas, la decocción disminuyó de forma significativa la respuesta dolorosa inducida por ácido acético, mientras que no la retirada de cola, tampoco la respuesta inflamatoria en el granuloma por algodón; en edema de oreja disminuyó la inflamación por vía oral y tópica. En conclusión, los resultados permitieron realizar la validación preclínica de la actividad analgésica y antiinflamatoria de la decocción de partes aéreas frescas para enfermedades tanto digestivas y dermatológicas¹⁴.

Ururi F en la tesis titulada “Efecto de la planta *Leucheria daucifolia* “Chucapacu” sobre parásitos gastrointestinales nematodos en alpacas (*vicugna pacus*),” para optar el título en Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Universidad Indígena Boliviana Aymara “tupak katari” en el año 2013, el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la planta *Leucheria daucifolia* sobre parásitos gastrointestinales nematodos en alpacas, se administró 250 ml vía oral de la planta a cada alpaca, se concluye que la planta produce la eliminación de los parásitos Nematodos *Nematodirus spathiger*, *Skrajabinema* sp y *Mashallagia marshalli* y no tiene efecto sobre *Ostertagia stertagi* de las alpacas, lo que hizo que la carga parasitaria total disminuya solo parcialmente (65%), por lo que se recomienda realizar otros estudios complementarios¹⁵.

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Mayhuasca O. et al en el artículo titulado “Efecto antiinflamatorio de la emulsión dérmica del extracto etanólico de *Peperomia choroniana* D. CD. (ipitanki) en edema auricular inducido por xilol en ratones”, publicado en la revista peruana de medicina integrativa en el año 2017, el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto antiinflamatorio de la emulsión dérmica del extracto etanólico de *Peperomia choroniana*, la metodología consistió en inducir a la inflamación con xilol posteriormente se formaron seis grupos de seis ratones cada uno. El grupo I recibió crema base; el grupo II dexametasona crema 0,05%; el grupo III diclofenaco gel 1%; los grupos IV, V y VI, emulsión dérmica del extracto etanólico de *Peperomia choroniana* a las concentraciones de 0,1%, 0,5% y 1% los resultados mostraron efecto antiinflamatorio en las emulsiones dérmicas al 0,5% (54,6%) y al 1% (51,1%), concluyeron que la emulsión dérmica de *Peperomia choroniana* al 0,5% posee efecto antiinflamatorio tópico superior al diclofenaco gel 1%, pero inferior a la dexametasona crema 0,05% en la reducción de la inflamación¹⁶.

Atequipa J, Cabrera E, en la tesis titulada “Evaluación del efecto antiinflamatorio de la grasa de *Boa constrictor constrictor* “Boa mantona” comercializada en el emporio comercial de gamarra - la victoria. lima 2015, para optar el título Profesional de Químico Farmacéutico en la Universidad Privada Norbert Wiener en el año 2018, el objetivo fue determinar el efecto antiinflamatorio de la grasa de *Boa constrictor constrictor*, la metodología empleada fue edema inducido por xilol en pabellón auricular de ratón luego se aplicó tópicamente la grasa de la *Boa constrictor constrictor*, cremas elaboradas a base de la misma grasa al 15, 20 y 30% de concentración y el fármaco de referencia diclofenaco 1% crema, los resultados evidencian que la grasa de la *Boa constrictor constrictor* y las cremas de 30 y 20 % de concentración, presentan resultados significativos ($p < 0,05$), se concluye que la grasa de *Boa constrictor constrictor* comercializada en el emporio comercial de Gamarra – La Victoria. Lima 2015, tiene efecto antiinflamatorio.¹⁷.

Castañeda R, Miranda A en la tesis titulada “Actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto etanólico de la raíz *Taraxacum officinale* Wigg “diente de león” en ratones, para optar el título Profesional de Químico Farmacéutico en la Universidad Privada Norbert Wiener en el año 2018, el objetivo de la investigación fue determinar la actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto etanólico de la raíz *Taraxacum officinale* Wigg “diente de león” en ratones, se empleó modelo de contorsiones abdominales por ácido acético 0,8% los grupos evaluados fueron: Control negativo, control positivo (ácido acético 0,8%), extracto etanólico al 25, 50 y 100 mg/kg, se comparó con paracetamol 300 mg/kg, tramadol 40 mg/kg, para el efecto antiinflamatorio se empleó el método de edema subplantar los fármacos estándar fueron: Dexametasona 4 mg/kg y diclofenaco 50 mg/kg, los resultados indican que el extracto etanólico de la raíz de *Taraxacum officinale* Wigg es efectiva a dosis 100 mg/kg con un 69% de inhibición de contorsiones y una actividad efectiva antiinflamatoria en dosis de 25 mg/kg, con una evolución porcentual de inhibición del 56% al 99 % en un lapso de seis horas. Se concluye que el extracto presenta actividad analgésica y antiinflamatoria¹⁸.

Turpo E en la tesis titulada “Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto acuoso *Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci frente a *staphylococcus aureus* y *escherichia coli*”, para optar el título profesional de Químico Farmacéutico en la Universidad Alas Peruanas 2015, el objetivo de la investigación fue evaluar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de hojas de *Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci “Sasahui”, la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto acuoso de hojas de *Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci se estimó en 12.5 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y en 200 mg/mL para *Escherichia coli*, en la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto acuoso se estimó en 25 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y en 400 mg/mL para *Escherichia coli*, en el análisis fitoquímico del extracto acuoso se evidenció la presencia de taninos, flavonoides y alcaloides. En conclusión, la planta presenta actividad antibacteriana para las dos bacterias de estudio¹⁹.

2.2. Bases teóricas:

2.2.1. Inflamación

La inflamación se define como una respuesta protectora de los tejidos que han sido afectados por traumatismo físicos, sustancias químicas nocivas o agentes microbianos²⁰.

Los síntomas en la inflamación son dolor, rubor y tumoración, se caracteriza por una vasodilatación, un incremento en la permeabilidad capilar, infiltración de leucocitos y células fagocíticas, así como degeneración y fibrosis del tejido²¹.

2.2.1.1. Fisiopatología de la inflamación

a) Respuesta Inmunitaria innata²².

Sucede inmediatamente después de la lesión o infección, donde intervienen elementos vasculares y celulares, los mediadores producidos por las células del plasma cambian y organizan la medida de la respuesta, empleando receptores Toll (TLR), receptores de reconocimiento, las células centinelas de los tejidos corporales, como los macrófagos, los mastocitos y las células dendríticas, descubren patrones moleculares asociados a patógenos específicos, desencadenando la liberación de citoquinas, particularmente interleucina (IL)-1 y factor de necrosis tumoral (TNF)- α , y otras quimiocinas. La IL-1 y TNF- α interviene sobre las células endoteliales y las vénulas produciendo vasodilatación y exudado de líquido, este exudado comprende cascadas enzimáticas que producen bradicinina (a partir del fibrinógeno) y C5a y C3a (a partir del complemento). La estimulación del complemento produce lisis bacteriana, asimismo C5a y C3a activan a los mastocitos para soltar histamina, que dilata las arteriolas localmente. La lesión tisular y las citocinas sueltan prostaglandinas PGI₂ y PGE₂ (vasodilatadores) y el leucotrieno (LT)B₄ (quimiotaxina). Las citocinas al estimular la síntesis del vasodilatador óxido nítrico, que incrementa la permeabilidad vascular. Los leucocitos utilizan las moléculas de adhesión dorando sobre el endotelio vascular activado, se unen y finalmente a través

del mismo al patógeno (captados por las quimiocinas, IL-8, C5a y LTB4), donde se realiza la fagocitosis y la muerte del patógeno.

Figura 1. Proceso de la culminación de la migración de leucocitos PMN en la inflamación aguda²².

b) Respuesta inmunitaria adaptativa²².

Aumenta de la respuesta innata comprende dos fases, la fase de inducción y la fase efectora.

En la fase de inducción se exponen antígenos a linfocitos T vírgenes que contienen los correceptores CD4 o CD8, lo que pone en acción su proliferación: los linfocitos T que contienen CD8, cambian en linfocito T citotóxicos que pueden aniquilar células infectadas por virus; los linfocitos T cooperadores (Th) que contiene

CD4 son estimulados por variadas citocinas para transformarse en linfocitos Th1, Th2, Th17 y Treg. Los linfocitos Th17 son notables en algunas enfermedades humanas como la artritis reumatoide.

La fase efectora necesita de la respuesta humoral y celular, los anticuerpos producen: liberación del complemento más selectiva, fagocitosis de patógenos más eficaces, adhesión fuerte a parásitos multicelulares lo que facilita su destrucción, neutralización directa de algunos virus y de algunas toxinas bacterianas. Las reacciones celulares producen: los linfocitos T citotóxicos CD8+ destruyen células infectadas por virus, los linfocitos T CD4+ liberadores de citocinas, aprueban que los macrófagos aniquilen patógenos intracelulares, como el bacilo de la tuberculosis, los linfocitos de memoria capacitados para reaccionar velozmente ante un patógeno conocido.

Las respuestas inmunitarias producidas de forma inadecuada se les nombran reacciones de hipersensibilidad.

Mediadores de la inflamación²³.

Pertencen a variados grupos de moléculas que comprenden lípidos (prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos), también los aminoácidos modificados (histamina, serotonina) y proteínas (citoquinas, quimioquinas, proteínas de fase aguda, factores de crecimiento).

2.2.1.2. Clasificación de la inflamación²⁴.

a) Por la duración pueden ser:

1. Agudas: De comienzo rápido y duración corta.
2. Crónicas: De proceso prolongado, con inflamación activa y un reintento de reparación.

b) Por el carácter del exudado pueden ser:

1. Trasudado: Caracterizado por la aparición de líquido extravascular con bajo contenido proteico y un ligero cambio en la permeabilidad vascular.

2. Exudado: Presenta líquido inflamatorio extravascular con elevado contenido proteico, con alta permeabilidad en los vasos sanguíneos.
- c) Por la etiología, pueden ser:
1. Infecciosas, traumáticas, térmicas, irradiaciones, por exposición a agentes químicos ambientales, necrosis tisular, presencia de cuerpos extraños.
- d) Por sus características morfológicas, pueden ser:
1. Serosa: Caracterizado por aglomerar líquido tisular de pequeño contenido proteico.
 2. Fibrinosa: Caracterizado por la existencia de exudado con grandes proporciones de fibrinógeno.
 3. Supurativa: Existe producción de exudados purulentos que contiene leucocitos y células necróticas.
 4. Abscesos: Caracterizado por presentar tejido purulento con necrosis licuefactiva.
 5. Úlceras: Producto de esfacelamiento de tejido necrótico inflamado.
- e) Por su localización: Se dividen en:
1. Focales: Localizadas en zonas y órganos específicos, en cuyo caso se utiliza el sufijo –itis, para cada caso.
 2. Diseminados: Consecuencia de procesos inflamatorios insistente ya sea por vía canalicular, fistulización o metástasis.

2.2.1.3. Factores que contribuyen en la inflamación²⁵.

a. Psicológicos

Situaciones como el temor, amenazas, tensión, experiencias emocionales dolorosas, enojo, resentimiento, amargura, son las que causan dilatación en los vasos sanguíneos al igual que la inflamación, disparando la hormona del cortisol, la hormona del estrés, de sus glándulas suprarrenales con una cascada de otras hormonas del estrés, incluyendo adrenalina y norepinefrina.

b. Estrés

El estrés es responsable de sustancias dañinas que invaden el organismo, dañando los neurotransmisores cerebrales haciendo que la norepinefrina se eleve y que los transmisores relajantes como la serotonina caigan.

c. Falta de sueño

Incrementa la secreción de citocinas inflamatorias, se puede producir por:

- a) Desequilibrio suprarrenal.
- b) Ansiedad, preocupación y pensamientos tormentosos.
- c) Desequilibrio en los neurotransmisores cerebrales.
- d) Desequilibrio de nutrientes.

d. Inactividad

La falta de ejercicio también influye en la inflamación, los músculos esqueléticos actúan como un órgano endocrino. Mientras más actividades realiza el musculo esquelético producen y liberan sustancias antiinflamatorias en la sangre por lo tanto los marcadores de la inflamación como la proteína C-reactiva (PCR) disminuyen.

e. Obesidad

Las células grasas promueven la inflamación, se han demostrado que hay una relación directa con las citocinas inflamatorias, las personas obesas tienen niveles más elevados de proteína C-reactiva.

2.2.2. Dolor

El dolor se define como toda experiencia sensorial y emocional desagradable relacionada a un daño tisular²⁶, esta definición indica que el dolor es un proceso complejo y altamente subjetivo, por lo tanto, el dolor es una experiencia consciente, una interpretación de un estímulo nociceptivo influenciado por la memoria, las emociones, factores genéticos y cognitivos²⁷.

2.2.2.1. Clasificación del dolor²⁸.

El dolor puede clasificarse según el tiempo de duración, la intensidad y el mecanismo fisiopatológico que lo desencadene.

- a. Según el tiempo de duración son:
 1. Agudo: Duración menor a 12 semanas (3 meses), este maneja un sistema de alerta a diferencia del dolor crónico.
 2. Crónico: Durante 12 semanas (tres meses) o más.
- b. Según el mecanismo fisiopatológico que lo desencadene son:
 1. Dolor nociceptivo: Es originado por la estimulación de los nociceptores intactos como resultado de una injuria tisular e inflamación. Se divide en dolor somático y en dolor visceral
 2. Dolor neuropático: El dolor neuropático es una afección neurológica que aparece como consecuencia de alteraciones del sistema nervioso, tanto periférico como central. Se debe a una lesión del sistema nervioso y no a una activación anormal de las vías nociceptoras.
 3. Dolor mixto: El dolor neuropático y el dolor nociceptivo pueden estar unidos y los pacientes pueden tener un dolor mixto, somático, visceral y neuropático, manifestandose todos al mismo tiempo o en distintos momentos. Un ejemplo son las quemaduras (que afectan a la piel y a las terminaciones nerviosas).

2.2.2.2. Fisiopatología del dolor³.

La fisiología del dolor está conformada por cuatro fases: Transducción, conducción, modulación y percepción.

- a) Transducción: Se inicia en la piel, musculo, articulaciones y vísceras, los nociceptores traducen un estímulo térmico, físico o químico en una señal eléctrica.
- b) Conducción: Esta señal eléctrica es conducida a través de fibras nerviosas, tipo A - delta y C. Cuando el estímulo nervioso llega a asta dorsal de la medula espinal se inicia la siguiente fase.

- c) Modulación: En esta fase se encuentran neuronas inhibitorias y excitatorias. Por lo que la señal original puede ser aumentada o disminuida. La señal viajará por los tractos espinotalámicos hasta llegar a tálamo.
- d) Percepción: Finalmente llega a la corteza somatosensorial donde finalmente se percibe como dolor.

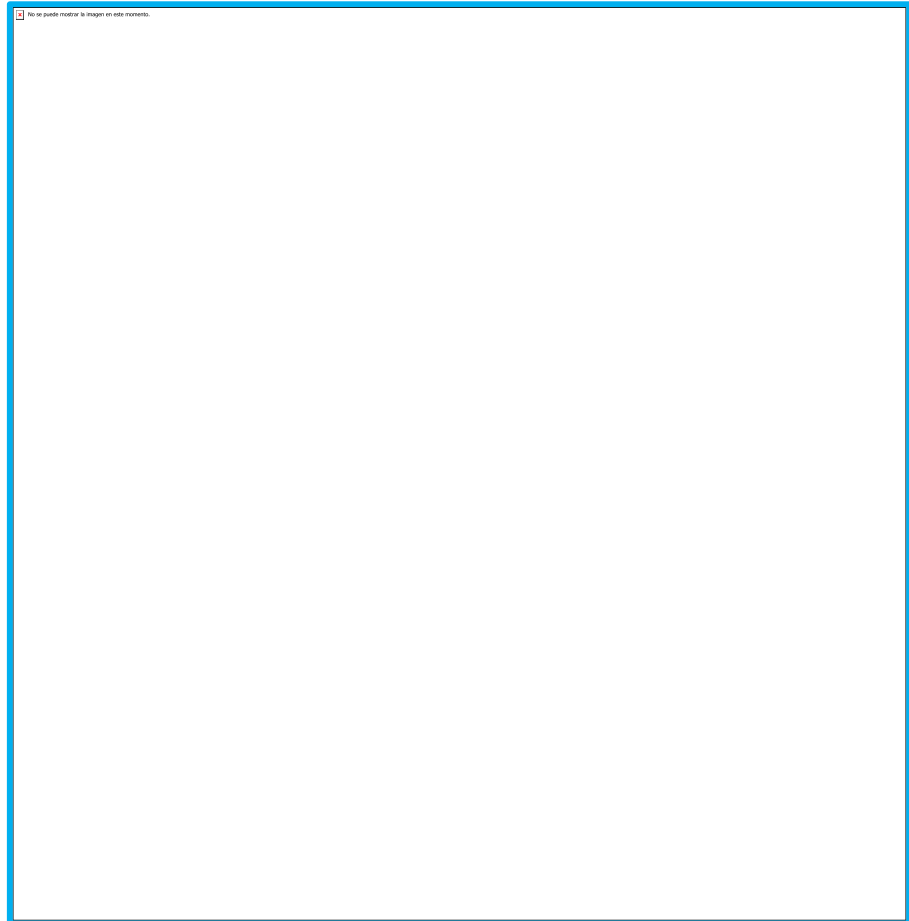


Figura 2. Fisiopatología del dolor²⁸.

2.2.2.3. Analgésicos opiáceos

Los alcaloides opioides producen analgesia a través de acciones sobre receptores en el sistema nervioso central, el opio es fuente de la morfina, es obtenida de la adormidera *Papaver somniferum*, la codeína se sintetiza en forma comercial a partir de la morfina. Se sabe que la morfina alivia el dolor intenso con una buena eficacia²⁹.

2.2.2.3.1. Clasificación²⁹

- a) Agonistas completos: La morfina es un agonista completo del receptor μ de opioides siendo considerado el principal receptor de opioides analgésicos.
- b) Agonistas parciales: La codeína actúa como agonista parcial de receptores μ .
- c) Antagonistas: La naloxona un fuerte antagonista de receptores μ .

2.2.2.3.2. Acciones farmacológicas de los opioides³⁰.

Los opioides actúan sobre los receptores μ , κ , δ pertenecen a la familia de los receptores acoplados a proteína G_i ; de esta manera inhiben a la adenilciclase y canales de calcio dependientes de voltaje y estimulan canales de potasio y la fosfodiesterasa C. Al disminuir el AMPc intracelular, los opioides modulan la liberación de neurotransmisores como: GABA, dopamina, acetilcolina y norepinefrina y ejerciendo variedad de efectos dependiendo del tipo de receptor estimulado.

Receptores μ : Analgesia, euforia, depresión respiratoria, miosis, disminución de la motilidad gastrointestinal.

Receptores κ : Analgesia, depresión respiratoria, miosis.

Receptores δ : Efectos antinociceptivos y estimulantes del apetito.

Tramadol²⁹.

Analgésico de acción central su mecanismo de acción está basado en el bloqueo de la recaptación de la serotonina; se ha observado que inhibe la función del transportador noradrenalina, se cree que apenas es un débil agonista de receptores μ porque se antagoniza solo parcialmente por la naloxona. La dosis recomendada es de 50 a 100 mg por vía oral cada 6 h. Dentro de los efectos secundarios considerados son: náusea y mareo siendo estos síntomas abatidos después de varios días de administración, el

tramadol puede servir como adyuvante de agonistas puros de opioides en el tratamiento del dolor neuropático crónico.

2.2.3. Estudio botánico de la especie vegetal *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”

2.2.3.1. Familia Asteraceae

El nombre “Asteraceae” proviene del género tipo de la familia *Aster*, que en griego significa “estrella” y hace alusión a la forma de la inflorescencia³¹. Constituye el grupo vegetal más diverso de plantas sobre el planeta, representan un grupo natural con un número elevado de especies y amplia variación estructura floral. A nivel mundial se estima entre 1,500 y 1,700 géneros y entre 24,000 y 30,000 especies, con centros de diversificación importantes en la región del Mediterráneo en el Viejo Mundo, la región del Cabo en África, Australia, México y la Cordillera de los Andes en Sudamérica³².

En el Perú se registraron 222 géneros y 1432 especies de asteráceas; posteriormente Beltrán y Baldeón actualizaron el registro con 245 géneros y 1530 especies³¹.

2.2.3.2. Género *Leucheria*

El género *Leucheria* se caracteriza por sus hojas dispuestas en una roseta basal, corolas bilabiadas, anteras sagitadas, estilos truncados con una coronita apical de pelos colectores y el papus plumoso. Además, la gran mayoría de *Leucheria* presenta una característica única en la tribu Nassauvieae que es la curiosa disposición de las filarias más internas del involucre como si fueran páleas del receptáculo. El género fue revisado por Crisci (1976) pero, dado que se halla en preparación una actualización de la taxonomía de *Leucheria*, se están analizando además ejemplares colectados luego de la revisión de 1976. Por otro lado, sus flores bilabiadas es el estilo característico de los miembros de Nassauvieae³³.

Género de 47 especies sudamericanas distribuidas en la región desde el Perú hasta el sur de Chile y Argentina³⁴.

2.2.3.3. Taxonomía de la especie vegetal *Leucheria daucifolia* (D. Don.)

Crisci “Churoq wasin”

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Subclase: ASTERIDAE

Orden: ASTERALES

Familia: ASTERACEAE

Género: *Leucheria*

Especie: *Leucheria daucifolia* (D. Don.)

Crisci

Nombre Vulgar: Churoq wasin

2.2.3.3.1. Hábitat y distribución

Conocida desde la puna en la Cordillera de los Andes del centro de Perú hasta el centro de Bolivia (3800-4800 m)³¹.

Crece en suelo desnudo franco-arenoso y pedregoso en toda su extensión. El clima es templado frío con vientos helados circulando y abundante neblina. La presencia de riachuelos o pozos de agua en escasa temperatura, comúnmente con diferencias de 20-30°C entre las temperaturas máximas del día y las heladas nocturnas³⁵.

La vegetación es escasa y se encuentra dispersa son visitadas por aves pequeñas y camélidos sudamericanos³⁶.

2.2.3.3.2. Usos tradicionales

- a. La *leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “sasawi” junto con el *Senecio violifolius* Cabrera “mamanlipa” es usado como antiparasitario para el ganado³⁷.

- b. Utilizado por la población cuando manifiestan dolores estomacales causados por el frío característico de la zona; también se utiliza para aliviar malestares por gripe y tos³⁸.
- c. También usado para el tratamiento de enfermedades como bronquitis verminosa, resfrío en camélidos domésticos³⁹.

2.2.3.3.3. Composición química de *Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci”

Turpo E (2015) en su estudio realizado señala que el extracto acuoso de hojas de sasahui “*Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci” obtenido por el método de decocción evidenció la presencia de taninos, flavonoides, azúcares reductores y alcaloides;¹⁹ además, Chukiwanka L (2017) indica que el extracto metanólico contiene flavonoides y que el tipo de flavonoide mayoritario es la malvidina⁴⁰.

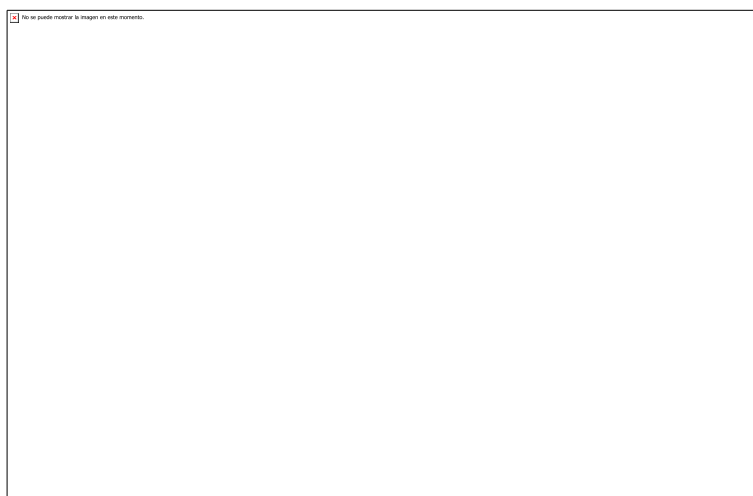


Figura 3. Planta *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”⁴⁰.

2.2.4. Flavonoides

Los flavonoides cumplen un rol importante en la naturaleza por lo que han permanecido a lo largo del tiempo. Existiendo una variedad de flavonoides en la naturaleza con diferentes actividades bioquímicas y farmacológicas que ejercen sobre el hombre y otros mamíferos.

Cumplen roles importantes en las plantas como defensa contra las plagas, atracción de insectos polinizadores, etc.

El ser humano lo consume en la dieta ya que encuentran en las algunas verduras, frutas, plantas medicinales aromáticas⁴¹.

2.2.4.1. Efectos farmacológicos de los flavonoides

Se han descrito una variedad de efectos producidos por este metabolito como: antineoplásico, cardiotónico, disminución de la fragilidad capilar, antitromboticas, disminución del colesterol, protección y regeneración hepática, antiulcericos, antimicrobianos, antiviral, antifúngica, analgésicos, anticarcinógeno. También tiene efectos sobre el SNC como: ansiolíticos, antiepilépticos o anticonvulsivos, sedantes o inductores al sueño, antinociceptivos, mejoran la memoria, el aprendizaje y el funcionamiento cognitivo, el descubrimiento de los efectos de los flavonoides sobre el sistema nervioso central dio origen al descubrimiento de los receptores del ácido gama amino butírico (GABA)⁴¹.

2.2.4.2. Biosíntesis de flavonoides⁴².

La biosíntesis de los flavonoides se origina del metabolismo secundario de las plantas por la ruta del ácido shikimico. La vía del ácido shikimico comienza por condensación de 4-P con el fosfoenolpiruvato (PEP), y por múltiples modificaciones se consigue el ácido shikimico del cual proceden directamente algunos fenoles en los vegetales, esta vía prosigue, sin embargo, la incorporación de una segunda molécula de PEP lleva a la formación de fenilalanina. La vía sintética de los flavonoides comienza cuando la fenilalanina por actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) cambia a ácido cinámico que posteriormente es transformado en ácido p - cumínico por incorporación de un anillo hidroxilo del anillo aromático, y la acción de una CoA ligasa lo transforma en cumaril – ScoA, el precursor de muchos fenoles de origen vegetal, entre los que se encuentran los flavonoides.

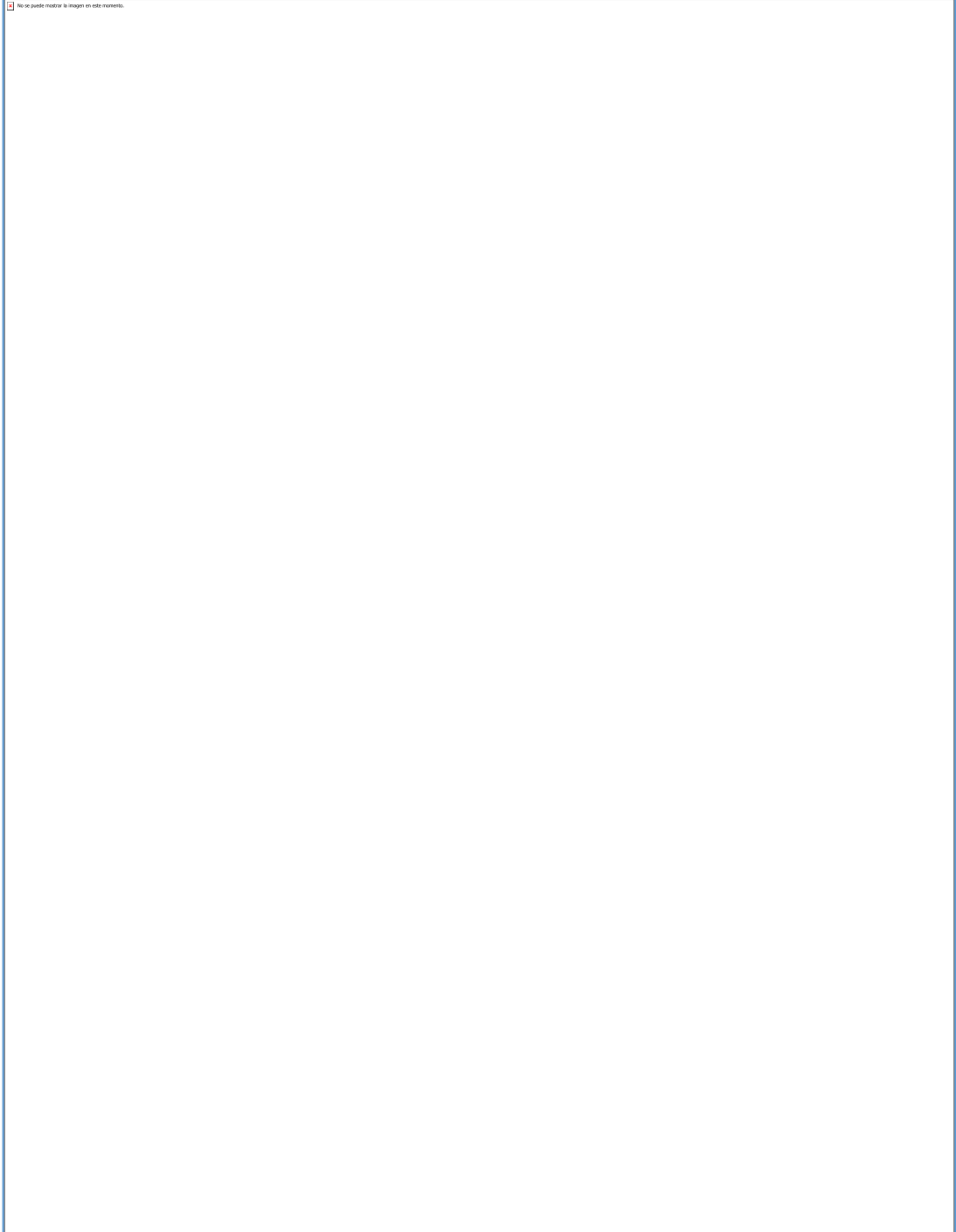


Figura 4. Ruta de biosíntesis de flavonoides en las plantas⁴².

2.2.5. Alcaloides.

Constituyen el grupo más enorme de metabolitos secundarios de las plantas, se localizan en las semillas, raíces, corteza y hojas, al estado libre como glicósidos o constituyendo sales con ácidos orgánicos. Los alcaloides son sustancias básicas que comprenden uno o más átomos de nitrógeno como parte de un sistema cíclico que tienen actividad farmacológica, biosintetizados de aminoácidos como precursores derivan principalmente de los aminoácidos ornitina, lisina, fenilalanina (o tirosina), triptófano, y del ácido antranílico por medio de una serie de reacciones, como por ejemplo reacciones de tipo aldónica. Otros alcaloides derivan de otros aminoácidos por ejemplo la pilocarpina u otros que contienen un anillo de imidazol que son biosintetizados a partir de la histidina⁴³.

2.2.5.1. Efectos farmacológicos de los alcaloides.

Desde hace muchos años es conocido el efecto de los alcaloides por ejemplo la berberina es antibacterial y antiinflamatoria; la emetina es emético, antihelmíntico y expectorante; la cocaína es sedante y anestésico; la codeína es analgésico, sedante e hipnótico; la estrienina y cafeína son estimulantes; la morfina y escopolamina tienen actividad sobre el sistema nervioso central. Otros alcaloides también muestran diversos efectos como el jatrofano (antitumoral); codonopsina y hoveina (analgésica); la criogenina (antiinflamatoria); la quinina es antiséptico y antipirético y ha servido por más de 200 años para tratar la malaria entre otras enfermedades⁴³.

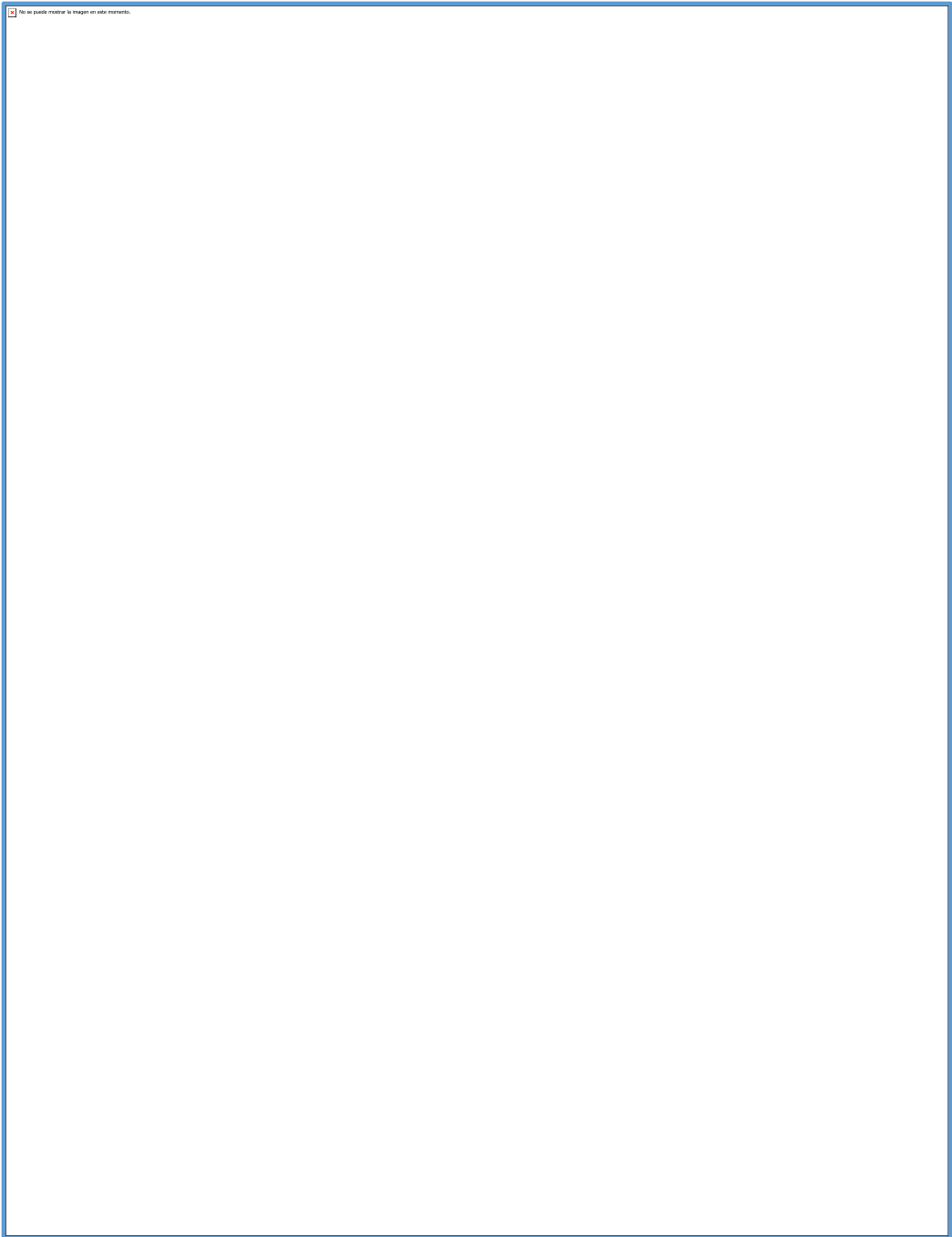


Figura 5. Aminoácidos y núcleos básicos alcaloidales que ellos originan⁴³.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Tipo de investigación

En la presente investigación se utilizó el método experimental y prospectivo.

Experimental: En este método los tratamientos de la variable independiente han sido manipulados por el investigador, para observar sus efectos sobre la variable dependiente, causa- efecto⁴⁴.

Prospectivo: El objetivo es determinar relaciones entre variables de hechos que posiblemente ocurrirán en un futuro. En este tipo de estudio se plantea las posibles causas y se intenta definir los posibles efectos⁴⁵.

3.2. Materiales y equipos

3.2.1. Materiales

- a. Tubos de ensayo 13 x 10mL.
- b. Gradilla de metal.
- c. Pipeta de 1, 2, 5 y 10mL.
- d. Beacker 250mL y 1L.
- e. Propipeta de goma.
- f. Baqueta de vidrio.
- g. Espátula de metal.
- h. Jaulas de plástico para ratones.
- i. Luna de reloj
- j. Balanza para pesar ratones.
- k. Sacabocado 6 mm de diámetro.

3.2.2. Equipos

- a. Balanza analítica (Modelo: Sartorius; Serie:TE2145)
- b. Estufa (Modelo: Memmert).
- c. Campana extractora (Modelo: KtPeru; Serie: CL - 1000).
- d. Lámpara UV (Modelo 4305M/MH).

3.2.3. Material biológico:

- Ratones cepa Balb/C53/ CNPB

3.2.4. Material vegetal:

- Hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”

3.3. Muestra

3.3.1. Muestra vegetal.

La especie *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” fue recolectada en del Distrito Challhuahuacho, Provincia Cotabambas, Departamento de Apurimac, en el que se recolecto 5 kilos de hojas y tallos de la especie vegetal en el año 2017 en el mes Junio, las hojas y tallos fueron sometidas a una limpieza, eliminación de partículas extrañas, posteriormente se determinó la taxonomía por el Museo de Historia de la Universidad Nacional de San Marcos según el sistema de clasificación de Cronquist (1988). Anexo 1.

3.3.2. Muestra biológica.

Para la actividad analgésica se tomó 49 ratones albinos de cepa Balbin/C53/CNPB de ambos sexos de 25 a 30 g de peso corporal.

Para la actividad antiinflamatoria se tomó 49 ratones albinos de cepa Balbin/C53/CNPB de ambos sexos de 25 a 30 g de peso corporal.

Provenientes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud en Chorrillos (INS), con 7 días de aclimatación, (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad).

3.4. Métodos

3.4.1. Preparación del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin”.

Se pesaron 5 Kg de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” y se maceró en alcohol etílico al 70° durante 7 días, con agitación diaria, en un frasco de vidrio color ámbar. Posteriormente, se realizó el filtrado con gasa y seguidamente con papel filtro hasta obtener una solución transparente. El filtrado se colocó en una fuente de vidrio para ser llevado a la estufa a 40 °C hasta obtener el extracto seco y se guardó en un frasco pequeño color ámbar protegido de la luz y la humedad (figura 6).

3.4.2. Ensayos preliminares

3.4.2.1. Procedimiento para la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin”.

La solubilidad determina el comportamiento del extracto hidroalcohólico seco de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin” en diversos solventes con diferentes polaridades, permitiendo encontrar el sistema de solvente apropiado⁴³.

En una gradilla de tubos de ensayo se colocaron 20 mg del extracto hidroalcohólico seco de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” y luego se añadieron 1 mL de solventes de diferentes polaridades: agua destilada, etanol, metanol, n-butanol, cloroformo, acetato de etilo, hexano, acetona, benceno, éter etílico.



Figura 6. Obtención del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin”

3.4.2.2. Procedimiento para el análisis cualitativo

Para el análisis cualitativo del extracto hidroalcohólico seco de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci "Churoq wasin", se utilizó el método descrito por: Lock De Ugaz Olga⁴³.

Reactivo de popoff: 1 mL de muestra problema+ 0,5 mL de reactivo de Popoff. Un precipitado amarillo indica que la prueba es positiva.

Reacción de Mayer: 1 mL de muestra problema + 0,5 mL de reactivo Mayer (tetrayodomercuriato potásico). La presencia de turbidez o precipitado blanco nos indica positivo para alcaloides.

Reacción de Wagner: 1 mL de muestra problema +0,5 mL de reactivo Wagner. La formación de manchas marrones indica la presencia de alcaloides.

Reacción de Dragendorff: 1 mL de muestra problema +0,5 mL de reactivo Dragendorff (tetrayodobismutatopotásico). La formación de precipitado naranja o rojo nos indica la presencia de alcaloides.

Fundamentos de las reacciones popoff, mayer, wagner, dragendorff: Las reacciones de precipitación se fundamentan en un intercambio donde el anión voluminoso del reactivo en acción reemplaza a los aniones pequeños de las sales de alcaloides⁴⁶.

Reacción de Shinoda: 1 mL de muestra problema + reactivo de Shinoda (Magnesio + 0,5 mL de HCl concentrado). La formación de una solución coloreada nos indicará positivo.

Fundamento: El magnesio metálico es oxidado por el HCl concentrado, originando como productos al H₂, que es eliminado

en forma de gas y el $MgCl_2$ es el que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características⁴⁶.

Reacción de $FeCl_3$: 1 mL de muestra problema + reactivo de $FeCl_3$. Si la solución se torna verde-azulada será positivo para compuesto fenólicos.

Fundamento: Es una reacción ácido - base de Lewis, teniendo como donador de electrones a los hidroxilos del catecol del tanino, permitiendo la formación de cargas parciales para la posterior eliminación de hidrogeno y cloruro hasta llegar a la formación de un complejo⁴⁶.

Reacción de Lieberman - Burchard: 1 mL de muestra problema disolver en 0,5 mL de cloroformo +1 mL de anhídrido acético + 1 mL de H_2SO_4 concentrado). La aparición de los colores verde, azul o roja nos indicará presencia de esteroides o triterpenoides.

Fundamento: La reacción de Liebermann - Burchard debe realizarse en un medio completamente anhidro, ya que al existir moléculas de agua reaccionan con el anhídrido acético, anulando la reacción con el núcleo esteroideal o triterpenoide. El diclorometano solubiliza a la muestra favoreciendo la captación de alguna molécula de agua y el ácido sulfúrico favorece la deficiencia electrónica del anhídrido acético, el cual es estabilizado por los electrones de los dobles enlaces conjugados, dando de esta manera la coloración respectiva⁴⁶.

3.4.3. Estudio farmacológico

- 3.4.3.1. Evaluación de la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci "Churoq wasin en el modelo de contorsiones abdominales.

a) Fundamento del modelo

Se utilizó el modelo de contorsiones abdominales por ácido acético al 0,8% método de Koster y Col. Modificado⁴⁷, es utilizado como una herramienta para la evaluación de las propiedades analgésicas. Produciendo una irritación local provocada por el ácido acético en la cavidad peritoneal del ratón lo que da origen la síntesis y liberación de una variedad de mediadores la bradicinina, la sustancia P y la PGI₂, estos mediadores pueden activar los nociceptores quimiosensibles que dan inicio al desarrollo del dolor⁴⁸.

b) Formulación de los grupos de trabajo

Se usó 49 ratones albinos de cepa Balb/C53/CNPB de aproximadamente 25 - 30 g de peso corporal. Se distribuyó aleatoriamente 7 grupos de 7 ratones por grupo de estudio.

Grupos experimentales:

1. Grupo control positivo: Ácido acético al 0,8% por vía I.P.
2. Grupo control negativo: Agua destilada por vía oral.
3. Grupo Exp 1: Ext - hidroalcohólico 50 mg/kg por vía oral.
4. Grupo Exp 2: Ext - hidroalcohólico 100 mg/kg por vía oral.
5. Grupo Exp 3: Ext - hidroalcohólico 200 mg/kg por vía oral.
6. Grupo Exp 4: Paracetamol 300 mg/kg por vía oral.
7. Grupo Exp 5: Tramadol 40 mg/kg por vía oral.

c) Procedimiento experimental (tabla 1)

1. El extracto hidroalcohólico *Leucheria Daucifolia* a dosis (50, 100 y 200 mg/kg), el paracetamol 300 mg/kg⁴⁹ y el tramadol 40 mg/kg⁵⁰ se administraron por vía oral con una cánula orogástrica de acuerdo al peso corporal de cada ratón.
2. Después de 30 minutos se aplicó por vía intraperitoneal ácido acético al 0,8% a una dosis de 0,1 mL/10 g de peso corporal.

3. Se cuantificó el número de contorsiones abdominales de cada grupo durante 20 minutos. Los resultados obtenidos se calcularon con el porcentaje de inhibición empleando la siguiente fórmula⁵¹:

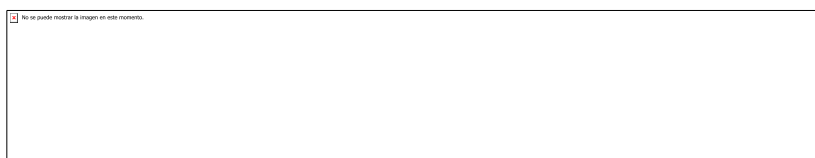


Tabla 1. Distribución de grupos de experimentación en la actividad analgésica

	H2O dest. V. Oral	A.A. 0.8% V. IP	Ext. 50 mg/kg V. Oral	Ext. 100 mg/kg V. Oral	Ext. 200 mg/kg V. Oral	Paracetamol 300 mg/kg V. Oral	Tramadol 40 mg/kg V. Oral
G. C.N.	✓						
Gr. C.P.	-	✓					
G.E.1	-	✓	✓				
G.E.2	-	✓		✓			
G.E.3	-	✓			✓		
G.E.4	-	✓				✓	
G.E.5	-	✓					✓

- 3.4.3.2. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de una crema a base del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en el método de edema auricular.

a) Fundamento

Se utilizó el método de edema auricular por un agente irritante xilol⁵². Esta técnica consistió en la inducción de inflamación por la aplicación de xilol, agente irritante produciendo un daño neuronocectivo en el pabellón de las orejas del ratón. La evaluación se determinó por la medición de la respuesta inflamatoria

que se traduce por el aumento de peso en el área lesionada por el agente químico⁵³.

b) Formulación de la crema

1. Componentes

- a) Alcohol cetílico 4% (agente espesante, emoliente)
- b) Ácido esteárico 2 % (emoliente, emulgente)
- c) Alcohol cetosteárico 6% (agente emulsificante)
- d) Vaselina líquida 1,5 % (emoliente y protector dermatológico)
- e) Glicerina 4% (emoliente)
- f) Agua destilada c.s.p 100 %

2. Preparación de la crema

- Se preparó la fase oleosa (ácido esteárico, vaselina líquida, glicerina) a una temperatura de ebullición a 80°C en un beaker de 500 mL.
- En otro beaker la fase acuosa (alcohol cetílico, alcohol cetosteárico), se mezcló la fase acuosa en la fase oleosa y se completó con agua destilada, hasta formar una emulsión completa sin grumos con constante agitación
- Para finalizar se agregó el extracto, previamente diluido a diferentes concentraciones y se guardó en envases.

* Elaborado por el Químico Farmacéutico Cano Pérez Carlos Alfredo de la universidad Norbert Wiener.

c) Formación de los grupos de trabajo

Se usó 49 ratones albinos de cepa Balb/C53/CNPB de aproximadamente 25 - 30 g de peso corporal. Se distribuyó aleatoriamente 7 grupos de 7 ratones por grupo de estudio, empleando la guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio.

Grupos experimentales:

Grupo control positivo: Xilol al 6%.

Grupo control negativo: Crema a base de vaselina
Grupo Exp 1: Ext - hidroalcohólico 0,5% en crema.
Grupo Exp 2: Ext – hidroalcohólico 1% en crema.
Grupo Exp 3: Ext – hidroalcohólico 2% en crema.
Grupo Exp 4: Diclofenaco 1% en crema
Grupo Exp 5: Hidrocortisona 1% en crema

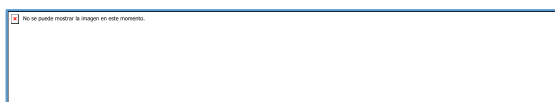
d) Procedimiento experimental¹⁶ (Tabla 2 y figura 7)

1. A todos los ratones se les aplicó el agente irritante xilol en el pabellón de las orejas derecha e izquierda, para ello se utilizó hisopo estéril y se froto por 5 veces en cada superficie tanto en el pabellón interno como en el pabellón externo, menos el grupo control negativo.
2. Después de 20 minutos los grupos experimentales 1, 2, 3, 4 y 5 se les aplico el tratamiento en el pabellón interno y externo con las cremas de los extractos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” a diferentes concentraciones (0,5, 1 y 2%), un antiinflamatorio como diclofenaco en crema al 1% y un glucocorticoide como hidrocortisona crema 1%.
3. Cuatro horas después, se procedió a sacrificar a los animales por administración de pentobarbital sódico.
4. Con un sacabocado de 6 mm de diámetro se procedió a cortar una porción del centro de ambas orejas y se colocó en una luna de reloj para pesarlas por separado (oreja derecha y oreja izquierda). Anotando los respectivos pesos.

e) Procedimiento para evaluar⁵³.

La evaluación se determinó por la medición de la respuesta inflamatoria que se traduce por el aumento de peso.

La actividad antiinflamatoria se expresó como porcentaje de inhibición del edema calculado, con la fórmula:



Delta de peso (mg)

ΔEt = peso promedio de los edemas en la muestra tratada

ΔEc = peso promedio del edema en el grupo control

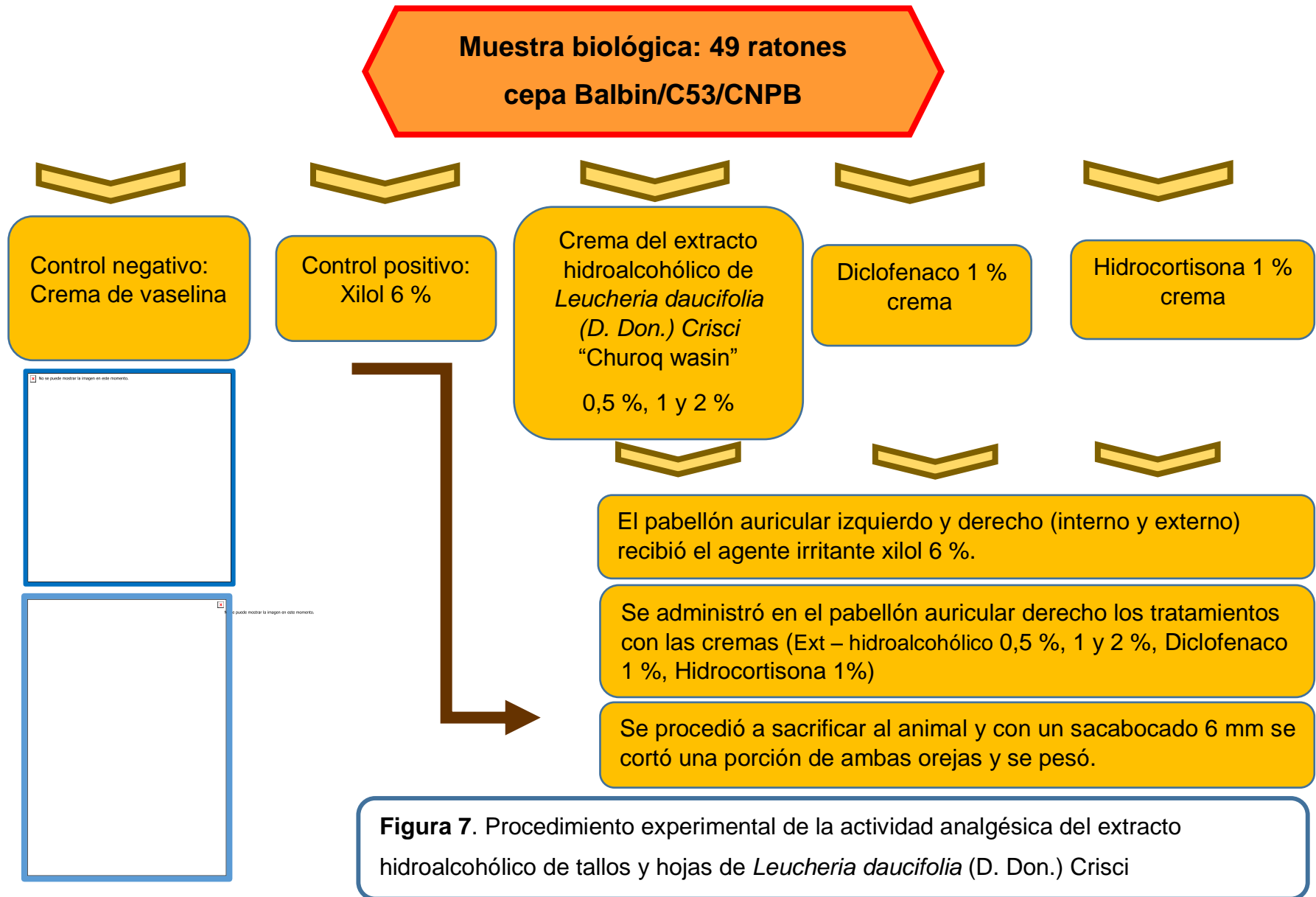
Tabla 2. Distribución de grupos de experimentación en la actividad antiinflamatoria.

	C.Base vaselina V. Tópica	Xilol 6% V. Tópica		Ex. 0.5% V. Tópica	Ex. 100 mg/kg V. Tópica	Ex. 200 mg/kg V. Tópica	Paracetamol 300 mg/kg V. Tópica	Tramadol 40 mg/kg V. Tópica
	O. D	O.D.	O.I.	O. D	O. D	O. D	O. D	O. D
G. C.N.	✓							
G. C.P.	-	✓	✓					
G.E.1	-	✓	✓	✓				
G.E.2	-	✓	✓		✓			
G.E.3	-	✓	✓			✓		
G.E.4	-	✓	✓				✓	
G.E.5	-	✓	✓					✓

3.4.4. Procedimiento para evaluación de los resultados.

Para medir la respuesta analgésica se realizó el análisis de varianza (kruskal wallis) con el programa IBM SPSS Statistics Base versión 23. Para determinar si existía diferencia significativa, en el estudio de la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en ratones.

Para medir la respuesta antiinflamatoria se realizó el Análisis de Varianza (ANOVA), con el programa IBM SPSS Statistics Base versión 24. Para determinar si existía diferencia significativa, en el estudio de la actividad antiinflamatoria de una crema formulada a base del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en ratones.



IV. RESULTADOS

4.1. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.

Tabla 3. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.			
N ^o	SOLVENTES	NOMENCLATURA	RESULTADO
1	Agua destilada	H ₂ O	+
2	Etanol	EtOH	+
3	Metanol	MeOH	+
4	n-butanol	n-BuOH	-
5	Cloroformo	CHCl ₃	-
6	Acetato de etilo	EtoAc	-
7	Hexano	Hex	-
8	Acetona	Me ₂ CO	-
9	Benceno	Bz	-
10	Éter etílico	Et ₂ O	-

Legenda: Soluble (+) Insoluble (-)

En el Tabla 3 se observa que el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” es soluble en solventes polares como: Agua destilada, etanol y metanol.



Figura 8. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.

4.2. Análisis Cualitativo del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.

Tabla 4. Análisis cualitativo del extracto hidroalcohólico de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.			
Nº	ENSAYO	METABOLITO	RESULTADO
1	Popoff	Alcaloide	+
2	Mayer	Alcaloide	+
3	Wagner	Alcaloide	+
4	Bertrand	Alcaloide	+
5	Dragendorff	Alcaloide	+
6	Shinoda	Flavonoides	+
7	AlCl ₃	Flavonoides	+
8	FeCl ₃	Compuestos fenólicos	+
9	Liebermann Burchard	Esteroides y/o triterpenos	+

Leyenda:
Presencia (+) Ausencia (-)

En la tabla 4 se observa que extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”. presenta los siguientes metabolitos como: Flavonoides, alcaloides, esteroides y/o triterpenos



Figura 9. Análisis cualitativo del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.

4.3. Actividad Analgésica del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en ratones.

Tabla 5. Promedio de las contorsiones abdominales del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de <i>Leucheria daucifolia</i> (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en ratones					
Tratamientos	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Ac. Acético	7	6,00	2,31	3,00	9,00
Paracetamol 300mg/Kg	7	1,43	0,79	0,00	2,00
Tramadol 40mg/Kg	7	0,86	0,38	0,00	1,00
Ext. hidroalcohólico 50 mg/Kg	7	2,43	0,53	2,00	3,00
Ext. hidroalcohólico 100 mg/Kg	7	2,29	0,76	1,00	3,00
Ext. hidroalcohólico 200 mg/Kg	7	3,00	0,82	2,00	4,00

En la tabla 5 se observa el número de promedio de contorsiones. Se observa que todos los grupos lograron disminuir el número de contorsiones abdominales comparados con el grupo control, el extracto hidroalcohólico *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” a dosis 50 mg/Kg (2,43) y 100 mg/Kg (2,29) reduce el menor promedio de las contorsiones y el tratamiento a base de Tramadol 40 mg/kg reduce promedio de las contorsiones (0,86) y el paracetamol 300 mg/kg (1,43).

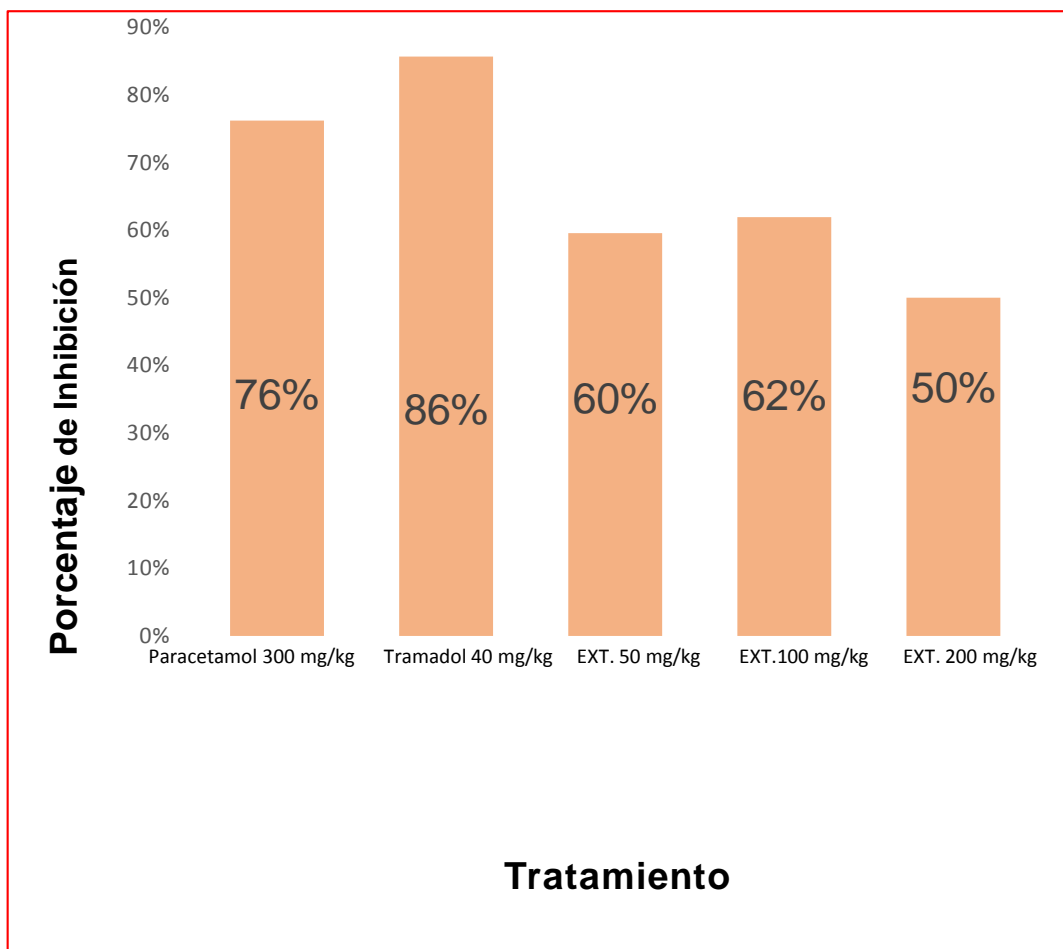


Figura 10. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” sobre contorsiones inducida con ácido acético 0,8% en ratones.

En la figura 10 se evidencia que el mayor porcentaje de inhibición de los extractos es a dosis 50 mg/Kg (60%) y 100 mg/Kg (62%), con respecto al grupo tratado con tramadol 40 mg/kg (86%) y seguido del paracetamol 300 mg/kg (76%)

4.3.1. Comparaciones múltiples

Tabla 6. Prueba de Games-Howell de las contorsiones abdominales de la actividad analgésica en ratones.			
(I) Tratamiento		Diferencia de medias (I-J)	Sig.
Ac. Acético 0,8%	Ext. 50 mg/kg	3,57*	0,043
	Ext.100 mg/kg	3,71*	0,035
	Ext. 200 mg/kg	3,00	0,092
Paracetamol 300 mg/kg	Ext. 50 mg/kg	-1.00	0,137
	Ext.100 mg/kg	-0,86	0,358
Tramadol 40 mg/kg	Ext. 50 mg/kg	-1,57*	0,001
	Ext.100 mg/kg	-1,42*	0,014
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.			

En la tabla 6 se observa las comparaciones múltiples mediante la prueba de Games – Howell, donde el ácido acético 0,8% (control positivo) comparado con el extracto de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” a dosis 50 y 100 mg/kg producen efectos diferentes al control positivo (p valor < 0,05).

Al comparar el paracetamol con el extracto de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” a dosis 50 y 100 mg/kg presentan evidencias de que su efecto es comparable al paracetamol (p valor es mayor a 0,05), indicando que presentan efectos similares.

Finalmente, al comparar el tramadol con el extracto de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” a dosis 50 mg/kg y 100 mg/kg se observó diferencias negativas y significativas (p valor menor a 0,05) lo cual indica que sus efectos analgésicos son inferiores al Tramadol.

4.4. Actividad Antiinflamatoria.

Tabla 7. Promedio de inflamación de las orejas con el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en ratones.

Tratamientos	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Blanco	7	12,13	0,99	10,6	13,1
Control	7	21,51	2,40	18,3	25,3
Ext. hidroalcohólico 0,5%	7	18,79	2,08	16,2	22,1
Ext. hidroalcohólico 1%	7	17,67	1,23	16,0	19,2
Ext. hidroalcohólico 2%	7	16,94	1,50	14,6	19,1
Diclofenaco 1%	7	16,81	3,17	12,6	21,2
Hidrocortisona 1%	7	15,83	2,38	13,0	19,2

En la tabla 7 se observa el promedio de peso de la oreja derecha. Se observa que todos los grupos disminuyeron el promedio con respecto al grupo control. El grupo tratado con hidrocortisona crema 1% presento el menor promedio (15,83), seguido del grupo tratado con diclofenaco crema 1% (16,81), en el caso de los extractos se observa que el Ext. hidroalcohólico 2% alcanzó un porcentaje de (16,94), mientras que el Ext. hidroalcohólico 1% presenta un (17,67) y finalmente el Ext. hidroalcohólico 0,5% (18,79).

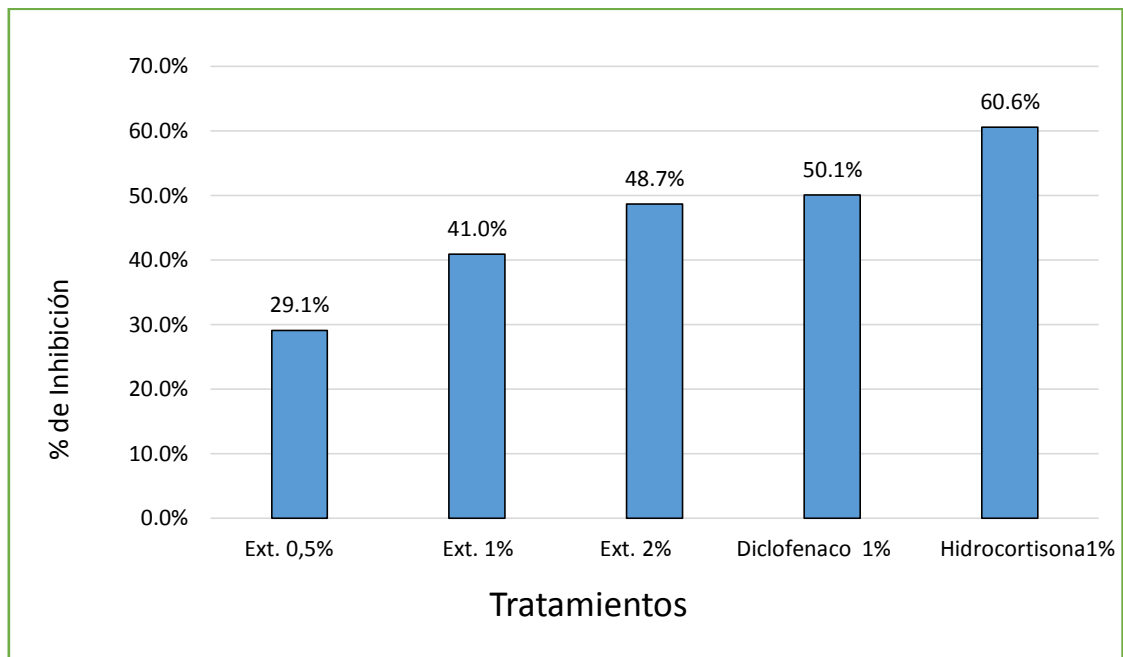


Figura 11. Porcentaje de inhibición de la inflamación de las orejas tratadas con la crema formulada a base del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin”.

En la figura 11 se observa los porcentajes de inhibición de la inflamación (efecto antiinflamatorio) para los distintos grupos. La hidrocortisona crema al 1% presento el porcentaje más alto con un (60,6%), seguido el diclofenaco crema 1% con (50,1%). Las cremas formuladas a base del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin” al 0,5% con (29,1%) crema elaborada al 1% (41%), y la crema elaborada al 2% (50,1%).

4.4.1. Comparaciones múltiples

Tabla 8. Prueba de Tukey de la actividad antiinflamatoria en ratones.			
(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Sig.
Control Xilol 6%	Ext.0,5%	2,72857	0,220
	Ext. 1%	3,84286*	0,029
	Ext. 2%	4,57143*	0,006
Diclofenaco 1%	Ext. 1%	-0,85714	0,978
	Ext. 2%	-0,12857	1,000
Hidrocortisona 2%	Ext. 1%	-1,84286	0,633
	Ext. 2%	-1,11429	0,933
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05			

La tabla 8 muestra las comparaciones múltiples donde el grupo control (xilol 6%) comparado con las cremas preparadas del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” al 1 % y 2% producen efectos diferentes al grupo control positivo (p valor < 0,05).

Al comparar el Diclofenaco con las cremas preparadas del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” al 1% y 2% se evidencia que su efecto es similar al diclofenaco (p valor es mayor a 0,05), indicando que presentan efectos similares.

Finalmente, al comparar la hidrocortisona con las cremas preparadas del extracto hidroalcohólico de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” al 1% y 2% se evidencia que su efecto es similar a la hidrocortisona (p valor es mayor a 0,05), indicando que presentan efectos similares.

V. DISCUSIÓN

Con respecto a la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” (tabla 3 y figura 8) se determinó que es soluble en agua destilada, etanol, metanol, lo cual podría evidenciar que los compuestos son de naturaleza polar, resultados que son comparables con un estudio realizado del extracto etanólico de la raíz *Taraxacum officinale* Wigg “diente de león” en la cual dicho extracto es soluble en agua destilada etanol y metanol¹⁸, Lock De Ugaz O, refiere en su libro investigación fitoquímica que los flavonoides y alcaloides son solubles en agua y en etanol⁴³.

En relación al análisis cualitativo del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” (tabla 4 y figura 9) mediante ensayos de precipitación y coloración⁴³ se evidencio la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, esteroides y/o triterpenos resultados que concuerdan con el estudio realizado de la misma especie y género en extracto acuoso publicado por Turpo E, (2015)¹⁹ donde se evidenció la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides y alcaloides. A los flavonoides se le atribuye propiedades antiinflamatorias, antiviral, entre otros, como es el caso de hesperidina la naringenina y la nobiletina, que se encuentran en la fracción soluble en agua de casi todas las especies de *Citrus*. A los alcaloides se le atribuye propiedades analgésicas, antieméticas, antitumoral, etc, por ejemplo, la mitragina que tiene propiedades analgésicas⁴³.

Para la actividad analgésica, el mayor porcentaje de inhibición con respecto a los extractos se obtuvieron a dosis de 100 mg/kg con un 62% (tabla 5 y figura 10); el grupo tratado con tramadol presentó un porcentaje de inhibición con un 86%, seguido el grupo tratado con paracetamol con un 76%, resultados que coinciden con un estudio realizado del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg “Pan de árbol” donde presentó mayor actividad a dosis de 100 mg/kg con un porcentaje de inhibición de 73% ⁴²; además otro estudio del extracto

etanólico de la raíz *Taraxacum officinale* Wigg “diente de león” evidencian que a dosis de 100 mg/kg presentaron mayor porcentaje de inhibición de contorsiones con un 69%¹⁸ así mismo los grupos tratados con tramadol para ambos estudios obtuvieron mayor porcentaje de inhibición con respecto a los extractos, esto demuestra que el tramadol es más potente que los extractos ya que es un analgésico de acción central cuyo mecanismo fundamenta en el bloqueo de la receptación de serotonina²⁹. En la prueba de Games – Howell comparaciones múltiples de la actividad analgesica (tabla 6) se observó que el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” a dosis de 50 y 100mg/kg son comparables al paracetamol (p valor es mayor a 0,05), esto indicaría que el extracto tiene una actividad analgésica de característica similar al paracetamol su actividad analgésica se encuentra relacionada, a diferencia de los AINEs convencionales, con la inhibición de la isoforma COX-3 impidiendo la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina, y otros eicosanoides obteniendo alivio del dolor, mas no se evidencia que presentan efectos analgésicos a nivel central debido a que su efecto analgésico es inferior al tramadol⁵⁴.

En relación a la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” (tabla 7, figura 11) la crema preparada a base del extracto al 2% presentó mayor inhibición (48,7%), con respecto a los otros extractos, la crema hidrocortisona al 1% presentó el mayor porcentaje de inhibición de inflamación (60,6%), seguido la crema de diclofenaco 1% (50,1%), estos resultados se acercan a los reportados por Mayhuasca O. en donde concluyeron que la emulsión dérmica de *Peperomia choroniana* al 0,5% posee actividad antiinflamatoria pero es inferior a la dexametasona¹⁶ ; además Choquelahua Y, Illiesca J. refieren que la crema de *Persea americana Mill* es inferior a la hidrocortisona en ambos estudios ningún extracto supera a las cremas del grupo de glucocorticoides, esto se debe a que los glucocorticoides son más potentes provocando vasoconstricción cuando se administran directamente a la piel, por anulación de la desgranulación de células cebadas, también disminuyen la permeabilidad capilar por inhibición de la cantidad de histamina liberada por los basófilos

y las células cebadas⁵⁵. En la prueba de Tukey comparaciones múltiples de la actividad antiinflamatoria (tabla 8) se observó que la crema preparada a base del extracto *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin” al 1 y 2%, son comparables al diclofenaco en crema 1% e hidrocortisona crema 1% ya que su p valor es mayor a 0,05 esto indicaría que nuestro extracto tienen características similares a los glucocorticoides ya que son potentes antiinflamatorios que poseen mecanismos genómicos y no genómicos con acción antiinflamatoria en estadios tempranos y tardíos, el extracto es similar también al diclofenaco (antiinflamatorio no esteroideo preferencial de COX-2 a nivel periférico y a nivel central).¹⁶

VI. CONCLUSIONES

Se evaluó la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en ratones, a dosis 100 mg/kg presentó un porcentaje de inhibición de contorsiones del 62% y para actividad antiinflamatoria la crema formulada a base del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” en concentración de 2% presento un porcentaje de inhibición de la inflamación de 48,7%.

Se identificó en el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” la presencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, alcaloides y esteroides y/o triterpenos.

En la evaluación de la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin” a dosis 100 mg/kg presentó un porcentaje de inhibición de contorsiones del 62% estadísticamente significativo.

En la evaluación de la actividad antiinflamatoria de la crema formulada a base del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”, en concentración de 2% presento un porcentaje de inhibición de la inflamación de 48,7% estadísticamente significativo.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda evaluar el efecto toxico del extracto de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin” en diferentes dosis.
2. Se recomienda realizar más investigaciones sobre la medicina tradicional en el Perú, ya que contamos con una gran diversidad de plantas no estudiadas, teniendo en cuenta que son productos de gran ayuda para la sociedad en cuanto a la contribución de la salud pública.
3. Realizar estudios experimentales de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin” como: antihelmíntico, cicatrizante, antitrombótico, antineoplásico.
4. Realizar el estudio fitoquímico completo de *Leucheria daucifolia* (D.Don.) Crisci “Churoq wasin”.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Notejane M, Bernadá M. Conocimientos relativos al abordaje del dolor en niños. Arch Pediatr Urug. 2016; 87(4):323-331.
2. Vallejos A, Calvache J, Ávila M, *et al.* Prescripción de analgésicos y reacciones adversas en pacientes hospitalizados. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. 2018; 47(1), 86-104.
3. García J. Manejo básico del dolor agudo y crónico. Anest. Méx. 2017; 29 (1): 77-85
4. Boletín de la Academia Nacional de Medicina de México. Información reciente acerca de fármacos antiinflamatorios no esteroideos. Rev. Fac. Med. 2015; 24(2):5-6.
5. Vivot E, Sánchez C, Cacik F, *et al.* Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). Cienc. docencia tecnol. 2012; 45(1): 165 – 185.
6. Gallegos, M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An. Fac. med. 2016; 77 (4): 327-32.
7. Rado E. Etnobotánica del distrito de Ocongote - Quispicanchi - Cusco. [Tesis de Grado]. Cusco: Universidad Nacional de san Antonio Abad del Cusco; 2011.
8. Pauro J, Gonzáles F, Gamarra B, *et al.* Plantas alimenticias, medicinales y biocidas de las comunidades de muñani y suatia, provincia de Lampa (Puno - Perú). Ecología Aplicada. 2011; 10(1).
9. Tejón M, Pérez M, Gil M, *et al.* Fundamentos para una prescripción segura de AINES: riesgo cardiovascular, complicaciones renales, Perú. Rev. Boletín Farmacoterapéutico de Castilla La Mancha. 2016; 17(4).
10. Martínez E, Guevara U, Serratos M, *et al.* Reacciones adversas con la administración de opiáceos en pacientes hospitalizados. Revista Mexicana de Anestesiología. 2013; 36 (2): 98-104.
11. Soria N, Ramos P. Uso de plantas medicinales en la atención primaria de salud en Paraguay: algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz. Rev Investig. Cienc. Salud. 2015;13(2):8-17.
12. Pastorello M, Ciangherotti C, Varela M, *et al.* Actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto acuoso de la raíz de *Ruellia tuberosa* L". Revista Facultad de Farmacia. 2012; 75(1).

13. Villalobos D, Ríos N, Ramírez I. Actividad antiinflamatoria in vivo de extractos de hojas, tallos y frutos de *Ficus maitin* Pittier. Revista de la Facultad de Farmacia. 2017; 59 (2): 16-23
14. García A, Victoria M, Moron F. *et al.* "Validación preclínica de la actividad analgésica y antiinflamatoria de la decocción de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides* (Spreng.) Griseb". Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17(4): 380-392.
15. Ururi F. Efecto de la planta chucapacu (*Leucheria daucifolia*) sobre parasitos gastro intestinales nemátodos en alpacas (*vicugna pacus*), catacora – jose manuel pandola Paz. [Tesis para optar el Título de Técnico Superior en Medicina Veterinaria y Zootecnia]. Bolivia: Universidad Indígena Boliviana Aymara "tupak katari"; 2013.
16. Mayhuasca O, Arroyo J, Franco C. Efecto antiinflamatorio de la emulsión dérmica del extracto etanólico de *Peperomia choroniana* D. CD. (ipitanki) en edema auricular inducido por xilol en ratones. Rev Peru Med Integrativa. 2017; 2(4):817-22.
17. Atequipa J, Cabrera E. Evaluación del efecto antiinflamatorio de la grasa de *Boa constrictor constrictor* "Boa mantona" comercializada en el emporio comercial de gamarra - la victoria. lima 2015. [Tesis de grado para obtener título Químico Farmacéutico]. Lima; Universidad Privada Norbert Wiener; 2018.
18. Castañeda R, Miranda A. Actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto etanólico de la raíz de *Taraxacum officinale* Wigg "diente león" en ratones (*Mus musculus*). [Tesis de grado para obtener título Químico Farmacéutico]. Lima; Universidad Privada Norbert Wiener; 2018.
19. Turpo E. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de hojas de sasahui "*Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci" frente a *staphylococcus aureus* atcc 25923 y *escherichia coli* atcc 25922. [Tesis para optar el grado de Químico Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Alas Peruanas; 2015.
20. Clark M, Rey J. Farmacología. 5 ed. España: Lippincott Williams & wilkins; 2012. p 525.
21. Grosser T, Smyth E, Garret A. Antiinflamatorios, antipiréticos y analgésicos; farmacoterapia de la gota. En: Laurence L, Bruce A, et al, Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12a ed. México; Mcgraw-hill interamericana editores;2012. p. 963-964.

22. Rang H, Ritter J, Flower R, Henderson G. Farmacología. 8va Edición: Editorial Elsevier; Barcelona; 2016.
23. Bruzzo J. Rol de la inflamación sistémica en la patología generada por tumores murinos. [Tesis para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Biológicas]. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires; 2014.
24. Villalba E. Inflamación I. Rev Act Clin. Med. 2014; (43): 2261-2265.
25. Calbom A, Fammartino A. La Dieta contra la inflamacion. 1ra Edición: Charisma Media Company; Estados Unidos; 2015.
26. Pérez A, Amatria L. Cuidados del paciente con dolor. En: Morillo J, Fernández D. Enfermería clínica I.1 ed. España. Elsevier; 2016.357-365.
27. Otermin P, Merce M. Mecanismos y vías de transmisión. En: Catala E, Ferrandiz M, Genove M. Manual de tratamiento del dolor. 3 ed. España: Permanyer; 2015. p 3-21.
28. Pabon T, Pineda L, Cañas O. Fisiopatología, evaluación y manejo del dolor agudo en pediatría. Revista Salutem Scientia Spiritus. 2015; 1(2):25-37.
29. Schumacher M, Basbaum A, Analgésicos opioides y antagonistas En: Katzung B, Masters S, 12a ed. Estados Unidos; Mcgraw-hill interamericanas editores; 2013. p. 650.
30. Nava M, Tellez A, Rojas D, Calderón C. Usos terapéuticos potenciales de los antagonistas opioides: Fisiopatología y evidencia preclínica. Colomb. Cienc. Quim. Farm. 2015; 44(3): 322-358.
31. Beltran H. Las Asteráceas (Compositae) del distrito de Laraos (Yauyos, Lima, Perú). Rev. peruana de biología. 2016; 23 (2): 195-220.
32. García C, Sanchez A, Villaseñor J. La familia asteraceae en el parque nacional los mármoles, hidalgo, México. Acta Botanica Mexicana. 2014; 106: 97-116
33. Katinas L, Crisci J, Marticorena A. Una nueva especie de Leucheria (asteraceae), endémica de Chile. Bol Soc Argent Bot. 2018; 53 (1): 93-98.
34. Moreira A, Morales V, Muñoz M. Actualización sistemática y distribución geográfica de Mutisioideae (Asteraceae) de Chile. Gayana Bot. 2012; 69(1): 9-29.
35. Bustamante A, Llamosas M, Mendoza D. Efecto del dominio medio en la composición y diversidad florística dentro de un gradiente altitudinal en el bosque de queñua en el distrito de Chiguata-Arequipa; en los meses de setiembre – noviembre 2012. Rev. Ecología General. 2012.

36. Wetzell A. "Diseño de un análisis multicriterio para estimar el potencial ecoturístico de la reserva paisajística subcuenca del Cotahuasi, Arequipa, Perú" [Tesis de Grado]. Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina. 2017.
37. Caceres F, Poma I, Spadaro V. Evaluación etnobotánica de la Yareta (*Azorella compacta*) en Arequipa (Perú) y sus posibles aplicaciones. *Quad. Bot.* 2012; 23:15-30.
38. Rado E. Etnobotánica del distrito de Ocongate - Quispicanchi - Cusco. [Tesis de Grado]. Cusco: Universidad Nacional de san Antonio Abad del Cusco; 2011.
39. Quiso V. La sabiduría andina en la sanidad de alpacas y llamas en las comunidades de Cangalli - llave - El collao - Puno. [Tesis de Grado]. Puno. Universidad Nacional del Altiplano - Puno; 2014.
40. Chukiwanka L, Delgado K. Extracción, aislamiento y purificación de flavonoides de *Leucheria daucifolia* D. Don Crisci (sasahui). Facultad de Ciencias Naturales y Formales. 2015.
41. Estrada R, Ubaldo D, Araujo A. Los flavonoides y el sistema nervioso central. *Salud Mental. Rev. Salud Ment.* 2012; 35(5): 375-384.
42. Esteban V, Rodríguez E. Actividad analgésica del extracto y antiinflamatoria de una crema formulada a base del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Artocarpus atilis* (Park.) Fosberg "Pan de árbol" en ratones. [Tesis Para Optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Lima. Universidad Privada Norbert Wiener; 2016.
43. Lock O, De Ugaz, Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales. 3ra ed. Departamento de Ciencias Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima-Perú; 2016.
44. Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6.ª ed. Estados Unidos. McGraw-Hill; 2014.
45. Dagnino J. Tipos de estudios. *Rev Chil Anest* 2014; 43: 104-108.
46. Vidaurre M, Querevalú L, De los Ríos E. Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *Rev. Med. Vallejiana.* 2007; 4(2): 121-132.
47. Koster R, Anderson M, and de Beer EJ. Acetic acid for analgesic screening. *Fed Proc. J Pain.* 45 (18):412 (1959).
48. Duménigo A, Frías A, García N, *et al.* Actividad antiinflamatoria y analgésica de un extracto orgánico del alga roja *Galaxaura rugosa* (J. Ellis & Solander) J.V. *Lamouroux*. *Rev Cubana de Plantas Medicinales.* 2014; 19(1): 235-247.

49. Choi SS, Lee JK, Suh HW. Antinociceptive profiles of aspirin and acetaminophen in formalin, substance P and glutamate pain models. *Brain Res.* 2001; 921:233-9.
50. Symeon I, Polissidis A, Balafas E, *et al.* Evaluation of the effects of tramadol on analgesic response and locomotor activity on two different strains of laboratory mice. *J Rev. hellenic vet med soc.* 2017, 68(1): 089-096.
51. Ortiz M. Actividad analgésica del extracto etanólico del fruto *Vallea stipularis* L. F. "chuillur" en ratones. [Tesis de grado para obtener título Químico Farmacéutico]. Lima. Universidad Norbert Wiener; 2016.
52. Young JM, De Young LM. Cutaneous models of inflammation for the evaluation of topical and systemic pharmacological agents. En: *Pharmacological Methods in the Control of Inflammation.* New York: Alan R. Liss; 1989. p. 215–31.
53. Choquelahua Y, Illiesca J. Potencial Actividad antiinflamatoria de la crema a partir de las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las testas de *Persea americana Mill* "Palta Fuerte" sobre ratones albinos. [Tesis para optar el Título Profesional Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Norbert Wiener; 2018.
54. García A, López M, Morejón Z. Validación preclínica de actividad analgésica periférica y central de la decocción de hojas frescas de *Persea americana Mill.* (aguacate) y *Musa x paradisiaca L.* (plátano). *Revista Cubana de Plantas Medicinales.* 2014; 19(1): 225-234.
55. George P, Chrousos M. Corticoesteroides suprarrenales y sus antagonistas. En: *Katzung B, Masters S, 12a ed.* Estados Unidos; Mcgraw-hill interamericanas editores; 2013. p. 697.

IX. ANEXO

Anexo 1

DESCRIPCIÓN TAXONOMICA

No se puede insertar el imagen en este momento.

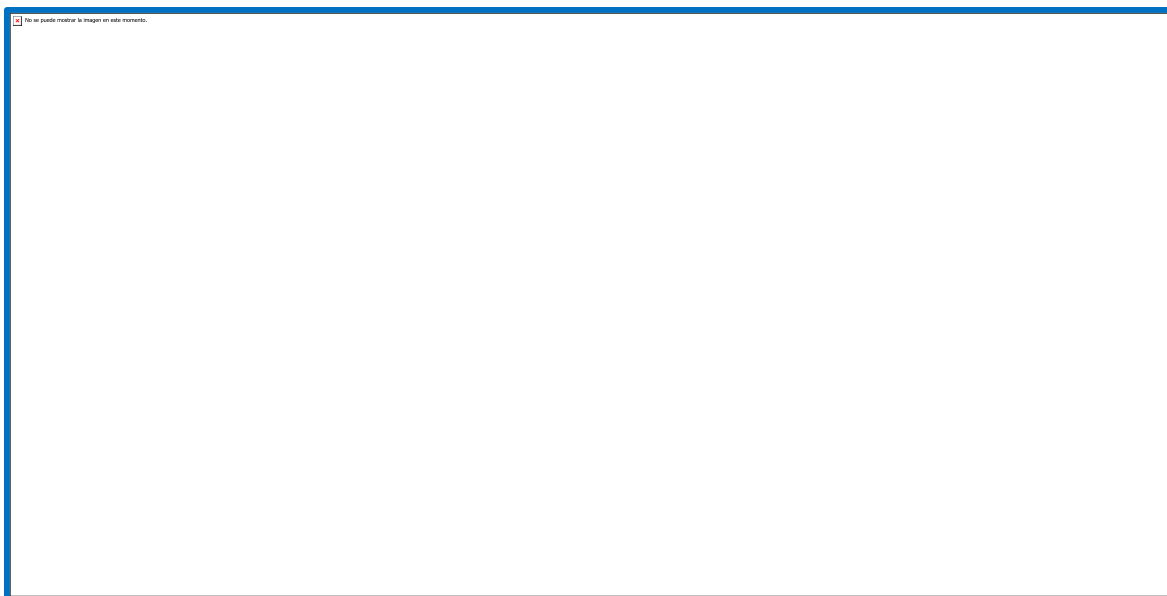


Figura 1. Hoja fresca de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq

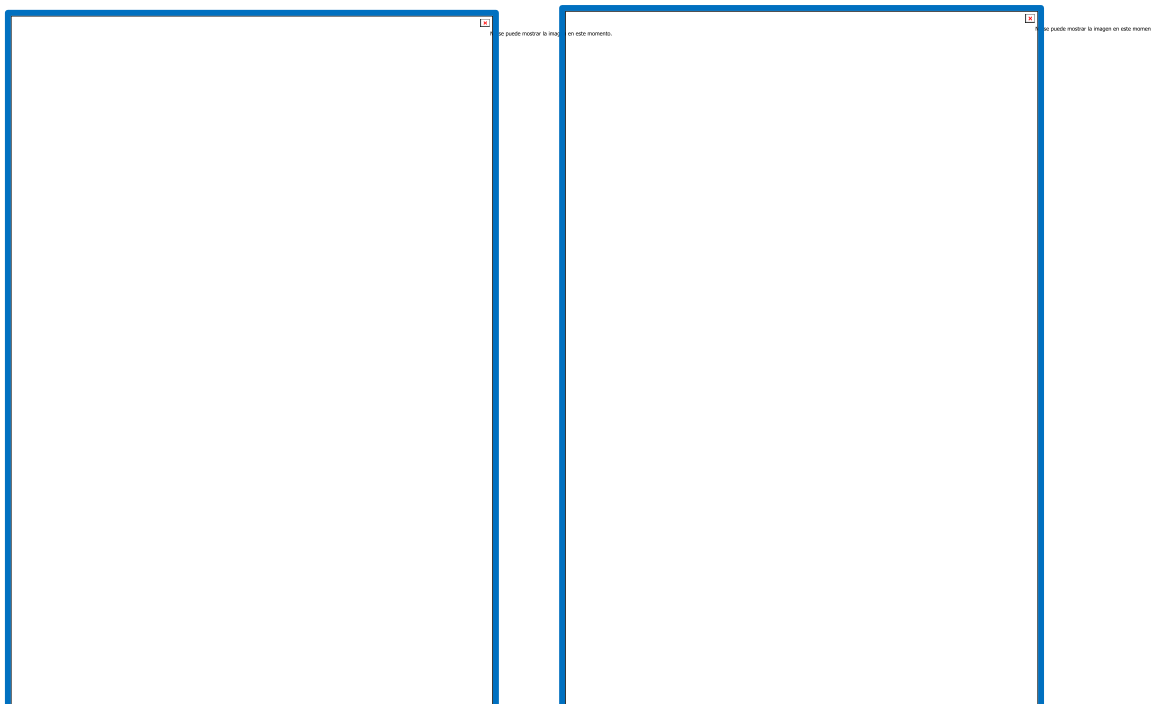


Figura 2. Selección de la especie vegetal *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”.



Figura 3. Maceración de la muestra vegetal *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci "Churoq wasin".

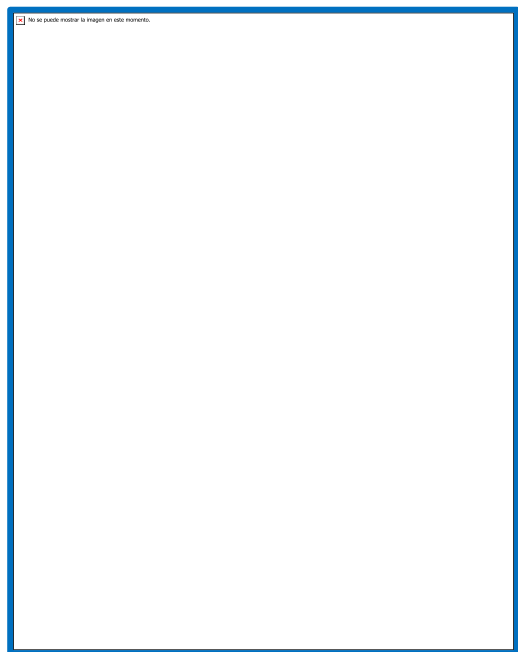


Figura 4. obtención del extracto seco *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci "Churoq wasin".

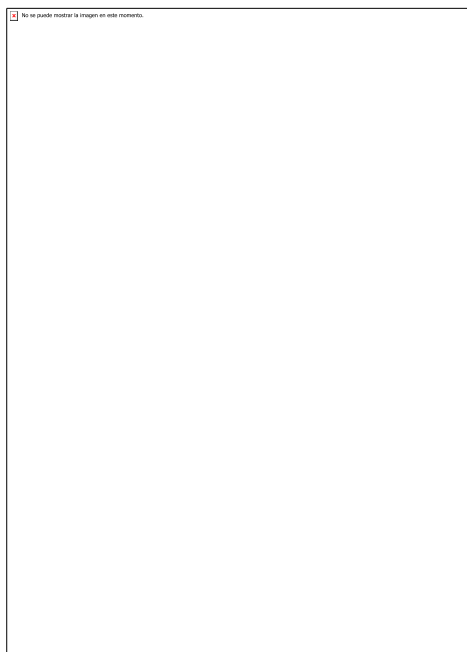


Figura 5. Trituración de la muestra *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci "Churoq wasin".

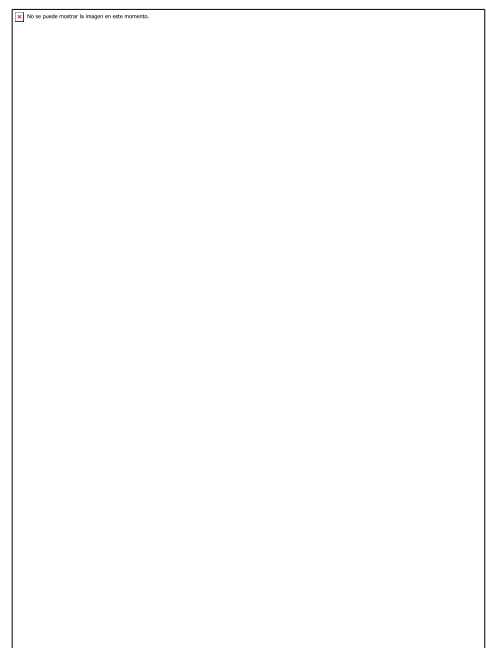


Figura 6. Obtención total del extracto seco *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci

ACTIVIDAD ANALGÉSICA DE HOJAS Y TALLOS DE *LEUCHERIA DAUCIFOLIA* (D. DON.) CRISCI “CHUROQ WASIN”.



Figura 7. Ratones raza albinos Balb/C53/CNPB de 25-30g

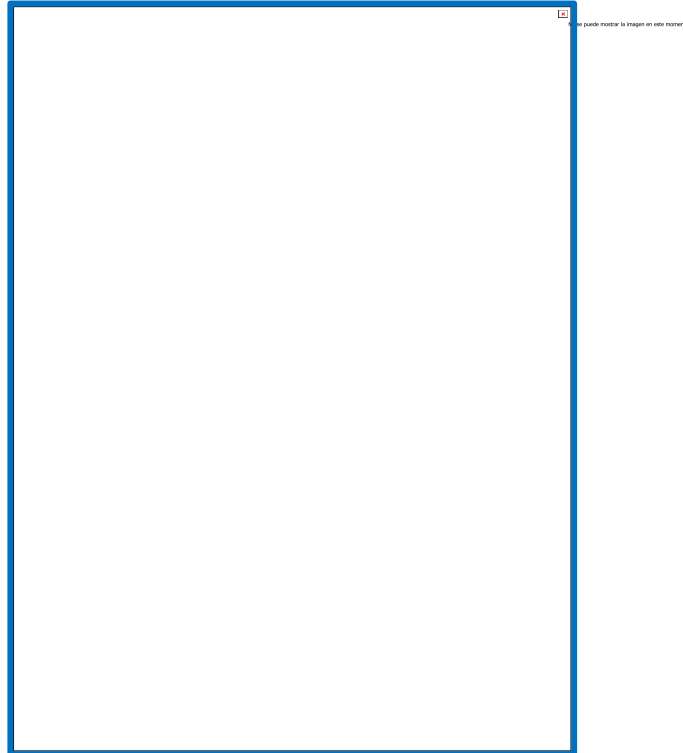


Figura 8. Administración de los tratamientos por vía oral a los ratones albinos de cepa Balb/C53 /CNPB.



Figura 9. Evaluación de las contorsiones abdominales por ácido acético 0,8%

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE HOJAS Y TALLOS DE *LEUCHERIA DAUCIFOLIA* (D. DON.) CRISCI “CHUROQ WASIN”.



Figura 10. Cremas formuladas a base del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Leucheria daucifolia* (D. Don.) Crisci “Churoq wasin”

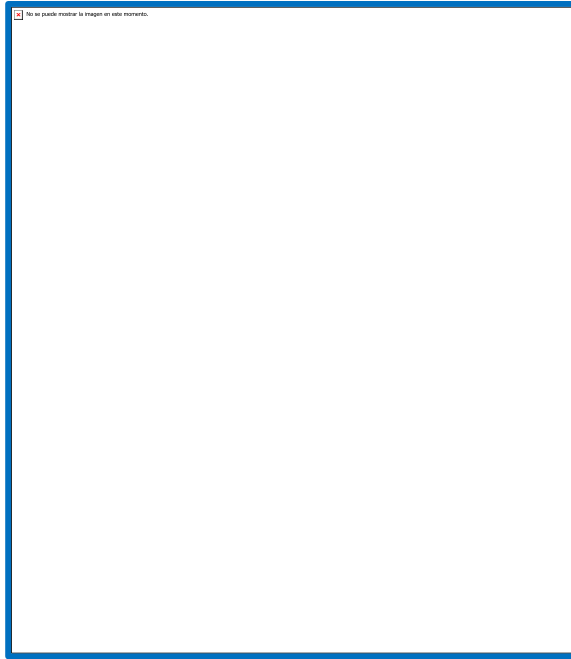


Figura 11. Tratamiento inflamación por xilol al 6 %

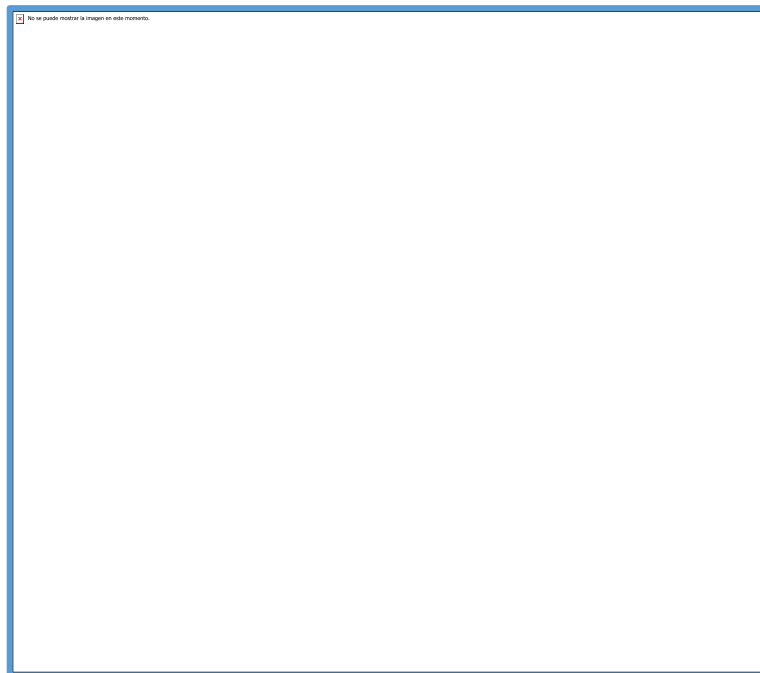


Figura 12. Procedimiento para cortar una porción de la oreja con sacabocado de 6 mm de diámetro.

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

	VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES
I N D E P E N D I E N T E	Extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de <i>Leucheria daucifolia</i> (D.Don.) Crisci “churoq wasin”	<p>La especie de <i>Leucheria daucifolia</i> (D.Don.) Crisci “churoq wasin” se encuentra ubicada en el Departamento de Apurimac, Provincia Cotabambas, Distrito Challhuahuacho a una altura de 3698 m.s.n.m.</p> <p><i>Leucheria daucifolia</i> (D.Don.) Crisci también conocida popularmente como “churoq wasin”, son de la familia asteraceae de plantas con flores con mayor número de especies, distribuidas en casi toda la superficie terrestre, a excepción de los mares y la Antártida, con aproximadamente 1600 géneros y 24000 especies.</p>	<p>Para la extracción hidroalcohólica de <i>Leucheria daucifolia</i> (D.Don.) Crisci, se recolectará 5 kg de hojas y tallos, luego se llevará a la licuadora para tritúrala con alcohol de 70 %. Se realizará la maceración durante 7 días, con agitación diaria, en un frasco de vidrio color ámbar. Posteriormente, se realizará el filtrado con papel filtro rápido y lento hasta obtener una solución transparente. El filtrado se colocará en una fuente de vidrio pyrex para evaporar el alcohol y obtener el extracto seco. Se dejará concentrar la muestra en la estufa por 5 días. Finalmente, se colocará el extracto en un frasco pequeño color ámbar protegido de la luz y la humedad.</p>	<p>Color: Verdoso</p> <p>Olor: Característico</p> <p>Textura: Espeso</p>

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

	VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES
D E P E N D I E N T E	ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA	<p>La acción antiinflamatoria que poseen varios flavonoides se relaciona con la inhibición de diferentes enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico (ciclooxigenasa, lipooxigenasa, dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina oxidasa (NADPH-oxidasa) y xantina oxidasa), de radicales libres y reducen el estrés oxidativo.</p> <p>La inflamación se define como un mecanismo de defensa de los tejidos vivos vascularizados ante una lesión, el cual puede ser causado por factores químicos, físicos, infecciones microbianas, tejido necrótico y reacciones inmunitarias.</p>	<p>Se utilizará el método de edema auricular por un agente irritante xilol. Esta técnica consistió en la inducción de inflamación por la aplicación de xilol, agente irritante produciendo un daño neuronocectivo en el pabellón de la oreja del ratón. La evaluación se determinará por la medición de la respuesta inflamatoria que se traduce por el aumento de peso en el área lesionada por el agente químico.</p>	<p>Aumento de peso de una porción del pabellón auricular de la oreja del ratón</p>

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

	VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES
DEPENDIENTE	ACTIVIDAD ANALGÉSICA	El dolor es toda aquella experiencia emocional y sensorial desagradable asociada a un daño tisular real o potencial. Por lo cual, este es la alerta que ha permitido que los seres humanos reconozcan cuando algo funciona mal en el organismo y puedan buscar ayuda. Sin embargo, no siempre se activan sistemas de alerta como respuesta al dolor y cuando este es percibido, cada individuo lo manifiesta de manera diferente.	Se utilizará el método de Koster y Col. Modificado. Modelo de contorsiones abdominales por ácido acético al 0,8%. Se usaron 49 ratones albinos de cepa BalB/C53/CNPB de 25 - 30 g de peso corporal; 24 horas antes de realizar el experimento se retiró el alimento. Se distribuirá de forma aleatoria en 7 grupos de 7 ratones.	Contorsiones abdominales durante 20 minutos